

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**DOĞAL MADDELER VE BOR TÜREVLERİ
KULLANILARAK HAZIRLANAN ORAL ÇALKALAMA
SOLÜSYONLARININ ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN, SİTOTOKSİSİTELERİNİN, MİNE
VE KOMPOZİT REZİNLERİN YÜZEY ÖZELLİKLERİNE
OLAN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. İklima GÜNDOĞDU

**Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Nurcan ÖZAKAR**

**Erzurum
2023**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANA BİLİM DALI

**DOĞAL MADDELER VE BOR TÜREVLERİ KULLANILARAK HAZIRLANAN
ORAL ÇALKALAMA SOLÜSYONLARININ ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN, SİTOTOKSİSİTELERİNİN, MİNE VE KOMPOZİT REZİNİN
YÜZEY ÖZELLİKLERİNE OLAN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.**

Arş. Gör. Dt. İklima GÜNDOĞDU

Tez Savunma Tarihi : 19.06.2023

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurcan ÖZAKAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Emine Gülşah GÖKTOLGA (Sakarya Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Pınar GÜL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ömer SAĞSÖZ (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi Kurum Eğitim Sorumlusu
Prof. Dr. Taner ARABACI

Uzmanlık Tezi
ERZURUM - 2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	II
TABLolar DİZİNİ	IV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mine Dokusunun Yapısı	3
2.2. Diş Çürüğü	4
2.3. Mikrobiyal Dental Plak ve Diş Çürüğü	7
2.4. Oral Çalkalama Solüsyonları ve Antimikrobiyal Ajanlar.....	11
2.4.1. Florür	12
2.4.2. Povidon İyot.....	13
2.4.3. Kuartern Amonyum Tuzları	13
2.4.4. Antimikrobiyal Peptitler	14
2.4.5. Esansiyal Yağlar	14
2.4.6. Klorheksidin Glukonat (KHx)	15
2.5. Tez Çalışmasında Kullanılan Etkin Maddeler	16
2.5.1. Propolis	16
2.5.2. Kekik.....	17
2.5.3. Hindistan Cevizi Yağı.....	18
2.5.4. Bor Türevleri.....	19

2.6. Kompozit Rezinler	21
2.7. Yüzey Analiz Yöntemleri	23
2.7.1. Yüzey Sertliği Analizi Yöntemleri	23
2.7.2. Yüzey Pürüzlülüğü Analizi Yöntemleri	25
2.7.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM-Scanning Electron Microscopy)	26
2.8. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyini Belirleme Yöntemleri	26
2.8.1. Difüzyon Testleri	27
2.8.2. Dilüsyon Testleri.....	28
2.9. Sitotoksosite Belirleme Yöntemleri.....	30
2.9.1. MTT Testi	31
2.9.2. LDH Testi	31
3. MATERYAL-METOD.....	32
3.1. Çalışma Dizaynı.....	32
3.2. Oral Çalkalama Solüsyonlarının Formüle Edilmesi	33
3.2.1. Oral Çalkalama Solüsyonu Formülasyonlarının Organoleptik Kontrolleri.....	38
3.2.2. Oral Çalkalama Solüsyonlarının pH'larının Tayini.....	39
3.2.3. Formülasyonlardaki Bileşenlerin Spektrofotometrik Analizi.....	40
3.3. Antibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi	41
3.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi ile Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK)'nın belirlenmesi.....	44
3.3.3. Antibiyofilm Aktivitenin Değerlendirilmesi	45
3.4. Sitotoksitenin Değerlendirilmesi.....	46
3.4.1. MTT Testi	49
3.4.2. LDH Testi	51

3.5. Mine ve Kompozit Rezin Örneklerin Mikrosertlik, Yüzey pürüzlülüğü ve SEM Analizlerinin Yapılması	52
3.5.3. Mine ve Kompozit Rezin Örneklerin Antibakteriyel Etkinlik Gözlenen Oral Çalkalama Solüsyonlarına ve Saf Etkin Maddelere Maruz Bırakılması	55
3.5.4. Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümü.....	56
3.5.5. Yüzey Mikrosertliği Ölçümü	57
3.5.6. SEM Analizi	59
3.6. İstatistiksel Analiz.....	59
4. BULGULAR.....	61
4.1. Antibakteriyel Etkinliğin Değerlendirilmesine Ait Bulgular.....	61
4.1.1. Agar Well Difüzyon Testi ve Mikrodilüsyon Testi Sonuçları.....	61
4.1.2. Antibiyofilm Aktivitesi Bulguları.....	65
4.2. Sitotoksosite Testi Bulguları.....	69
4.2.1. MTT Testi Bulguları.....	69
4.2.1. LDH Testi Bulguları	73
4.3. Mikrosertlik Testi Bulguları	75
4.4. Pürüzlülük Testi Bulguları.....	79
5. TARTIŞMA.....	89
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	119
KAYNAKLAR	122
EKLER	162
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	162
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	163
EK-3. PROJE ÖZET RAPORU	164

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince yardımlarını ve ilgisini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olup değerli tecrübe ve önerileri ile bana yol gösteren, desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Nurcan ÖZAKAR'a,

Çalışmamın deney aşamalarının gerçekleşmesinde değerli katkıları ve emekleriyle büyük yardımları olan Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Arzu GÖRMEZ'e, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Rukiye Sevinç ÖZAKAR ve Dr.Öğr.Üyesi Emrah ÖZAKAR'a, Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlisi Damla RÜZGAR'a ve doktora öğrencisi Elif AKSAKAL'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR'a bölümümüzün değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Nilgün SEVEN, Prof. Dr. Mehmet YILDIZ, Doç. Dr. Pınar GÜL, Doç. Dr. Ömer SAĞSÖZ, Doç. Dr. Neslihan ÇELİK, Dr. Öğr. Üyesi Merve İŞCAN YAPAR'a,

Uzmanlık süresince her anlamda birbirimize destek olduğumuz çok kıymetli dostum, eşkıdemim Dt. İpek ÇUBUKCU'ya, Erzurum'u güzelleştiren, beraber çalışmaktan keyif aldığım kıymetli tüm asistan arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli anneme, babama ve abilerime,

Sonsuz teşekkür ederim...

Dt. İklima GÜNDOĞDU

ÖZET

Doğal Maddeler ve Bor Türevleri Kullanılarak Hazırlanan Oral Çalkalama Solüsyonlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin, Sitotoksisitesinin, Mine ve Kompozit Rezinlerin Yüzey Özelliklerine Olan Etkilerinin Değerlendirmesi

Amaç: Klorheksidin (KHX) altın standart antiplak ajanı olmasına karşın sahip olduğu yan etkiler ve sitotoksisite daha biyouyumlu antimikrobiyal ajan arayışına yol açmıştır. Bu doğrultuda çalışmanın amacı doğal maddeler ve bor türevleri ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının karyojenik bakterilere (*S.mutans*, *S.salivarius*, *S.mitis*, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *L.fermentum*) karşı antimikrobiyal aktivitelerini, insan gingival hücre hatlarındaki (HGF-1) sitotoksisitesini, mine ve kompozit rezinin yüzey özellikleri üzerine olan etkilerini değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Çalışmada hindistan cevizi yağı, propolis, kekik ekstresi, bor nitrit, borik asit ve sodyum borat ile formüle edilen oral çalkalama solüsyonlarının antibakteriyel etkinliği agar well difüzyon ve mikrodilüsyon, antibiyofilm aktivitesi ise kristal viyole yöntemi ile değerlendirildi. HGF-1 hücrelerine karşı sitotoksisite, MTT ve LDH testi ile 1.5 dakikalık temas süresinden 24 saat sonra değerlendirildi. Mine ve kompozit rezinin yüzey sertliği ve pürüzlülüğüne etkisi ise, başlangıçta ve 12 saatlik maruziyet sonrası ölçüm yapılarak, Vicker's mikrosertlik cihazı ve kontakt profilometre cihazı ile değerlendirildi.

Bulgular: Bor türevleri ve hindistan cevizi yağı ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonları tüm test bakterileri üzerinde, propolis ve kekik ekstresi ile hazırlananlar ise sadece *S.mutans* üzerinde antibakteriyel etkinlik gösterdi. Antibiyofilm aktivite ise sadece bor türevleri ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarında tüm test bakterilerinin biyofilmelerine karşı görüldü. Sitotoksik etki borik asitle hazırlanan oral çalkalama solüsyonunda KHX ile benzer, diğer gruplarda KHX'den daha düşüktü. Sodyum boratla hazırlanan oral çalkalama solüsyonu mine sertliğinde artışa, kekik ekstresi ile hazırlanan mine pürüzlülüğünde azalmaya, hindistan cevizi yağı ile hazırlanan solüsyonun ise kompozit rezinin pürüzlülüğünde azalmaya sebep olduğu görüldü. Saf etkin maddelerden propolis ise kompozit rezinin yüzey sertliğinde azalmaya sebep oldu.

Sonuç: Çalışmanın tüm bulguları değerlendirildiğinde bor nitrit ve sodyum borat ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonları tüm test bakterileri üzerinde antibakteriyel etkinlik ve antibiyofilm aktivite göstermeleri, mine ve kompozit rezinlerin yüzey özellikleri üzerinde olumsuz etkileri olmaması ile KHX'e alternatif oral çalkalama solüsyonu geliştirilmesi konusunda umut vaat etmektedir. Çalışmanın sınırları dahilinde elde ettiğimiz veriler daha ileri çalışmalarla ve klinik deneylerle desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel etki, borik asit, bor nitrit, hindistan cevizi yağı, kekik, propolis, sitotoksisite, sodyum borat, pürüzlülük, mikrosertlik

ABSTRACT

Evaluation of the Effects of Antimicrobial Activities, Cytotoxicities, and Surface Properties of Enamel and Composite Resins of Oral Rinsing Solutions Prepared Using Natural Substances and Boron Derivatives

Aim: Although chlorhexidine (KHX) is the gold standard antiplaque agent, its side effects and cytotoxicity have led to the search for a more biocompatible antimicrobial agent. In line with the search for an alternative agent to KHX, this study aims to evaluate the antimicrobial activities of oral rinse solutions prepared with natural substances and boron derivatives against cariogenic bacteria (*S.mutans*, *S.salivarius*, *S.mitis*, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *L.fermentum*), their cytotoxicity in human gingival cell lines (HGF-1), and their effects on the surface properties of enamel and composite resin.

Material and Method: In the study, the antibacterial activity of oral rinse solutions formulated with coconut oil, propolis, thyme extract, boron nitride, boric acid and sodium borate were evaluated by agar well diffusion and microdilution, and antibiofilm activity by crystal violet method. Cytotoxicity against HGF-1 cells was assessed 24 hours after 1.5 minutes of contact time by MTT and LDH assay. The effect of enamel and composite resin on surface hardness and roughness was evaluated with Vicker's microhardness device and contact profilometer device by measuring at the beginning and after 12 hours of exposure.

Results: Oral rinse solutions prepared with boron derivatives and coconut oil showed antibacterial activity on all test bacteria, while those prepared with propolis and thyme extract showed antibacterial activity only on *S.mutans*. Antibiofilm activity was observed against biofilms of all test bacteria only in oral rinse solutions prepared with boron derivatives. The cytotoxic effect was similar to KHX in an oral rinse solution prepared with boric acid, but lower than KHX in other groups. It was observed that the oral rinse solution prepared with sodium borate caused an increase in enamel hardness, and a decrease in enamel roughness prepared with thyme extract, and the solution prepared with coconut oil caused a decrease in the roughness of the composite resin. Propolis, one of the pure active ingredients, caused a decrease in the surface hardness of the composite resin.

Conclusion: When all the findings of the study are evaluated, oral rinsing solutions prepared with boron nitride and sodium borate show promise for the development of an alternative oral rinsing solution to KHX, as they show antibacterial activity and antibiofilm activity on all test bacteria, and do not have negative effects on the surface properties of enamel and composite resins. The data we obtained within the limits of the study should be supported by further studies and clinical trials.

Keywords: Antibacterial effect, boric acid, boron nitride, coconut oil, cytotoxicity, propolis, sodium borate, thyme

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

>	: Büyüktür
%	: Yüzde
<	: Küçüktür
µm	: Mikrometre
a	: Ağırlık
Abs	: Absorbans
AFM	: Atomik kuvvet mikroskobu
ark	: Arkadaşları
BHIA	: Brain Heart İnfüzyon Katı Besiyeri
Ca	: Kalsiyum
Ca₁₀ (PO₄)₆ (OH)₂	: Hidroksiapatit
CFU	: 1 ml deki koloni oluşturan bakteri sayısı (colony forming unit)
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	: Santimetre
CO₂	: Karbondioksit
cp	: Centipoise
dk	: Dakika
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EÇÇ	: Erken çocukluk çürüğü
FBS	: Fetal Bovine Serum
gr	: Gram
h	: Hacim
H⁺	: Hidrojen iyonu

H₂B₄O₇	: Tetraborik asit
H₃BO₃	: Borik asit
HGF-1	: İnsan gingival fibroblastı
IC₅₀	: Yarı maksimal inhibitör konsantrasyon
KHX	: Klorheksidin
L	: Lactobacillus
LDH	: Laktat dehidrogenaz
mg	: Miligram
mg	: Mikrogram
MIK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
ml	: Mililitre
mM	: Mikromolar
mm	: Milimetre
MRSA	: DeMan Rogosa Sharp Katı Besiyeri
N	: Newton
n	: Örnek sayısı
Na⁺	: Sodyum iyonu
Na₂B₄O₇.10H₂O	: Sodyum borat
nM	: Nanomolar
nm	: Nanometre
°C	: Derece
OD	: Optik Dansite
p	: İstatistiksel anlamlılık düzeyi
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PO₄	: Fosfat

Ra	: Yüzeyin ortalama pürüzlülüğü
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions Per Minute)
S	: Streptococcus
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SLS	: Sodyum Lauril Sülfat
sn	: Saniye
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
UV	: Ultraviyole
vb.	: Ve benzeri
VHN	: Vickers sertlik değeri
W	: Weight- ağırlık
X	: Kat
Δ	: Delta, fark
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Minede demineralizasyon-remineralizasyon döngüsü	5
Şekil 2.2. Çürüğün gelişiminde etkili olan faktörler	7
Şekil 3.1. Ultrasonikasyon cihazı ve vorteks.....	35
Şekil 3.2. Rotovapor	37
Şekil 3.3. Formüle edilen oral çalkalama solüsyonları.....	38
Şekil 3.4. Propolis ve propolis nanoemülsiyon grubunun well difüzyon testinde inhibisyon zonları.....	44
Şekil 3.5. Borik asit ve borik asit nanoemülsiyon grubunun mikrodilüsyon testi ile MİK değerinin belirlenmesi	45
Şekil 3.6. İnsan sağlıklı gingival hücre hattının (HGF-1) 10X büyütmedeki mikroskop görüntüsü.....	49
Şekil 3.8. Kompozit rezin örneklerin hazırlanmasında kullanılan materyaller	55
Şekil 3.9. Kompozit rezin örneklerin hazırlanması	55
Şekil 3.10. Mine ve kompozit rezin örneklerle solüsyonların uygulanması.....	56
Şekil 3.11. a) Pürüzlülük ölçüm cihazı b) Mine ve kompozit örneklerin pürüzlülük ölçümü.....	57
Şekil 3.12. a) Vicker's sertlik ölçüm cihazı b) Mine ve kompozit rezin örneklerin sertlik ölçümü.....	58
Şekil 3.13. a)Kompozit rezin örneğinin yüzeyinde oluşan piramit izin görüntüsü b) Mine örneğinin yüzeyinde oluşan piramit izin görüntüsü.....	58
Şekil 3.14. Altınla kaplanmış mine ve kompozit rezin örnekleri	59
Şekil 4.1. Bor nitür nanosüspansiyonu antibiyofilm aktivitesi	68
Şekil 4.2. Borik asit çözeltisi antibiyofilm aktivitesi.....	68

Şekil 4.3. Sodyum borat çözeltisi antibiyofilm aktivitesi.....	69
Şekil 4.4. KHX antibiyofilm aktivitesi.....	69
Şekil 4.5. MTT testi sonuç grafiği.....	72
Şekil 4.6. LDH testi sonuç grafiği	74
Şekil 4.7. Kompozit rezin örneklerinin x1000 büyütme altında SEM görüntüleri.....	85
Şekil 4.8. Mine örneklerinin x1000 büyüme altında SEM görüntüleri	87



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Sertlik ölçme yöntemleri (Chandler, 1999)	24
Tablo 3.2. Oral çalkalama solüsyonlarının organoleptik kontrol sonuçları	39
Tablo 3.3. Oral çalkalama solüsyonlarının ilk pH ölçümü sonuçları.....	39
Tablo 3.4. Saf maddelerin ve oral çalkalama solüsyonlarının pik verdiği dalga boyları	40
Tablo 3.5. Saf maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı	41
Tablo 3.6. Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan cihazlar	42
Tablo 3.7. Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	42
Tablo 3.8. Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerlerinin hazırlanışı	43
Tablo 3.9. Saf maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı	46
Tablo 3.10. MTT ve LDH testinde kullanılan kimyasallar	47
Tablo 3.11. MTT ve LDH testinde kullanılan materyaller	47
Tablo 3.12. MTT ve LDH testinde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı.....	48
Tablo 3.13. MTT ve LDH testinde kullanılan cihazlar.....	48
Tablo 3.14. Deney grupları ve örnek sayıları.....	53
Tablo 3.15. Mine ve kompozit rezin örneklerine uygulanan oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin konsantrasyonları	56
Tablo 4.1. Agar well difüzyon testinde inhibisyon zonu çapları (mm)	62
Tablo 4.2. Mikrodilüsyon testi sonucunda elde edilen MİK değerleri	64
Tablo 4.3. Bor nitrür nanosüspansiyonu % biyofilm oranları.....	66
Tablo 4.4. Borik asit çözeltisi % biyofilm oranları	66

Tablo 4.5. Sodyum borat çözeltisi % biyofilm oranları	67
Tablo 4.6. KHX % biyofilm oranları	67
Tablo 4.7. MTT testi sonucunda % canlılık oranları	71
Tablo 4.8. LDH testi sonucunda % LDH aktivitesi	73
Tablo 4.9. Mine örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (VHN ÖNCE ,uygulandıktan sonra (VHN SONRA) mikrosertlik değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ VHN) ortalama ve standart sapmaları.....	76
Tablo 4.10. Kompozit rezin örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (VHN ÖNCE),uygulandıktan sonra (VHN SONRA) mikrosertlik değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ VHN) ortalama ve standart sapmaları	78
Tablo 4.11. Kompozit ve mine örneklerinin Δ VHN değerlerinin karşılaştırılması	79
Tablo 4.12. Mine örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (Ra ÖNCE ,uygulandıktan sonra (Ra SONRA) ortalama yüzey pürüzlülüğü değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ Ra) ortalama ve standart sapmaları	81
Tablo 4.13. Kompozit rezin örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (Ra ÖNCE),uygulandıktan sonra (Ra SONRA) ortalama yüzey pürüzlülüğü değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ Ra) ortalama ve standart sapmaları.....	83
Tablo 4.14. Kompozit ve mine örneklerinin Δ Ra değerlerinin karşılaştırılması	84

1. GİRİŞ

Diş çürüğü, bireyleri çocukluk döneminden itibaren etkileyen bilinen en yaygın enfeksiyöz hastalıklardan biridir. Diş çürüğü; genetik, biyolojik, çevresel, sosyoekonomik ve kültürel birçok faktörün rol aldığı; mikrobiyal dental plaktaki karyojenik bakterilerin diyet karbonhidratlarını fermente etmesi sonucu oluşan asitler nedeniyle diş sert dokularında mineral kaybı ile karakterize, davranışla değiştirilebilen bir hastalıktır (Selwitz ve ark., 2007a).

Mikrobiyal dental plak, zaman içinde nispeten stabil kalan çeşitli mikrobiyal bileşime sahip, yapısal ve işlevsel olarak organize edilmiş bakteriyel bir biyofilmdir. Oral biyofilm diş çürüğü, diş eti iltihabı, periodontitis, ağız kokusu ve sistemik hastalığın başlıca nedenidir. Bu nedenle, dişler üzerindeki bakteriyel biyofilmin kontrolü sağlığın korunması açısından önemlidir (Borgnakke, 2015). Çürük lezyonuyla ilişkili diş plağında bulunan en baskın mikroorganizma *Streptococcus mutans*'tır ve çürüğün primer patojeni olarak gösterilir (Loesche, 1986). *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus mitis*'de çürükle ilişkili plakta bulunan karyojenik bakteriler arasındadır (Becker ve ark., 2002; Gross ve ark., 2012). Laktobacillus türleri ise çürükten sorumlu sekonder patojenler olarak kabul edilir ve kavitasyon oluşmuş bir çürük lezyonun aktif ilerlemesiyle ilişkilendirilirler (Krzyściak ve ark., 2014; Signoretto ve ark., 2009). Bu nedenle, diş çürüklerinin önlenmesi için yapılacak uygulamalar plaktaki bu karyojenik türlerin oranının azaltılmasına yönelik olmalıdır. Diş plağını gidermenin birincil yöntemi diş fırçalama, diş ipi kullanımı gibi mekanik yöntemlerdir. Mekanik diş temizleme yöntemleri ağız sağlığının korunmasında en çok kabul gören ve güvenilir yöntem olarak görülse de, kemoterapötik ajanlar da plak oluşumunu azaltmak için kullanılmaktadır (Shirato ve ark., 2017). Kimyasal olarak çeşitli topikal antimikrobiyal ajanlar arasında oral çalkalama solüsyonları, kullanım kolaylığı nedeniyle iyi bir yöntem olarak kabul

edilmiştir ve oral çalkalama solüsyonları diş fırçalamayı tamamlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Indu S. R. ve ark., 2019; Shirato ve ark., 2017).

Oral çalkalama solüsyonları, bakteriyel kolonizasyonu, büyümeyi, bağlanmayı ve metabolik aktiviteyi inhibe etmek, enfeksiyonu hafifletmek veya diş çürüklerini önleyerek tedavi edici bir etki elde etmek için ağız çalkalamasında kullanılan çeşitli antimikrobiyal ajanlar içeren solüsyonlardır. Bu antimikrobiyal ajanlar arasında en sık kullanılanlardan biri Klorheksidin (KHX)'dir. Klorheksidin, geniş spektrumlu biyosit etkisine sahip bir ajandır. Bakteri ve mantarlara karşı oldukça etkili olan bu ajan hem bakterisidal hem de bakteriyostatik etkiye sahiptir. Klorheksidin ağız gargarası etkinliği kanıtlanmış olması nedeniyle “altın standart” olarak kabul edilmektedir (M Kaushik ve ark., 2016). Bu etkinliğine rağmen uzun süre kullanımından sonra, dişlerde ve dilde renk değişikliği, tat duyusunda değişiklik, oral mikroflorayı bozma ve diş taşı oluşumunda artış gibi yan etkilerinden dolayı klorheksidin gargara ile aynı veya / daha verimli olan ve klorheksidin gargaranın yan etkilerini bünyesinde bulundurmeyen alternatiflere gereksinim duyulmaktadır (Varoni ve ark., 2012).

Bu bağlamda tez çalışmamızın amacı, 3 farklı doğal madde ve 3 farklı bor türevi ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının; diş çürüğü etkeni olan bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkilerini ve insan gingival hücre hatlarındaki sitotoksitelerini incelemek, aynı zamanda solüsyonların; diş minesini ve kompozit rezinin yüzey özellikleri üzerine olan etkilerini değerlendirmektir. Bu çalışmanın sonuçları oral çalkalama solüsyonlarında doğal maddelerin ve bor türevlerinin kullanılabilirliği konusunda aydınlatıcı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mine Dokusunun Yapısı

Diş minesi, % 95-98 oranında inorganik, % 1 oranında organik maddelerden ve % 4 oranında sudan oluşmuştur. Mine dokusu, ameloblast hücreleri tarafından oluşturulur. Ameloblast hücreleri ektoderm adı verilen bir tabakadan orijin alan ortalama 4 mikrometre çapında, 40 mikrometre uzunluğunda hücrelerdir. Ameloblast hücreleri mine matriksi oluşumu tamamlanıp mine dokusunun oluşumu bittikten sonra kaybolurlar (An ve ark., 2012).

Mine içeriğindeki inorganik maddeler apatit kristalleri şeklindedirler. Kalsiyum fosfat moleküllerinden oluşan hidroksiapatit kristalleri ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) minenin inorganik yapısının %90 'ını meydana getirir (Farci & Soni, 2022). Minenin organik kısmı, hidroksiapatit kristallerine bağlı kollajen fibrillerden oluşmuştur. Organik yapı içerisinde başta metionin ve histidin olmak üzere 16 değişik aminoasit bulunur. Mine yapısındaki en önemli proteinler “Enamelin” ve “Amelogenin” dir. Bunlar, minenin organik yapısının organizasyonunu sağlarlar. Hidroksiapatit kristalleri organik moleküller ile kimyasal bir şekilde bağlıdır. Yapı organo-inorganik moleküllerden meydana gelmiştir ve bu nedenle pH'sı 5.5'den yukarı olan asitler mine yapısını etkileyememektedir (Fejerskov, 1979).

Minenin organik ve inorganik bileşenleri mine yapısında rastgele bir düzende bulunmazlar. Minenin histolojik yapısına bakıldığında yaklaşık 5 µm çapındaki “anahtar deliği” benzeri mine prizmalarından ve bu mine prizmalarının sınırlarını oluşturan 800-1000 nm kalınlığa sahip proteince zengin prizma kılıflarından oluşan bir yapı olduğu görülür (Bechtle ve ark., 2010). Mine prizmaları, hidroksiapatit kristallerinden oluşmuştur. Hidroksiapatit kristalleri 20-120 nm kalınlığa sahiptir ve mine prizmaları içinde farklı yönelimler sergilerler (An ve ark., 2012). Mine prizmalarının baş kısmında

hidroksiapatit kristalleri prizma eksenine paralelken, kuyruk kısmında prizma eksenine ile 60°'lik bir açı yaparlar (White ve ark., 2001).

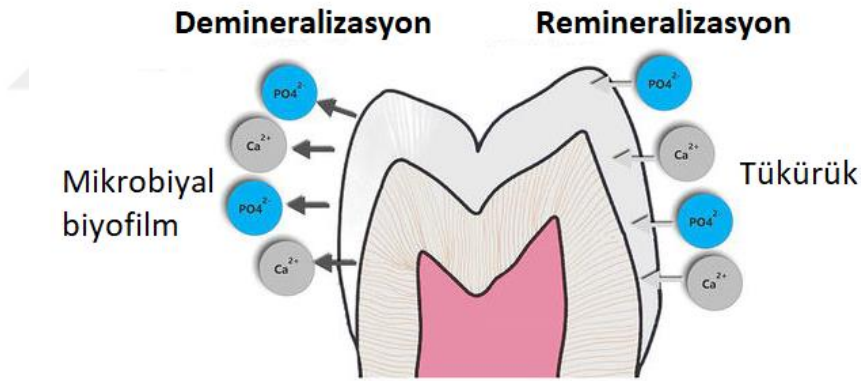
Mine dokusu, vücutta bulunan en sert dokudur (Kodaka ve ark., 1999). Mine, çiğneme fonksiyonu sırasında ve dış nesnelerle oluşan temaslar, yiyecekler, içecekler, diş macunu, ağız gargaraları gibi eksojen etkenler sebebiyle çok fazla kuvvete maruz kalır. Mine, diş fonksiyonları sırasında bu kuvvetleri yapısı bozulmadan taşıyabilmelidir (Rensberger, 1997). Mine mikrosertliğinin korunması, diş sağlığını, çiğneme fonksiyonunu, mekanik ve kimyasal kuvvetlere direnme kabiliyetini korumak için önemlidir (Zanolla ve ark., 2017).

2.2. Diş Çürüğü

Diş çürükleri dünyada sık görülen önemli bir sağlık sorunudur (Schwendicke ve ark., 2015). Diş çürükleri, başta *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) olmak üzere bir mikroorganizma topluluğu (biyofilm) olarak tanımlanabilecek dental mikrobiyal plağın bünyesinde bulunan karyojenik bakterilerin sebep olduğu yaygın kronik bir enfeksiyondur (P & Martin, 1999). Çürük sürecinin mekanizmaları tüm çürük türleri için benzerdir. Çürük, karyojenik bakterilerin diyet karbonhidratlarını fermente etmesi kaynaklı oluşan asidik yan ürünlerin (laktik, formik, asetik ve propiyonik asitler) diş sert dokularının lokalize yıkımına sebep olması sonucu oluşur (Fejerskov O, Kidd EAM, 2003; P & Martin, 1999). Oluşan bu asidik yan ürünler, lokal pH değerlerinin kritik değerin (pH 5,5) altına düşmesine neden olarak diş dokularının demineralizasyonuna yol açar (Featherstone, 2000; J. D. B. Featherstone, 2004). Demineralizasyon, diş sert dokularındaki minerallerin özellikle fosfat (PO₄) ve kalsiyum (Ca) minerallerinin çözülerek diş yapısından ayrılması olayıdır (Şekil 2.1.). Bu iyonların tükürükte belirli bir doygunluğa ulaşp, demineralizasyona bağlı olarak mine kristalleri arasında oluşan

boşluklara yeniden çökmesi ile sert doku bütünlüğünün yeniden sağlanması ise remineralizasyon olarak tanımlanmaktadır (J. Featherstone, 2008).

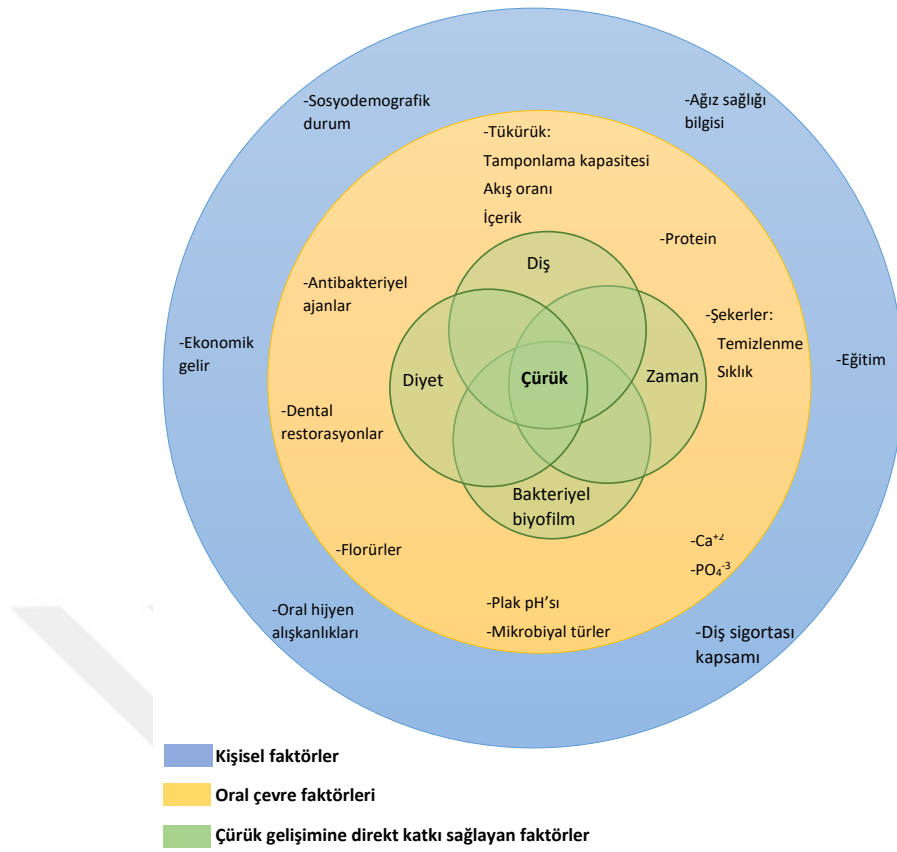
Diş çürüğünün ilk evrelerinde mine yüzeyinde gözlenebilen beyaz nokta lezyonları dışında herhangi bir semptom görülmez. Bu lokalize beyaz nokta lezyonları, dişerin yüzeyinde oluşan bir yüzey altı mine demineralizasyonu nedeniyle oluşur (Sudjalim ve ark., 2006; Summitt, 2006). Diş çürüğünün ilerlemesi, durması veya tersine dönmesi demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki dengeye bağlıdır. Demineralizasyon ve remineralizasyon süreci çoğu insanda gün içinde sıklıkla gerçekleşir. Zamanla bu süreç ya diş yüzeyinde bir kaviteye ya da lezyonun onarılmasına ve tersine çevrilmesine ya da mevcut durumun korunmasına yol açar (J. D. B. Featherstone, 2004). Davranış değişiklikleri ve önleyici tedbirler uygulanırsa beyaz nokta lezyonları durdurulabilir veya tersine çevrilebilir (Muñoz ve ark., 2013).



Şekil 2.1. Minede demineralizasyon-remineralizasyon döngüsü

Bir çürük lezyonunun oluşumu, üç ana faktörün bir arada bulunmasına bağlıdır, bunlar: asidojenik ve asidofilik mikroorganizmalar, diyetten elde edilen karbonhidratlar ve konakçı faktörlerdir (Struzycka, 2014). Sosyo-ekonomik ve davranışsal faktörler de hastalığın etiyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Diş çürüklerinin oluşum süreci, karmaşık biyofilm içindeki mikrobiyolojik kaymalarla başlar, tükürük akışı ve bileşimi, florür maruziyeti, diyet şekerlerinin tüketimi ve ağız hijyeni alışkanlıkları gibi bir çok

faktörden etkilenir (Şekil 2.2.) (Selwitz ve ark., 2007b). Biyofilm mikroorganizmaları ile konakçı arasındaki kommensalizm ve karşılıklılık durumunda, oral mikrobiyomda homeostaz korunur ancak biyolojik ve çevresel faktörlerin etkisiyle oral mikrobiyomda bir takım değişiklikler meydana geldiğinde biyofilm mikroorganizmaları ve konakçı arasında parazitik ilişki hakim olmaya başlayabilir. Biyofilm mikrobiyotası, bir risk faktörü (sık şeker tüketimi gibi) nedeniyle asidojenik, asidürik ve karyojenik bir popülasyona dönüşür ve asit üreten bakteriler tarafından oluşturulan düşük pH'lı bölgelerde asidürik organizmalar yoğunlaşır ve pozitif bir geri besleme döngüsü oluşturulur. Bu da diş yüzeyinde lokalize demineralizasyona neden olur ve diş çürüğü meydana gelir (Head ve ark., 2017; Schwendicke ve ark., 2016). Bu nedenle diş çürüğü, karyojenik bir biyofilm ve diyetten fermente edilebilir karbonhidratlara (glukoz, fruktoz, maltoz ve sakaroz) düzenli olarak maruz kalmayı gerektiren bir diyet-mikrobik hastalık olarak kabul edilir (Selwitz ve ark., 2007b). Ağız biyofilmlerinin olgunlaşmasına ve dişlerde uzun süre kalmasına izin verilen yerlerde çürük lezyonları gelişir. Bu biyofilmlerin oluşumunu engellemede en etkili faktör ağız hijyeni alışkanlıklarıdır. Diş ve ağız bakımı ne kadar yetersiz olursa plak oluşumu da o kadar çabuk ve fazla olur (Thomas ve ark., 2016).



Şekil 2.2. Çürüğün gelişiminde etkili olan faktörler

2.3. Mikrobiyal Dental Plak ve Diş Çürüğü

Oral mikroorganizmalar, dişlerin yüzeylerinde çürük sürecinin nedeni olan ve klasik biyofilm özelliklerini gösteren mikrobiyal dental plak oluştururlar (Aas ve ark., 2008). Mikrobiyal dental plak, hücre dışı bir matrikse gömülü mikrobiyal hücreler topluluğu olarak tarif edilen bir polimikrobiyal biyofilm olarak tanımlanmaktadır. Erüpsiyondan hemen sonra ve diş temizliğinden saniyeler sonra diş yüzeyleri, esas olarak tükürükten, dişeti oluşu sıvısından ve bakterilerin kendisinden türetilen bir düzenleyici molekül filmi (biyolojik olarak aktif proteinler ve glikoproteinler) ile kaplanır (Hannig ve ark., 2005). Başlangıçta, sadece birkaç bakteri türü, edinilmiş pelikül olarak da adlandırılan bu filme yapışabilir. Hücreler, zayıf fizikokimyasal kuvvetler tarafından, tersine çevrilebilir şekilde yüzeye yakın tutulur. Başta streptokoklar (örn: *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus oralis*) olmak üzere bu erken bakteri kolonizatörleri üzerindeki

adezin molekülleri, bağlanmayı geri döndürülemez hale getirmek için edinilmiş peliküldeki tamamlayıcı reseptörlere bağlanırlar ve ardından bu öncü türler çoğalmaya başlar (Whittaker ve ark., 1996). İlk kolonize olan mikroorganizmaların metabolizması, örneğin oksijen tükettikten sonra daha anaerobik hale getirerek yerel ortamı değiştirir. Biyofilm geliştikçe, zorunlu anaeroblar gibi daha zor sekonder kolonize edicilerin hücre yüzeyindeki adezinler, koadhezyon veya pıhtılaşma olarak adlandırılan bir süreçle halihazırda bağlı bakteriler üzerindeki reseptörlere bağlanır ve biyofilmin bileşimi daha çeşitli hale gelir (Kolenbrander ve ark., 2006). Küçük bir diş plağı numunesi ortalama olarak 12 ila 27 mikrobiyal tür içerir (Aas ve ark., 2005).

Diş çürüğü etiyojisinde plak bakterilerinin rolünü açıklayan hipotezler spesifik plak hipotezi, spesifik olmayan plak hipotezi ve ekolojik plak hipotezidir. Bunlardan en kabul göreni ekolojik plak hipotezidir (Forssten ve ark., 2010). Ekolojik plak hipotezi, diş çürüğünün tek başına hareket eden belirli bir mikroorganizma türünün neden olmadığına, diş biyofilminin mikrobiyotasında daha fazla karyojenik türlere doğru bir kaymanın sonucu olduğuna inanmaktadır. Düzenli şeker tüketiminden kaynaklanan oral asidik koşullar, bu ortama daha fazla uyum sağlayan bakterilerin artmasına, bu koşullara tolerans göstermeyen iyi huylu türlerin ise ortadan kalkmasına sebep olur (Selwitz ve ark., 2007b). Bir kavitenin gelişmesine izin verilirse, bölge plak organizmalarının kademeli olarak azaltılmış bir pH'a adapte olduğu ekolojik bir niş sağlar (Fejerskov, 2004). Kaviteye lezyon oluşumu biyofilmi korur ve hasta bu alanı temizleyemediği sürece çürük süreci devam eder (Kidd & Fejerskov, 2004).

Dental biyofilm dinamik, sürekli aktif metabolik bir yapıdır. Biyofilm pH'ının birbirini takip eden düşüş ve artış süreçlerinde diş yüzeyinde de demineralizasyon ve remineralizasyon döngüleri oluşur. Sağlıklı koşullarda bu süreçler dengededir ve diş minesini yüzeyinde kalıcı bir hasar oluşmaz (Hicks ve ark., 2004). Ekolojik bozulma bir

eşği aştığında, sağlık durumları sırasında biyofilm topluluğunu şekillendiren türler ve bu türler arasındaki etkileşimler değişir (Edlund ve ark., 2015).

Oral kavitede bulunan ve diş çürüğü ile ilişkilendirilen karyojenik mikroorganizmaların başında Streptokoklar, Aktinomiçesler ve Laktobasiller gelir (Struzycka, 2014). *Streptococcus mutans* (*S.mutans*), *Streptococcus mitis* (*S.mitis*) ve *Streptococcus salivarius* (*S.salivarius*) diş çürükleriyle ilişkilendirilen başlıca streptokok türleri arasındadır (AlEraky ve ark., 2021; Becker ve ark., 2002; Gross ve ark., 2012). *Laktobasillus acidophilus* (*L.acidophilus*), *Laktobasillus fermentum* (*L.fermantum*) ve *Laktobasillus casei* (*L.casei*) de diş çürükleri ile ilişkilendirilen laktobasil türlerindendir (Neves ve ark., 2017).

• Streptokoklar

Streptokoklar, yuvarlak (kok) şekilli gram pozitif bakterilerdir. Aerobik ve anaerobik koşullar altında üreyebilen streptokoklar fakültatif anaeropturlar. Streptokoklar sıklıkla ağız florasında, üst solunum yollarında yerleşim gösterirken bunun yanında gastrointestinal, ürogenital sistemlerde ve deride de gözlenebilirler (Kutlu ve ark., 2008). Oral streptokoklar, biyofilm kolonizasyonunu ilk başlatan ve sayısal olarak ağız boğluğundaki baskın mikroorganizmalar olmaları yönüyle ağız sağlığında ve diş çürüğü, periodontitis gibi hastalık süreçlerinde etkindirler (Jakubovics ve ark., 2014). Yaygın sınıflandırma şekillerinden biri eritrositlerle yaptıkları hemoliz reaksiyonuna göre şu şekildedir:

- Alfa hemolitik streptokoklar: -Viridans streptokoklar
- Pnömokoklar
- Beta hemolitik streptokoklar
- Non-hemolitik streptokoklar

Ağız boşluğunda sık bulunan viridans grubu streptokoklar 30' dan fazla tür ve alt tür içerirler. 'Viridans' terimi latince yeşil demektir, bu gruptaki bakterilerin kanlı agarda oluşturduğu yeşil rengi temsil eder. Klinik olarak önemli olanlar 4 grupta toplanır: *Streptococcus mitis* (*S. mitis*), *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), *Streptococcus salivarius* (*S. salivarius*) ve *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (Arabacı, 2019). Viridans streptokoklar ağız sağlığının yanı sıra enfektif endokardit, erken doğmuş bebeklerde bakteriyemi gibi klinik tablolarla da ilişkilidirler (Arabacı, 2019; W. R. Wilson ve ark., 2021).

Viridans streptokoklardan *S. mutans*, diş çürüğünün primer patojeni olarak gösterilir ve diş çürüğü ile en çok ilişkilendirilen bakteridir. *S. mutans* çok küçük yaşlardan itibaren ağız boşluğunda bulunur ve daha çok başlangıç çürükleriyle ilişkilendirilir (Loesche, 1986). Asidojenik (asit üreten) ve asidürik (asit ortamda yaşayabilme) özelliklere sahiptir, sakkarozu ve diğer karbonhidratları kolayca fermente ederek atık ürün olarak laktik asit oluşturur (Zeng & Burne, 2016). Laktik asit birikimi çürük ortamının pH'ının düşmesinden sorumludur (Guo ve ark., 2013; Hwang ve ark., 2016). *S. mutans*, glukosiltransferazlar (GTF'ler) ve fruktosiltransferaz (FTF) salgılayabilir. Bu enzimler, temel olarak glukan ve fruktan olmak üzere hücre dışı polisakkaritleri (EPS'ler) sentezlerler, substrat olarak diyet şekerini kullanırlar, diş minesine zarar verirler, plak veya diş biyofilminin oluşumuna ve birikmesine neden olurlar (J. Yuan ve ark., 2022). Glukan ise plaktaki bakterilerin diş yüzeyine daha sıkı tutunmalarını sağlayarak diş adezyonunu artırır (Bjorndal & Kidd, 2005).

Fermente edilebilir karbonhidrat yokluğunda, *S. mitis* tükürük kaplı diş *S. mutans*'tan daha fazla avidite ile bağlanır, daha hızlı büyür ve rakiplerini lokal hidrojen peroksit salgılaması ile antagonize eder (Džunková ve ark., 2018; Jakubovics ve ark., 2014; Lamont ve ark., 2018). Yapılan araştırmalarda yüksek çürük oranına sahip

bireylerin oral florasında *S.mitis*'in baskın bir tür olduğu gösterilmiş ve yüksek çürük oranı ile ilişkilendirilmiştir (AlEraky ve ark., 2021; Becker ve ark., 2002). *S.salivarius* da çürük oranı yüksek olan ancak oral florasında *S.mutans* sayısının düşük olduğu çocuklarda yüksek çürük oranı ile ilişkilendirilmiştir (Gross ve ark., 2012).

• Laktobasiller

Laktobasiller, gram pozitif, anaerob ya da fakültatif anaerob özellikte olan çubuk şekilli bakterilerdir. Asidürik ve asidojenik özelliktedirler. Asidürik özelliklerinden dolayı ağız içinde pH'ın düşük olduğu bölgelerde yerleşim gösterirler. Çürük oluşumunda ikincil patojenler olarak gösterilen laktobasiller daha çok derin kaviteli çürük lezyonlarından izole edilirler, çürüğün başlangıcından çok ilerlemesiyle ilişkilendirilirler (Becker ve ark., 2002). Ağız boşluğunda en çok izole edilen laktobasil türleri arasında *Lactobacillus casei* (*L.casei*), *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) ve *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*) yer alır (Tänzer & Livingston, 2001). Laktobasiller fermantasyon sonucu oluşturdukları yan ürünlere göre 2 gruba ayrılırlar. Homofermantatif özellikte olan *L. casei* ve *L.acidophilus*, metabolik aktiviteleri sonucu glikozu fermente ettiklerinde yan ürün olarak laktik asit oluştururlar. *L. fermentum* ise heterofermantatif özelliktedir ve glikoz fermantasyonu sonucunda laktik asitin yanında asetat ve etanol gibi yan ürünler de oluşturur. Bir çok çalışmada tükürük laktobasil seviyesi ile çürük prevelansı arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Ademe ve ark., 2020; Gross ve ark., 2012).

2.4. Oral Çalkalama Solüsyonları ve Antimikrobiyal Ajanlar

Dental biyofilmlerin etkin bir şekilde bozulması, ağız sağlığının korunması ve diş çürüklerinin önlenmesi için esastır. Bakterilerin varlığı, çürüğün etiyolojik faktörleri arasında birincil faktör olarak kabul edilir. Bu açıdan diş çürüklerinin önlenmesi ve tedavisi için antimikrobiyal ajanların kullanımı etkili bir stratejidir (Simón-Soro & Mira,

2015; ten Cate & Zaura, 2012). Dental biyofilmleri bozmak için yaygın olarak benimsenen bir yaklaşım, gargaralara ve diş macunlarına dahil edilen antimikrobiyal ajanların topikal uygulamasıdır (Sreenivasan ve ark., 2013). Bu tür aktiflerin mikrobiyal biyofilme nüfuz etmesi, etkinlikleri için temel bir gerekliliktir (Corbin ve ark., 2011).

Oral çalkalama solüsyonları da bakteriyel kolonizasyonu, büyümeyi, bağlanmayı ve metabolik aktiviteyi inhibe ederek, enfeksiyonu hafifletmek ve diş çürüklerini önlemek amacıyla ağız çalkalamasında kullanılan çeşitli antimikrobiyal ajanlar içeren solüsyonlardır (Indu S. R. ve ark., 2019).

Florür, povidon iyot, kuaterner amonyum tuzları, esansiyel yağlar, antimikrobiyal peptitler (AMP'ler) ve klorheksidin glukonat (KHX) ağız hastalıklarına neden olan oral bakterileri hedef alan antimikrobiyal ajanlar arasındadır (Qiu ve ark., 2020). Son yıllarda doğal maddelerinde karyojenik bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinlikleri araştırılmaya başlanmıştır (Kukreja & Dodwad, 2011; Peedikayil ve ark., 2016).

2.4.1. Florür

Flor, atom numarası 9, atom ağırlığı 19, yoğunluğu 1,265 olan, kokusu ozonu andıran, kahverengimsi sarı renkte, halojenler grubunun ilk elementidir. Florür, florun en basit anyonudur ancak özellikle diş çürüklerini önlemede en başarılı ajanlardan biridir (Marinho ve ark., 2016). Florürler öncelikle çürük prevalansını azaltmak ve mine remineralizasyonunu arttırmak için kullanılır (Wolfgang H Arnold ve ark., 2006). Florürün çürük önleyici etkisinde savunulan mekanizma, florür iyonlarının diş yüzeyinin mineraliyle birleşerek, organik asitlere karşı hidroksiapatit kristallerinden daha fazla dirence sahip olan florohidroksiapatit kristallerinin oluşumu ile karyojenik bakterilerin neden olduğu asit kaynaklı demineralizasyonu önlemek için remineralizasyonu arttırmasıdır (Buzalaf ve ark., 2011). Florürün ayrıca glikolitik yolda anahtar bir enzim olan enolazı inhibe ettiği de belirtilmiştir. Enolazın inhibisyonu, S.

mutans gibi karyojenik bakterilerin büyüme inhibisyonu ve azaltılmış asit üretimi ile sonuçlanır (Tong ve ark., 2011). Floridlerin antibakteriyel ve karyostatik etkileri geniş ölçüde kabul edilmiştir (Rošin-Grget, 2013). Florür tipik olarak içme suyuna veya gargaralar, diş macunları ve oral takviyeler gibi ürünlere küçük miktarlarda ilave edilir (Slade ve ark., 2011).

2.4.2. Povidon İyot

Povidon iyot, iyot ve suda çözünür polimer polivinilpirolidondan oluşur. Povidon-iyot ayrıştığında ve iyot saldıığında antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. İyot mikroplara nüfuz eder, nükleik asitleri oksitler ve proteinleri bozar. Birkaç metabolik yolun bozulması ve hücre zarının düzensizleşmesi yoluyla antimikrobiyal etkinlik gösterir (Nagatake ve ark., 2002). Povidon-iyot solüsyonları, yaygın olarak kullanılan diğer ajanlara göre memeli hücrelerine karşı daha az toksisiteye sahip, geniş spektrumlu topikal antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılan stabil kimyasal komplekslerdir (Gilmore, 1977). Povidon-iyot, ağızda % 2,5 gibi yüksek konsantrasyonlarda 5 aya kadar güvenle kullanılabilir (Frank ve ark., 2020). Bununla birlikte, iyot alerjisi, tiroid hastalığı, hamilelik veya radyoaktif iyot tedavisi olan hastalarda povidon iyot kullanımı kontrendikedir (Gray ve ark., 2013).

2.4.3. Kuarterner Amonyum Tuzları

Benzalkonyum klorür, setil-piridinyum klorür gibi antimikrobiyal ajanlar bu grupta yer alır. Kuarterner amonyum tuzları yaygın olarak antimikrobiyal ajanlar, yüzey aktif maddeler, kumaş yumuşatıcılar ve antistatik ajanlar olarak kullanılmaktadır (Hossain ve ark., 2016). 1970'lerde, kuarterner amonyum tuzları ilk olarak ağız çalkalama solüsyonlarına katılarak dental plağı inhibe etmek için uygulanmıştır (Goto ve ark., 1977). Kuarterner amonyum tuzlarının antimikrobiyal mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Yaygın bir açıklama, kuarterner aminlerin pozitif yükünün, elektrik

dengesini bozmak için negatif yüklü bakteri hücrelerine bağlanması ve ayrıca bakteri zarlarına bağlanarak bakteri lizisini teşvik edebilmesidir (Zhang ve ark., 2016).

2.4.4. Antimikrobiyal Peptitler

Antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösteren kısa, katyonik konak savunma molekülleridir. Ağız boşluğunda hBD-1,2,3, SMAP, LL-37, nisin ve histatinler gibi oral patojen bakterilere ve biyofilmlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip birçok doğal AMP molekülü bulunmaktadır (Mai ve ark., 2017). Bununla birlikte doğal AMP'lerin sitotoksisitelerinin yüksek olması ve doku dağılımlarının zayıf olması gibi dezavantajlarından ötürü birçok yapay AMP tasarlanmış ve geliştirilmiştir (He & He, 2016). Doğal AMP'lerin antimikrobiyal mekanizması, hücre geçirgenliği ve ardından negatif yüklü bakteri hücrelerine nispeten güçlü elektrostatik çekime bağlı olan membran bozulması şeklindedir (Takahashi ve ark., 2010).

2.4.5. Esansiyal Yağlar

Esansiyal yağlar, bitkilerin gövdelerinden, yapraklarından, çiçeklerinden, kabuğundan, meyvelerinden ve köklerinden elde edilen uçucu ve kokulu ürünlerdir. Esansiyal yağlar, esas olarak, yapılarının % 20 ila % 70'ini temsil eden 2 veya 3 bileşenden oluşmalarına rağmen çok daha karmaşık yapılardır. İçerdiği ana bileşikler terpenler, terpenoidler ve fenilpropanoidler olmakla birlikte oksitler, yağ asitleri ve kükürt türevleri gibi diğer bileşikler de mevcuttur (Wińska ve ark., 2019). Esansiyal yağlar ve diğer bitki özleri, doğal tıbbi ürün kaynağı olarak ilgi uyandırmıştır. Spesifik olarak, uçucu yağların antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antioksidan özellikler gösterdiği kanıtlanmıştır. Ancak bunların etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (Schelz ve ark., 2006). Esansiyal yağların bakterilere karşı antimikrobiyal etki mekanizmaları karmaşıktır. Yüksek konsantrasyonlarda hücre

duvarının bozulması ve hücre proteinlerinin ile etkinlik gösterirken, daha düşük konsantrasyonlarda enzim inaktivasyonu yoluyla etki ederler (Addy ve ark., 1995; Grossman ve ark., 1989).

2.4.6. Klorheksidin Glukonat (KHG)

Klorheksidin glukonat, 2,4-klorofenil halka ve 2-biguanid grubunun merkezi bir heksametilen zincir tarafından bağlanmasıyla oluşan katyonik bir moleküldür (Chatzigiannidou ve ark., 2020). Klorheksidin, gram pozitif ve gram negatif bakterilere, mayalara ve virüslere karşı etkili geniş spektrumlu bir antiseptik ajandır. Diş çürükleri için önerilen ilk antiseptik ajanlardan olan klorheksidin, kanıtlanmış bakteriyostatik ve bakterisidal etkilerinden dolayı “altın standart” anti-plak ajanı olarak kabul edilir (Cieplik ve ark., 2019). Katyonik bir molekül olan KHG ve bakterilerin negatif yüklü membran fosfolipidlerine spesifik olmayan bir şekilde bağlanıp iç sitoplazmik membrana zarar vererek etkinlik gösterir. Plak inhibisyonu ile ilgili olarak, klorheksidin, plak yapışmasını azaltmak için tükürükte bulunan asidik glikoprotein gruplarını bloke ederek bakterilerin diş yüzeyine bağlanmasını azaltabilir (Rema ve ark., 2016). Klorheksidinin etki mekanizması doza bağlıdır. Çok düşük konsantrasyonlarda (% 0.02-0.06) bakteriyostatik ve daha yüksek konsantrasyonlarda (% 0.12-0.20) bakterisidaldir (Jenkins ve ark., 1988). Ani bakterisidal etkisine ek olarak, klorheksidin ayrıca oral mukozaya bağlanarak yavaş ve uzun süreli bir antibakteriyel etki sağlar (Gjeramo ve ark., 1973; Loe & Rindom Schiott, 1970).

Klorheksidin diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diş macunlarında, ağız gargaralarında (% 0,02–0,3), jeller (% 0,12–1), spreyler (% 0,12–0,2) ve verniklerde (% 1, % 10, % 40) sıklıkla kullanılır (Puig Silla ve ark., 2008; Varoni ve ark., 2012). Klorheksidinin uzun süreli kullanımı, geçici tat değişikliği, dişlerde, dilde, protez ve kronlarda lekelenme, diş taşı oluşumunda artış gibi lokal yan etkilere sebep olabilir

(Eriksen ve ark., 1985; Marinone & Savoldi, 2000). Bununla birlikte klorheksidin, lökositlerde, böbrek hücrelerinde ve oral mukoza hücrelerinde DNA hasarını indükleyerek genotoksisiteye neden olabilir ve ayrıca hücrel apoptozu indükleyebilir (Berchier ve ark., 2010; Witt ve ark., 2005). Protein sentezinin inhibisyonu yoluyla insan fibroblastlarına karşı bazı sitotoksik etkileri de olabileceği bildirilmiştir (Liu ve ark., 2018).

2.5. Tez Çalışmasında Kullanılan Etkin Maddeler

Oral çalkalama solüsyonlarında kullanılan kemoterapötik ajanlar arasında klorheksidin bazlı formülasyonlar şu anda altın standarttır. Klorheksidin kanıtlanmış bu etkinliğine rağmen bahsedilen yan etkileri nedeniyle uzun süreli kullanımı sınırlıdır. Klorheksidin bu dezavantajları alternatif bir madde arayışına sebep olması nedeniyle antimikrobiyal etkinliğe sahip daha biyoyumlu maddeler gündeme gelmiştir. Çalışmamızda kullandığımız hindistan cevizi yağı, propolis, kekik ekstresi ve bor türevleri olan sodyum borat, borik asit ve bornitrür bu maddeler arasındadır.

2.5.1. Propolis

Propolis, bal arılarının farklı bitki tomurcuklarından topladığı reçineli bir maddedir. Yapılan çalışmalarda propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidatif, antitümör ve antiinflamatuvar özellikleri olduğu gösterilmiştir (Daugšch ve ark., 2008; Özcan ve ark., 2007). İmmünomodülasyon, hücrel ve humoral bağışıklığın uyarılması propolisin çalışılan diğer özellikleri arasındadır. Propolisin antimikrobiyal, antioksidan ve antitümör aktiviteleri gibi biyolojik aktivitelerinin çoğu içeriğindeki flavonoidlere atfedilmiştir (Burdock, 1998; Dodwad & Kukreja, 2011). Ayrıca propolis içinde bulunan yağ asitleri, terpenoidler ve mumsu asitler dahil aromatik asitler ve esterlerin türevleri de mikroorganizmalar üzerinde etkilidirler (Khalil, n.d.).

Diş hekimliğinde propolis birçok yönüyle araştırılmıştır (Abbasi ve ark., 1970). Bunlar arasında protez ülserleri ve stomatit, ağız kokusu, periodontal cep / apse tedavisinde gargara amacıyla kullanımı, servikal, dentin ve kök çürüğü duyarlılığındaki etkinliği, kuafaj materyali olarak kullanımı sayılabilir (Bretz ve ark., 1998; Kukreja & Dodwad, 2011; A. S. Mahmoud ve ark., 1999). Ek olarak liken planus tedavisi, kandidal enfeksiyonlar, angular şelitis, kserostomi, ortodontik travmatik ülserler, dry soket tedavisi, periokoronitis tedavisi de propolisin etkinliğinin araştırıldığı alanlardır (Dobrowolski ve ark., 1991; Filho & Carvalho, 1990). Propolis uzun zamandır oral ülserleri iyileştirmek için kullanılmaktadır (K ve ark., 2010; Steinberg ve ark., 1996). Propolisin diş eti sağlığı üzerindeki etkisinin klorheksidinle kıyaslamalı olarak değerlendirildiği bir çalışmada % 2 propolis gargarasının diş eti iltihabını azaltmadaki etkinliğinin klorheksidine kıyasla anlamlı olduğu sonucu bildirilmiştir (Anauate-Netto ve ark., 2014). Propolisin streptokok türleri üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (Nam, 2015; Park ve ark., 1998). Yapılan bir çalışmada propolisin *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* üzerinde yüksek antibakteriyel etki gösterdiği, sıçanlarda diş çürüğünü azaltmada klorheksidin kadar etkili olmasa da nispeten etkili olduğu bildirilmiştir (Soley ve ark., 2012).

2.5.2. Kekik

Lamiaceae familyasına ait bir bitki olan kekiğin şimdiye kadar Avrupa, Kuzey Afrika, Asya, Güney Amerika ve Avustralya'da 928 türü tanımlanmıştır. Temsil edici türleri *Thymus serpyllum* (yabani kekik) ve *Thymus vulgaris* olmakla birlikte kekik artan ticari ilgiye sahip aromatik ve tıbbi bir bitkidir (Nabavi ve ark., 2015; Naghdi Badi ve ark., 2004). Kekik yağı, doğal bir gıda koruyucusu olarak kullanıldığı, önemli ölçüde antioksidan, antibakteriyel ve antifungal etkilere sahip olduğu (Ben-Jabeur ve ark., 2015; Rasooli ve ark., 2006) ve çeşitli gıdalarda aromatik bir katkı maddesi olarak kullanıldığı

için dünya çapında en çok tercih edilen 10 yağdan biridir. Kekik esansiyal yağı, Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından “genel olarak güvenli ” olarak kabul edilmiştir (Manso ve ark., 2015) ve Avrupa Birliği tarafından bir gıda katkı maddesi olarak sınıflandırılır (Muriel-Galet ve ark., 2015). Kekik yağı kişisel bakım ürünlerinde, sabunlarda ve oral solüsyonlarda da kullanılır (Elshafie ve ark., 2017). Terpen ve terpenoidler, çoğu bitki ve çiçekteki esans yağlarının başlıca bileşkeleridir. Kekik esansiyal yağının bileşimi genellikle mono- ve seskiterpenleri içerir. Farklı kekik türlerinde tanımlanan başlıca terpenler karvakrol, timol, γ -terpinen ve p-simendir (Leyva-López ve ark., 2017). Timol, karvakrol ve aromatik olmayan terpenler kekik türlerine antimikrobiyal özellik kazandırmaktadır (Muriel-Galet ve ark., 2015). Kekik esansiyal yağının hızlı etki etme, kalıntı bırakmama, ilaç direnci oluşturmama, düşük fitotoksisite ve memelilere zarar vermeme (Elshafie ve ark., 2017; Llana-Ruiz-Cabello ve ark., 2017) gibi özellikleri göz önüne alındığında, oral çalkalama solüsyonlarında antibakteriyel ajan olarak kullanılabilecek potansiyele sahiptir. Dört farklı uçucu yağın değerlendirildiği bir çalışmada, kekik ve kekik yağları, *Escherichia coli*'ye karşı en yüksek antibakteriyel etkiyi göstermiştir (Burt & Reinders, 2003). 21 uçucu yağ ve beş patojen bakteri içeren bir çalışma, kekik yağında *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *L.monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* 'a karşı en güçlü bakteriyostatik ve bakterisidal etkiye sahip olan esansiyal yağlardan olduğunu bildirmiştir (Smith-Palmer ve ark., 1998).

2.5.3. Hindistan Cevizi Yağı

Hindistan cevizi yağı % 92 doymuş asit içerir ve ana bileşeni laurik asit olan sabit bir yağdır (Taşkor ve ark., 2022). Laurik asit, anne sütünde yüksek konsantrasyonda görülür, bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkilere ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir (Dayrit, 2015). Hindistan cevizi yağı, zengin yağ asitleri,

vitaminler ve antioksidanlar içerir (Schuster ve ark., 1980). Yapılan araştırmalar, hindistan cevizi yağının *Escherichia savunis*, *Enterococcer spp*, *Helicobater pylori*, *Staphylococcus aureus*, *S. mutans* ve *Candia albicans* gibi çeşitli gram pozitif ve gram negatif organizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Shino ve ark., 2016; Verallo-Rowell ve ark., 2008). Çocuklar üzerinde yapılan bir çalışma da, hindistancevizi yağı ile gargara yapmanın tükürük ve plaktaki *S. mutans* sayısını azaltmada klorheksidin gargara kullanmak kadar etkili olduğu gösterilmiştir (Peedikayil ve ark., 2016). Yine başka bir çalışmada hindistancevizi yağı kullanmanın tükürükteki *S.mutans* sayısında klorheksidin gargaraya göre daha fazla bir azalma sağladığını göstermiştir. Araştırmalar, hindistancevizi yağının sabunlaştırma değerinin yüksek olduğunu tükürükteki alkalilerle reaksiyona girerek sabunlaşmaya ve sabun benzeri bir maddenin oluşmasına neden olarak plak yapışmasında azalmaya yol açtığını savunmuşlardır (Shino ve ark., 2016). Ayrıca hindistan cevizi yağının tolere edilebilir bir tadının oluşu oral olarak kullanılacak bir ajan için önemli bir özelliktir (Mamta Kaushik ve ark., 2016).

2.5.4. Bor Türevleri

Bor, atom numarası 5, atom ağırlığı 10.81 olan siyah renkli metalle ametal arası yarı iletken özelliğe sahip bir elementtir. Bor, 1900'lerden beri bitkiler için temel bir element olarak kabul edilmektedir (Demirci ve ark., 2015). Biyoaktif bir iz elementi olan ve meyve, sebze, kuruyemiş gibi besinlerde sıklıkla bol miktarda bulunan borun, antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ayrıca enflamatuar ve immün yanıtta düzenleyici bir etkisi olduğu da gösterilmiştir (Woods, 1994). Geniş bir bakteri, maya ve mantar yelpazesine karşı dikkate değer antimikrobiyal özellikler gösterdiği bulunmuştur (De Seta ve ark., 2008; Qin ve ark., 2010). Bor doğada serbest halde bulunmaz, oksijenle bileşik oluşturduğu borat formunda bulunur. Dünyada ticari olarak üretilen ve birçok değişik

Sodyum borat (boraks), borik asit tuzudur ve önemli bir bor bileşiğidir. Boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), tetraborik asidin ($\text{H}_2\text{B}_4\text{O}_7$) bir sodyum tuzu olup sulu çözeltisi bazik özellik gösterir. Toz boraks, beyaz renkli suda çözünen yumuşak renksiz kristallerden oluşur (Demirtaş, 2006).

$$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 2\text{H}^+ + 5\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}_3\text{BO}_3 + 2\text{Na}^+$$

Boraks Borik asit

Borik asit, literatürde bildirilen en iyi karakterize edilmiş bor içeren bileşiklerden biridir. Yapılan çalışmalarda borik asit gargarasının kronik periodontitisli hastalarda alveolar kemik kaybını azalttığı bildirilmiş ve periodontal hastalıkların klinik parametrelerini periodontal klinik parametreleri iyileştirmede klorheksidin ile karşılaştırıldığında daha üstün bulunmuştur (Demirer ve ark., 2012; Sağlam ve ark., 2013; Shalehin ve ark., 2020). Farelerde, histolojik ve mikro-bilgisayarlı tomografi ile ölçüm yapılan bir bir çalışmada enflamatuvar infiltrasyon oluşumunu ve kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, periodontal hastalıkla ilişkili bakteriler olan *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Eubacterium nodatum* ve *Treponema denticola* karşı in vitro aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir (Luan ve ark., 2008).

20

kübik bor nitrürlerdir. Bor nitrür nanopartiküllerinin *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus pastöri* ve *Candida sp.*'ye karşı antimikrobiyal etkinliklerini, antibiyofilm aktivitelerini araştırmak ve sitotoksitelerini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada uygun konsantrasyonda bor nitrür nanopartiküllerinin potansiyel güvenli bir ağız bakım ürünü olarak düşünülebileceği sonucuna varılmıştır (Merih ve ark., 2018).

2.6. Kompozit Rezinler

Diş hekimliğinde kompozit rezinler restoratif materyaller, kavite astarları, pit ve fissür örtücüler, kor yapıları, inleyler, onleyler, kuronlar, geçici restorasyonlar, yapıştırıcı simanlar olmak üzere çok çeşitli uygulamalar için kullanılırlar (Ferracane, 2011). Kompozit rezinlerin yapısı 3 kısımdan oluşur. Bunlar organik faz, inorganik (dağılan) faz ve ara (bağlayıcı) fazdır (Ruse, 1999).

Organik Faz

Organik faz içeriğinde monomerleri, polimerizasyon başlatıcı/hızlandırıcıları (initiatör/akselatör), polimerizasyon inhibitörlerini ve ultraviyole stabilizatörleri, barındırmaktadır. Organik matrikste sıklıkla bulunan monomerler bisfenol A-glisidil metakrilat (Bis-GMA), trietil glikol metakrilat (TEGDMA), ürethan dimetakrilat (UDMA)tır. Polimerizasyon başlatıcı olarak ışıkla sertleşen kompozit rezinlerde 420-470 nm dalga boyundaki görünür ışıkla aktive olan komforokinon, kimyasal olarak sertleşen kompozit rezinlerde ise dibenzilperoksit bulunur. İnhibitörler ise kompozit rezinlerin yapısında spontan polimerizasyonu inhibe etmek amacıyla kullanılır. Sıklıkla kullanılan inhibitör ajan hidrokinondur. Ultraviyole ışık, monomerlerle etkileşip kahverengi lekenlemelere sebep olarak renk stabilitesini bozabilir. Bunu önlemek amacıyla ultraviyole stabilizatörler organik yapıya katılır (Hickel ve ark., 1998; Priyadarsini ve ark., 2018).

İnorganik (Dağılan) Faz

İnorganik faz, organik matriks içinde dağılan inorganik doldurucu partiküllerinden oluşur. Sıklıkla kullanılan inorganik dolurucu partiküller kuartz, zirkonyum, borosilikat cam, koloidal silika, stronsiyum, lityum alüminyum silikat ve çinkodur. Bu doldurucu partiküllerin kimyası, boyutu, şekli ve miktarı kompozit rezinlerin mekanik ve fiziksel özellikleri üzerinde etkilidir (Labella ve ark., 1999). Organik matriks içindeki inorganik doldurucu partikül miktarı arttıkça kompozit rezinin organik matriks oranı düşer. Buna bağlı olarak polimerizasyon büzülmesi, termal genleşme katsayısı, su absorpsiyonu azalır; dayanıklılık artar. Bu sebeple kompozit rezinlerde inorganik doldurucu partikül oranının yüksek olması istenir (Hervás-García ve ark., 2006).

Ara (Bağlayıcı) Faz

Organik matriks ile inorganik doldurucuları birbirine bağlanması görevini üstlenen fazdır. Kompozit rezinlerde sıklıkla kullanılan bağlayıcı ajan organik silisyum bileşiği olan “silan”dır. Silan bağlayıcı ajanının bir ucunda inorganik doldurucu molekül ile hidrolize olup reaksiyona giren fonksiyonel grup bulunur. Diğer ucunda ise monomerlerle polimerleşecek olan metakrilat çift bağı bulunur. Bağlantının sağlanması işlemi silanizasyon olarak adlandırılır ve kompozit rezinin kimyasal ve fiziksel özellikleri üzerinde etkilidir (K. S. Wilson ve ark., 2005).

Kompozit rezinlerin en önemli özelliklerinden biri yüzey pürüzlülüğüdür. Bir kompozit rezin restorasyonun yüzey pürüzlülüğü, estetik görünümünde ve biyolojik başarısında önemli bir role sahiptir (Kwon ve ark., 2015). Yüzeyi pürüzlü restorasyonlar lekelenme, plak birikimi, gingival iritasyon, restorasyonun marjinal adaptasyonunun bozulması ve sekonder çürük oluşumunun başlıca nedenleri arasındadır. Restorasyonun düzgün ve pürüzsüz bir yüzeye sahip olması, plak retansiyonunu engelleyerek sekonder çürük oluşma olasılığını azaltmaktadır (Yıldız ve ark., 2015). Ayrıca restorasyon

yüzeyinin pürüzlülüğündeki 0.25-0.5 µm'lik bir artış hastanın dil ucu tarafından algılanabilir ve hastayı irite edebilir, pürüzsüz bir kompozit restorasyon yüzeyi hasta için daha fazla konfor sağlar (C. S. Jones ve ark., 2004).

Kompozit rezinler ağız hijyeni yöntemlerinin mekanik ve kimyasal mekanizmalarının etkisi altında yüzey pürüzlülük değişiklikleri de dahil olmak üzere bir takım fiziksel değişikliklere uğrayabilirler (S. H. Mahmoud ve ark., 2008; Palaniappan ve ark., 2009). Kompozit rezinin yapısı, inorganik doldurucu partiküllerinin boyutu, şekli ve sertliği, inorganik doldurucular ile organik matris arasındaki bağın kalitesi ve polimerizasyon dinamiklerinin tümü; kompozit rezinin fiziksel ve mekanik özelliklerini (eğilme mukavemeti, kırılma tokluğu, vickers sertliği, elastisite modülü, polimerizasyon derinliği) etkiler, bu özelliklerde kompozit yüzeyindeki aşınma derecesinde etkilidir (Van Noort & Barbour, 2014).

2.7. Yüzey Analiz Yöntemleri

Yüzey analizinde materyalin değerlendirilecek olan özelliğine göre farklı yöntemlerden yararlanılır. Çalışmamızda “Yüzey sertliği analizi”, “Yüzey pürüzlülüğü analizi” ve “Taramalı elektron mikroskobu (SEM)” yöntemleri kullanılacaktır.

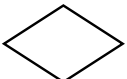
2.7.1. Yüzey Sertliği Analizi Yöntemleri

Bir katı maddenin lokal deformasyona karşı gösterdiği direnç, genel sertlik kavramını ifade eder ve deformasyon direncinin nicel bir ölçüsü olarak tanımlanır. Temel olarak, belirli bir zaman aralığı için belirli bir yük altında test edilecek malzemenin yüzeyine belirli bir şekle sahip bir uç bastırılır ve kuvvet kaldırıldıktan sonra oluşan girintinin boyutu veya derinliği ölçülür (Ilie ve ark., 2017). Sertlik testinin yapılabilme kolaylığı, onu rezin kompozitleri için en yaygın karakterizasyon yöntemlerinden biri haline getirmiştir (Tabor, 1970). Sertlik ölçümünde farklı cihazlarla yapılan ölçümlerin kabul edilebilir bir tekrarlanabilirliğini elde etmek için hem cihazın hem de uç şeklinin

dikkatli bir şekilde kalibre edilmesi gerekir. Ayrıca, ölçülecek numunenin yüzeyi, düzdün bir girinti şekline ve ölçüm için iyi bir görselleştirmeye izin verecek şekilde pürüzsüz olmalı; girintiye tamamen dik olarak yerleştirilmelidir (Ilie ve ark., 2017).

Sertliği test etmek için kullanılan geleneksel yöntemler şunlardır: – Brinell, Knoop, Rockwell veya Vickers (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Sertlik ölçme yöntemleri (Chandler, 1999)

Test	Uç türü	İz şekilleri	Ölçüm	Sonuç birimi
Brinell	Küresel çelik uç		İz alanı	BHN
Knoop	Elmas uç		İz alanı	KHN
Rockwell	Küresel çelik uç		İz derinliği	Rockwell
Vickers	Elmas uç		İz alanı	VHN

Vicker's Mikrosertlik Ölçüm Yöntemi

Vickers sertlik testi yöntemi test malzemesinin, kare tabanlı ve karşılıklı yüzleri arasında 136°'lik bir açı olan piramit şeklindeki elmas bir uç ile 1 gf ile 100 kgf arasında bir test kuvvetine tabi tutulmasından oluşur. Tam yük 10-15 s içinde uygulanır. Yükün kaldırılmasından sonra malzemenin yüzeyinde oluşan izin iki köşegeni bir mikroskop kullanılarak ölçülür ve ortalaması hesaplanır. Vickers sertliği, materyale uygulanan yük değerinin, materyalin yüzeyinde oluşan izin kare alanına bölünmesiyle elde edilir ve “Vicker's yüzey sertlik değeri (VHN)” olarak ifade edilir (ISO, 2002). Vickers sertlik değeri, test kuvveti ve bekleme süresi ile birlikte rapor edilmelidir. Test materyalinin yüzeyinde oluşan izin boyutu küçüldükçe Vicker's yüzey sertlik değeri artmaktadır bu malzemenin nispeten sert olduğunu gösterir. Test edilecek örnekler alt ve üst yüzeyleri birbirine paralel, elmas ucun temas edeceği yüzey pürüzsüz, düz ve parlak olacak şekilde

hazırlanmalıdır. Test materyalleri tablaya, elmas uca dik olacak şekilde yerleştirilmelidir (Ilie ve ark., 2017).

2.7.2. Yüzey Pürüzlülüğü Analizi Yöntemleri

Yüzey pürüzlülüğü analizlerinde kullanılan farklı yöntem ve cihazlar mevcuttur. Yüzey profili analizi (profilometre), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) yüzey pürüzlülüğü ölçümü yöntemlerindendir. Çalışmamızda kullanılan yöntemler “Yüzey profili analizi (Profilometre)” ve SEM yöntemleridir.

Profilometre Analizi

Profilometreler yüzey pürüzlülüğü ölçümünde kullanılan kantitatif (sayısal) veri veren cihazlardır. Yüzey pürüzlülüğünü değerlendirirken farklı parametreler kullanılır. Bunlar: R_a , ölçüm yapılan yüzeydeki pürüzlülük değerinin aritmetik ortalamasıdır. Bir yüzeyin genel pürüzlülüğünü tanımlar. Yüzey pürüzlülük değeri genelde R_a değeri kullanılarak ifade edilir.

R_z , ölçüm yapılan yüzeyde ard arda gelen 5 pik ve vadi noktası arasındaki mesafenin ortalaması olarak tanımlanır.

R_t , maksimum profil yüksekliğini ifade eder, değerlendirilen yüzeydeki pik ve en derin vadi noktaları arasındaki dikey mesafedir.

R_{max} , maksimum pürüzlülük değeridir, ard arda hesaplanan R_t değerlerinin en büyüğüdür (Bonilla ve ark., 2020; Whitehead ve ark., 1995).

Profilometreler mekanik (konvansiyonel) ve optik profilometre olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Mekanik (konvansiyonel) profilometreler, mikro düzeyde iki boyutlu ölçüm yapan cihazlardır. Cihaz elmas bir uca sahiptir. Elmas uç ölçüm yapılan yüzey üzerinde doğrusal olarak hareket eder ve pürüzlülükler sebebi ile oluşan elektriksel akım

farklılıkları kaydedilerek ortalama bir Ra (Roughness average) değeri bulunur (The Surface Science Society of Japa, 2018).

Optik profilometreler, üç boyutlu ölçüm yapılan cihazlardır. Ölçüm yüzeyi ile temas olmadan optik bir mikroskop kullanılarak yüzey taraması yapılır. Üç boyutlu analiz yapıldığı için yüzey topografyası olduğu gibi yansıtılabilmektedir (Kakaboura ve ark., 2007).

2.7.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM-Scanning Electron Microscopy)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM-Scanning Electron Microscopy), yüzey analizlerinde sıklıkla kullanılan kalitatif metodlardandır. Katı nesneler için yüksek (nanometre altı) çözünürlüklerde çok yönlü incelemeye ve analize imkan tanıyan araçlarından biridir. SEM, incelenen yüzey üzerine odaklanmış bir elektron ışını fırlatarak ve ardından numuneden dönen ikincil elektronların emisyonunu inceleyerek çalışır. İkincil elektronlar, yüzey hakkında topografik ve bileşimsel bilgiler içerir. Numune nokta nokta taranarak veriler kaydedilir ve daha sonra tarama sonuçları birleştirilerek tam bir görüntü oluşturulur (Tsiper ve ark., 2017). SEM incelemesi yapılacak materyalin iletken yapıda olması gerekir. İletken olmayan materyaller kurutulur, vakumlu bir ortamda argon gazı varlığında bir metalle kaplanır. Kaplama işlemi için sıklıkla kullanılan metal altındır, altın dışında tungsten, platin, krom gibi metaller de kullanılabilir (W.H Arnold ve ark., 2003). SEM cihazlarının ayırım gücü 0,05 nanometreye kadar inmiştir, büyütme oranları ise X5-X300000 arasındadır. Büyütme, elde edilen görüntü ve taranan alanın büyüklüklerinin oranıdır (Demirez ve ark., 2021).

2.8. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyini Belirleme Yöntemleri

Antimikrobiyal bir ajanın bir mikroorganizma tür üzerindeki etkinliğini in vitro olarak değerlendirmek amacıyla kullanılan testlerdir. "Difüzyon" ve "Dilüsyon" olmak üzere başlıca iki metod kullanılır (Balouiri ve ark., 2016).

1-Difüzyon testleri: a) Disk difüzyon testi

b) Well (Kuyucuk) difüzyon testi

2-Dilüsyon testleri: a) Agar dilüsyon testleri (Katı besiyeri)

b) Broth dilüsyon testleri (Sıvı besiyeri)

2.8.1. Difüzyon Testleri

Disk difüzyon testi ve Agar kuyucuk yöntemi bu grupta yer alır.

- **Disk Difüzyon Testi**

Antimikrobiyal etkinlik testleri arasında en eski ve en sık kullanılan yöntemdir.

Bu test, antimikrobiyal etkinliği değerlendirilecek ajanın disklerle emdirilip, duyarlılığı test edilen organizmanın bulunduğu besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Yöntemin uygulanmasında; test edilen mikroorganizmalar steril bir eküvyon yardımı ile agar besiyerleri üzerine inoküle edilir. Ardından test edilen ajanın emdirildiği diskler mikroorganizmaların bulunduğu agar besiyerinin üzerine alınır. Disklere emdirilen ajan zamanla çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya başlar. İnkübasyon süresinden sonra test edilen ajanın etkili olduğu konsantrasyonların sağlandığı bölgelerde mikroorganizma üremesi görülmez. Üremenin görülmediği bu alan “inhibisyon zonu” olarak adlandırılır. İnhibisyon zonunun büyüklüğü mm olarak ifade edilir. Mikroorganizma test edilen ajana ne kadar çok duyarlı ise, diskin etrafında o kadar büyük inhibisyon zonu oluşur. Özel bir ekipman gerektirmemesi, pahalı olmaması ve uygulanabilirliğinin basit olması bu yöntemin avantajlarından. Zor üreyen mikroorganizmalar için doğru sonuç alınamaması ve değerlendirmenin çıplak gözle yapılıyor olması ise bu yöntemin dezavantajlarından (Patel ve ark., 2011).

- **Well (Kuyucuk) Difüzyon Testi**

Temel prensipleri disk difüzyon yöntemiyle aynıdır. Disk difüzyon yönteminden farklı olarak test edilen ajanın emdirildiği diskler kullanılmaz. Bunun yerine besi yerinde steril bir uç yardımıyla çapı 6-8 mm olan kuyucuklar açılır ve test edilen ajan bir mikropipet yardımıyla belli bir hacimde (20-100 µl) bu kuyucuğa aktarılır. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonunun çapı ölçülür (R. N. Jones ve ark., 2013).

2.8.2. Dilüsyon Testleri

Antimikrobiyal ajanın minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerini belirlemek amacıyla kullanılan testlerdir. MİK, bir antimikrobiyal ajanın mikroorganizma üremesini inhibe ettiği en düşük konsantrasyondur. Test edilecek ajanın konsantrasyon serisi hazırlanır ve sıvı (broth) ya da katı (agar) besiyerine eklenir, belirli bir inkübasyon süresinden sonra mikroorganizmaların üremediği konsantrasyon (MİK) değeri saptanır (Deirdre, 1997).

- **Broth (Sıvı) Dilüsyon Yöntemi**

Makrodilüsyon (Tüp dilüsyon) ve mikrodilüsyon yöntemi olarak ayrılır. İki yöntemde de temel prensip aynıdır; aralarındaki fark makrodilüsyonda test tüplerinin, mikrodilüsyonda ise mikroplatelerin kullanılmasıdır. Test edilen ajanın önce iki kat azalacak şekilde seri seyreltmeleri hazırlanır. Mikroorganizmanın standart bir inokulumu (1×10^6 CFU / ml), test edilen ajanın farklı konsantrasyonlarını içeren ve ajan içermeyen kontrol tüplerine veya mikroplatelere eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, sadece besiyeri konmuş bir tüp veya mikroplatete besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. İnkübasyon süresinden sonra bakteri üremesi tüplerdeki veya mikroplatelerdeki bulanıklık seviyesi ölçülerek tayin edilir. Gözle görülür bir bulanıklığın olmadığı yani bakterilerin üremediği en düşük konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak

kaydedilir (Golus ve ark., 2016). Bakteri canlılığının tayini için renkli bir ajan olan Resazurin (alamar blue) boyası da kullanılabilir. Resazurin boyası, hücre döngülerinin ve canlılığının izlendiği antimikrobiyal duyarlılık, sitotoksisite ve toksikoloji değerlendirmelerinde test bileşiği olarak kullanılmaktadır (Yajko ve ark., 1995). Suda çözünen, toksik olmayan ve hücre zarından geçebilen bir maddedir. Uygulandığı organizmanın oksidasyon-redüksiyon tepkimelerine katılarak indirgenir (Rampersad, 2012). Resazurin boyası indirgendiğinde floresan olmayan mavi rengi , floresan özellikteki pembe renge dönüşür. Maviden pembeye doğru oluşan bu renk değişimi görsel olarak ya da kolorimetrik/florometrik metodlar kullanılarak ölçülür, renk değişiminin görülmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilir (Rampersad, 2012; Süntar ve ark., 2016).

- **Agar (Kati) Dilüsyon Yöntemi**

Bu yöntemin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Ancak agar dilüsyon yönteminde seyreltilmiş ajan agar içene konulur ve petri plaklarına dökülür. Her petri plağında test edilen ajanın farklı konsantrasyonları bulunur. Bu yöntem oldukça güvenilir olmasına rağmen fazla iş gücü gerektirmesi ve pahalı olması dezavantajlarındandır (Caprioli, 2000).

Günümüzde bir maddenin antibiyofilm etkisini belirlemek amacıyla birçok invitro yöntem kullanılmaktadır. Işık mikroskobu, elektron mikroskobu ya da floresan mikroskop kullanılarak yapılan direkt sayım yöntemi, canlı hücre sayım yöntemleri ve metabolik aktif boya maddelerinin kullanılması bu yöntemler arasındadır. Metabolik aktif boya maddeleri kullanılarak yapılan biyofilm varlığının tesbiti ile ilgili çalışmalar çoğunlukla kongo kırmızılı agar yöntemi, standart tüp yöntemi ve mikropate yöntemiyle yapılmaktadır. Standart tüp yöntemi ve mikropate yöntemi, farklı iki boyar madde olan kristal viyole boyası ve safranin boyası kullanılarak yapılmaktadır (Ozturk ve ark., 2014).

Kristal viyole boyası suda çözünerek mavi-mor bir çözelti oluşturur. Kristal viyole boyası canlı bakterilerin protein ve DNA'larına bağlanabilirken, ölen bakterilerin adheren özelliklerini yitirmesinden dolayı protein ve DNA'sına bağlanamaz. Bu da renk şiddetinde azalma ile sonuçlanır ve oluşan renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülerek yorumlanır (Ozturk ve ark., 2014).

2.9. Sitotoksisite Belirleme Yöntemleri

Sitotoksisite, belirli kimyasalların veya aracı hücrelerin canlı hücreleri yok etme yeteneğini ifade eder (Tokur & Aksoy, 2017). Bir maddenin canlı hücreler üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla in vitro koşullarda gerçekleştirilen çeşitli yöntemler mevcuttur. Bu yöntemler; morfolojik olarak hücresel hasarın gözlenmesi, hücresel hasarın çeşitli ölçüm yöntemleri ile belirlenmesi, hücresel büyümenin belirlenmesi, hücresel metabolizmadaki herhangi bir değişikliğin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır (Pearson, 1986). Bunlar boyama, kolorimetrik, luminesans ve enzimatik ölçüm metodlarının kullanıldığı yöntemlerdir (Tokur & Aksoy, 2017).

1-Boyama metodu: Çeşitli boyalar kullanılarak canlı hücre oranının hesaplandığı bir metoddur. Boyanın ölü hücrelerin hücre zarından difüze olarak hücreyi boyaması, canlı hücrelerin ise boyadan etkilenmemesi esasına dayanır. Triphan mavisi ve Eritrosin B kullanılan boyalar arasındadır (Erkekoğlu & Baydar, 2021).

2-Luminometrik metodlar: Floresans özellikteki maddeler veya özel enzimler ve bunların substratları kullanılarak canlı ve ölü hücrelerin tespitinin yapıldığı yöntemlerdir (Erkekoğlu & Baydar, 2021; Tokur & Aksoy, 2017).

3-Kolorimetrik metodlar: Bu metodta çeşitli tetrazolyum tuzları kullanılır. Bu tuzlar sitotoksisitesi test edilen maddeye maruz bırakılmış hücre kültürlerine eklenir ve meydana gelen renk değişimleri spektrofotometre ile ölçülür. Kolorimetrik metodlar arasında en sık kullanılanı MTT testidir, Laktat dehidrogenaz (LDH) testi de

spektrofotometrik olarak gerçekleştirilen testler arasında yer alır (Erkekoğlu & Baydar, 2021; Tokur & Aksoy, 2017).

2.9.1. MTT Testi

MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür) bir tetrazolyum tuzudur. MTT testi, canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesini ölçen bir sitotoksosite testidir. Sarı renkli MTT tuzu, canlı hücreler tarafından mitokondriyal dehidrojenaz enzimi ile suda çözünmeyen mor renkli formazon bileşiğine dönüştürülür. Oluşan bu renk değişimi, spektrofotometre yardımı ile ölçülerek canlı hücrelerin oranı belirlenir (Rampersad, 2012). Güvenilir, hızlı bir yöntem olması ve pahalı olmaması bu yöntemin avantajlarındandır. MTT testi, hücre canlılığı testleri arasında altın standart olarak kabul edilir (Erkekoğlu & Baydar, 2021; TOKUR & AKSOY, 2017).

2.9.2. LDH Testi

Laktat dehidrojenaz (LDH), oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında görev alan ve tüm hücrelerde bulunan bir enzimdir. Hücreler toksik bir maddeye maruz kaldığında hücre membran bütünlüğü bozulur ve LDH enzimi sitoplazmadan sızar. Metod, hücre membranın bütünlüğünün bozulması sonucu sitoplazmadan sızan LDH enzimlerinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Hücre kültürü süpernatantında LDH aktivitesinin varlığı, hasar gören veya ölen hücrelerin olduğunu gösterir (Erkekoğlu & Baydar, 2021; Tokur & Aksoy, 2017).

3. MATERYAL-METOD

Çalışmamız; Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklendi (TKP-2021-9225). Etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulundan 16.03.2021 tarihli, 22 nolu karar ile alındı.

Çalışmamızın deneyleri Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Araştırma laboratuvarında, Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (YUTAM), Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında ve Doğu Anadolu İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)' nde gerçekleştirildi.

3.1. Çalışma Dizaynı

Çalışmamızda 3 farklı doğal madde ve 3 farklı bor türevi ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının; *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus fermentum* bakteri suşları üzerindeki antibakteriyel etkinlikleri ve insan gingival hücre hattı (HGF-1) üzerindeki sitotoksik etkileri, etkin maddelerin formüle edilmemiş saf halleri ile kıyaslamalı olarak incelendi. Çalışmamızda kullanılan doğal maddeler; propolis, kekik ekstresi ve hindistan cevizi yağı, bor materyalleri ise; bor nitrür, borik asit ve sodyum borattır.

Çalışmamızda ayrıca antibakteriyel etkinlik gösteren oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin; mine ve kompozit rezin örneklerinin yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğü üzerine olan etkileri değerlendirildi. Her gruptan bir mine ve kompozit rezin örneğinin ise SEM görüntüleri analiz edildi. Çalışmamız şu aşamalarda yürütüldü:

- Oral çalkalama solüsyonlarının formüle edilmesi

- Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının antibakteriyel etkinliğinin well difüzyon yöntemi ile değeriendirilmesi
- Well difüzyon yönteminde antibakteriyel etkinlik gözlenen oral çalkalama solüsyonlarının mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi
- Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının antibiyofilm aktivitesinin kristal viyole yöntemi ile değeriendirilmesi
- Oral alkalama solüsyonlarının HGF-1 hücre hattındaki sitotoksik etkilerinin MTT ve LDH testi ile belirlenmesi
- Mine ve kompozit rezin örneklerin hazırlanması
- Hazırlanan mine ve kompozit rezin örneklerin başlangıç yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğü analizlerinin yapılması
- Mine ve kompozit rezin örneklerin antibakteriyel etkinlik gösteren oral çalkalama solüsyonlarına ve saf etkin maddelere maruz bırakılması
- Mine ve kompozit rezin örneklerin sonuç yüzey sertliği ve pürüzlülüğü analizlerinin yapılması
- SEM görüntülerinin alınması
- Elde edilen bulguların istatistiksel analizi

3.2. Oral alkalama Solüsyonlarının Formüle Edilmesi

Oral alkalama solüsyonlarının formüle edilmesi Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Uygun nitelikte oral çalkalama solüsyonu formülasyonunu tasarlayabilmek için önformülasyon çalışmaları yürütüldü. Bu amaçla; bor türevleri (bor nitrür, borik asit ve sodyum borat), propolis, hindistan cevizi yağı ve kekik (*Thymus vulgaris L.*) bitkisinin ekstresi (% 1, 3, 5, 10 a/h gibi) tartıldı ve üzerine yeterli miktar distile su, etanol (% 96) ve aseton gibi çözücüler (1ml, 5 ml, 10 ml,

20 ml gibi) ilave edildi ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA RH basic 2, Almanya) üzerinde tüm aktif maddelerin çözündürülmesi sağlandı (500, 750, 1000 rpm gibi; 5, 10, 15, 30, 60 dk gibi). Devamında formülasyon bileşenleri ile eklenecek yardımcı maddelerin uyumluluğunu sağlamak açısından stabilizanlar (Tweenler, Spanlar ve SLS gibi) çeşitli konsantrasyonlarda (% 0.1, 0.3, 0.5, 1 a/h gibi) kullanıldı. Viskoziteyi arttırmak için propilen glikol, gliserin, sorbitol gibi viskozite artırıcı maddeler gerekli miktarlarda (% 1, % 5, % 10, % 20 gibi) eklenerek karıştırma işlemine devam edildi. Elde edilecek oral çalkalama solüsyonlarının pH'sını ağız içi pH'ya uygun hale getirmek için gerekli tamponlayıcı ajanlar (sitrik asit, sodyum hidroksit gibi) ilave edilerek pH'nın 6.0-7.0 arasında olması sağlandı. Sonuç olarak formülasyonlar gerekli konsantrasyonlar göz önüne alınarak istenilen miktara distile su ilavesi ile getirildi.

Tablo 3.1. Oral çalkalama solüsyonlarının formülasyonunda kullanılan materyaller

MATERYAL ADI	ŞİRKET
Propolis	Hekimhan (Türkiye)
Kekik Ekstresi	NPROC Doğal Ürünler San. Tic. A.Ş. (Türkiye)
Hindistan Cevizi Yağı	Acros (Belçika)
Bor Nitrür	Sigma Aldrich (Amerika)
Borik Asit	CHEMSOLUTE (Almanya)
Sodyum Borat	CHEMSOLUTE (Almanya)
Aseton	ISOLAB (Almanya)
Etanol	ISOLAB (Almanya)
Sitrik asit	Honeywell-Fluka (Amerika)
Sodyum hidroksit	Merck (Almanya)
Tween 40	Merck (Almanya)
Sodyum lauril sülfat (SLS)	Sigma-Aldrich (Amerika)
Tween 20	Sigma-Aldrich (Amerika)
Tween 80	Sigma-Aldrich (Amerika)
Span 20	Sigma-Aldrich (Amerika)
Span 80	Sigma-Aldrich (Amerika)

- **Propolis İçeren Oral alkalama Solüsyonunun Hazırlanması**

% 10 (a/h) propolis içerecek Şekilde nanoemülsiyon hazırlandı. Bir behere su bazlı propolis tartıldı ve zerine % 3 Tween 20 ilave edildi. Bir diğeri behere ise % 10 susam yağı ve % 3 Span 80 ilave edildi. Homojen bir karışım olması için her iki beherde 1200 rpm’de 5 dakika süreyle vorteks (IKA MS2 Minishaker, Almanya) uygulandı. Devamında sulu faz içeren beher yağ fazı içeren behere ilave edildi ve 5 dakika süreyle % 60 g uygulanarak sonike edildi. Süre sonunda propolis içeren nanoemülsiyon formülasyonları elde edildi.



Şekil 3.1. Ultrasonikasyon cihazı ve vorteks

- **Hindistan Cevizi Yağı İçeren Oral alkalama Solüsyonunun Hazırlanması**

% 10 (a/h) hindistan cevizi yağı içerecek Şekilde nanoemülsiyon hazırlandı. Bir behere gerekli miktar hindistan cevizi yağı tartıldı ve zerine % 3 Span 20 ilave edildi. Bir başka beherde ise % 3 Tween 80 ile gerekli miktar distile su tartıldı. Her iki behere de homojen bir karışım olması için 1200 rpm’de 5 dakika süreyle vorteks uygulandı. Devamında sulu faz içeren beher yağ fazı içeren behere ilave edildi ve 5 dakika süreyle % 60 g uygulanarak sonike edildi. Süre sonunda hindistan cevizi yağı içeren nanoemülsiyon formülasyonları elde edildi.

- **Kekik Ekstresi İçeren Oral Çalkalama Solüsyonunun Hazırlanması**

% 5 (a/h) kekik ekstresi içerecek şekilde nanoemülsiyonlar hazırlandı. Bir behere gerekli miktar kekik ekstresi tartıldı ve üzerine % 1.5 Tween 40 ile gerekli miktar distile su ilave edildi. Bir başka beherde ise % 1.5 Span 80 ve % 10 susam yağı tartıldı. Her iki behere de homojen bir karışım olması için 1200 rpm’de 5 dakika süreyle vorteks uygulandı. Devamında sulu faz içeren beher yağ fazı içeren behere ilave edilmiş ve 5 dakika süreyle % 60 güç uygulanarak sonike edildi. Süre sonunda kekik ekstresi içeren nanoemülsiyon formülasyonları elde edildi.

- **Bor Nitrür İçeren Oral Çalkalama Solüsyonunun Hazırlanması**

% 1 (a/h) bor nitrür içerecek şekilde nanosüspansiyon hazırlandı. Bir behere gerekli miktar bor nitrür tartılarak üzerine % 0.5 Tween 20 ve % 0.25 SLS ilave edildi. Bor nitrürün çözünürlüğünü artırmak için üzerine 1 ml aseton ve 1 ml etanol ilave edildi. Homojen bir karışım olması için 1200 rpm’de 5 dakika süreyle vorteks uygulandı. Devamında formülasyon gerekli miktar distile su içeren behere aktarıldı. Bu süreç sonunda ultrasonikasyon işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla 5 dk süreyle % 60 güç uygulanarak sonike edildi. Sonikasyon işlemi sonrasında elde edilen karışım bir rotovapora (Heidolph Laborota 4001 efficient, Almanya) alındı ve 40 °C 60 rpm 5 dakika süre sonunda organik çözücülerden (aseton ve etanol) arındırıldı. Süre sonunda bor nitrür içeren nanosüspansiyon formülasyonları elde edildi.



Şekil 3.2. Rotovapor

- **Sodyum Borat İçeren Oral Çalkalama Solüsyonunun Hazırlanması**

% 1 (a/h) sodyum borat içerecek şekilde çözelti hazırlandı. Bir behere gerekli miktar sodyum borat tartılarak üzerine % 0.5 Tween 20 ve % 0.25 SLS ilave edildi. Sodyum boratın çözünürlüğünü artırmak için üzerine 1 ml aseton ve 1 ml etanol ilave edildi. Homojen bir karışım olması için 1200 rpm’de 5 dakika süreyle vorteks uygulandı. Devamında formülasyon gerekli miktar distile su içeren behere aktarıldı. Bu süreç sonunda ultrasonikasyon işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla 5 dk süreyle % 60 güç uygulanarak sonike edildi. Sonikasyon işlemi sonrasında elde edilen karışım bir rotovapora alındı ve 40 °C 60 rpm 5 dakika süre sonunda organik çözücülerden (aseton ve etanol) arındırıldı. Süre sonunda sodyum borat içeren çözelti formülasyonu elde edildi.

- **Borik Asit içeren Oral Çalkalama Solüsyonunun Hazırlanması**

% 1 (a/h) borik asit içerecek şekilde çözelti hazırlandı. Bir behere gerekli miktar sodyum borat tartılmış ve üzerine % 0.5 Tween 20 ve % 0.25 SLS ilave edildi. Borik asidin çözünürlüğünü artırmak için üzerine 1 ml aseton ve 1 ml etanol ilave edildi. Homojen bir karışım olması için 1200 rpm’de 5 dakika süreyle vorteks uygulandı. Devamında formülasyon gerekli miktar distile su içeren behere aktarıldı. Bu süreç sonunda ultrasonikasyon işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla 5 dk süreyle % 60 güç

uygulanarak sonike edildi. Sonikasyon işlemi sonrasında elde edilen karışım bir rotovapora alınmış ve 40 °C 60 rpm 5 dakika süre sonunda organik çözücülerden (aseton ve etanol) arındırıldı. Süre sonunda borik asit içeren çözelti formülasyonu elde edildi.



Şekil 3.3. Formüle edilen oral çalkalama solüsyonları

3.2.1. Oral Çalkalama Solüsyonu Formülasyonlarının Organoleptik

Kontrolleri

Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının renk, koku, tat ve viskoziteleri incelendi ve bu özellikler her bir parametreye uygun olarak değerlendirildi. Viskozite ölçümleri 100 rmp hızda çalışıldı. Birimi ise “cp” “Centipoise”.

Tablo 3.2. Oral alkalama solüsyonlarının organoleptik kontrol sonuçları

Oral alkalama Solüsyonları	Tat	Koku	Renk	Viskozite
Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	Kabul edilebilir	Kabul edilebilir	Kırık beyaz	34.06 cp
Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	Kabul edilebilir	Kabul edilebilir	Açık pembe	30.75 cp
Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	Kabul edilebilir	Kabul edilebilir	Açık haki yeşili	46.28 cp
Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	Kabul edilebilir	Kabul edilebilir	Beyaz	25.14 cp
Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	Kabul edilebilir	Kabul edilebilir	Renksiz, şeffaf	8.93 cp
Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	Kabul edilebilir	Kabul edilebilir	Renksiz, şeffaf	9,92 cp

3.2.2. Oral alkalama Solüsyonlarının pH'larının Tayini

Hazırlanan solüsyonların ağız içi pH'ya uyumlu olup olmadıkları bir pH metre yardımıyla ölçülerek belirlendi.

Tablo 3.3. Oral alkalama solüsyonlarının ilk pH ölçümü sonuçları

Oral alkalama solüsyonları	pH
Hindistan Cevizi Yağı Nanoemülsiyonu (HCY-NE)	6.4
Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	6.6
Kekik ekstrasi nanoemülsiyonu (KE-NE)	5.5
Bor nitrür nanosüspansiyon (BN-NS)	6.9
Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	5.7
Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	7.9

Ağız içi pH'ya uyum sağlaması açısından uygun tamponlayıcı ajanlar ile oral çalkalama solüsyonlarının pH'sının 6.0-7.0 arasında olması sağlandı.

3.2.3. Formülasyonlardaki Bileşenlerin Spektrofotometrik Analizi

Hazırlanacak formülasyonlarda kullanılacak doğal maddelerin ve bor türevlerinin yardımcı maddeler varlığında herhangi bir değişikliğe uğrayıp uğramadığını belirlemek amacıyla UV-VIS spektrofotometrede absorbansları başlangıç aşamasında ve hazırlanmış sonuç formülasyonlar üzerinden tayin edildi. Öncelikle formülasyonlarda kullandığımız saf etkin maddelerin (propolis, hindistan cevizi yağı, kekik ekstresi, bor nitrür, borik asit ve sodyum borat) etanol, metanol gibi polar bir çözücü içerisinde belirli bir konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin absorbansı ve maksimum pik verdiği dalga boyu UV spektrofotometre kullanılarak 200-400 nm arasında taranıp tayin edildi. Devamında hazırlanan formülasyonlar tekrar 200-400 nm arasında tarandı ve aynı dalga boyunda pik verip vermedikleri, bu sayede formülasyonlardaki etkin maddelerin varlığı ve miktarları tespit edildi.

Tablo 3.4. Saf maddelerin ve oral çalkalama solüsyonlarının pik verdiği dalga boyları

Saf maddeler	Dalga Boyu (nm)	Oral çalkalama solüsyonları	Dalga Boyu (nm)
Hindistan cevizi yağı (etanol içinde)	201	Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	201
Propolis (su içinde)	195	Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	195
Kekik ekstresi (su içinde)	195-266	Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	195-264
Bor nitrür (DMSO içinde)	263	Bor nitrür nanosüspansiyon (BN-NS)	266
Borik asit (su içinde)	206	Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	206
Sodyum borat (su içinde)	210	Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	210

Sonuç olarak hem saf hallerinde hem de formülasyonlarda maddelerin absorbanları aynı yerde ve aynı konsantrasyonda bulunmuştur. Formülasyonların içerisinde saf maddeler bozulmadan kaldığı tespit edildi.

3.3. Antibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi

Hazırladığımız oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin antibakteriyel aktivitesinin değerlendirilmesi için yapılan deneyler Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (YUTAM) gerçekleştirildi.

Antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirilmesi için saf etkin maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı Tablo 3.5.'de anlatılmıştır.

Çalışmada *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus casei* ATCC 334, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, *Streptococcus mitis* NCIMB 13770, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* ATCC 13419 adlı bakteriler kullanıldı. Yapılan deneylerde kullanılan cihazlar, çözeltiler, besi yerlerinin hazırlanışı Tablo 3.6., Tablo 3.7 ve Tablo 3.8'de gösterildi.

Tablo 3.5. Saf maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı

STOK SOLÜSYONU	HAZIRLANIŞI
10 mg/ml Bor nitrür	10 mg bor nitrür tartıldı, üzerine 1 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyeri eklendikten sonra vorteksenerek hazırlandı.
10 mg/ml Borik asit	10 mg borik asit tartıldı, üzerine 1 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyeri eklendikten sonra vorteksenerek hazırlandı.
10 mg/ml Sodyum borat	10 mg sodyum borat tartıldı, üzerine 1 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyeri eklendikten sonra vorteksenerek hazırlandı.
100 mg/ml Propolis	300 mg/ml propolisten 0.5 ml alınarak üzerine 1 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyeri eklendi sonra vorteksenerek hazırlandı.

Tablo 3.5. Saf maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı (Devamı)

100 mg/ml Hindistan cevizi yağı	100 mg hindistan cevizi yağı tartılır üzerine 1 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyeri eklenir sonra vortekslenerek hazırlandı.
50 mg/ml Kekik ekstresi	60 mg/ml kekik ekstresi 1 ml alınarak üzerine 0.2 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth eklenir sonra vortekslenerek hazırlandı.
2.5 mg/ml CHX	40 mg/ml CHX'den 62.5 µl alınarak üzerine 937.5 µl Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyerinden eklenir sonra vortekslenerek hazırlandı.

Tablo 3.6. Antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan cihazlar

CİHAZ ADI	ŞİRKET / MARKA
Mikrobiyolojik Steril Kabin	ESCO Airstream
Buzdolabı (+4 °C ve -20 °C)	J.P. Selecta
Ultra Saf Su Cihazı	Millipore, Q-3W
Hassas Terazi	Shimadzu ATX 224
Vorteks	WisdWisemix VM-10
Otoklav Cihazı	JSR, JSAC-60
Santrifüj	Hettich Zentrifugen Universal 320R
Mikropipet Takımı	Axypet
Elisa Plak Okuyucu	Biotek EPOCH
Statik İnkübatör	Memmert IN110
Çalkalamalı İnkübatör	Zhicheng-ZHWY-2102C

Tablo 3.7. Antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

ÇÖZELTİ ADI	HAZIRLANIŞI
1. % 0,5 Kristal Viyole:	Kristal viole boyasından 0.50 g olarak tartıldıktan sonra 70 ml % 99'luk etil alkolde çözüldü. 30 ml saf su eklendikten sonra 24 saat inkübasyona bırakıldı. 0.22 µm'lik filtreden geçirildikten sonra kullanıldı.
2. % 30'luk Asetik Asit:	70 ml'lik saf suyun üzerine 30 ml % 99.9'luk asetik asitten yavaş yavaş eklenerek hazırlandı.
3. Resazurin Çözeltisi:	6.75 mg resazurin tartılarak 1ml saf suda çözdürüldü. 0.22 µm'lik filtreden geçirildikten sonra kullanıldı.

Tablo 3.8. Antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerlerinin hazırlanışı

BESİ YERİ	HAZIRLANIŞI
Brain Heart Infusion Agar	54 gr Brain Heart Infusion Agar tartılarak 1 L saf suya eklendi. 121 °C’de 15 dk otoklavlandıktan sonra petrilere dökülerek kullanıldı.
Brain Heart Infusion Broth	1L saf suya 39 gr Brain Heart Infusion Broth tartılarak 1 L suya eklendi. 121 °C’de otoklavlandıktan sonra kullanıldı.

3.3.1. Agar Well (Kuyucuk) Difüzyon Yöntemi ile Antibakteriyel Etkinliğin

Değerlendirilmesi

Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının ve formülasyonlarda kullandığımız saf etkin maddelerin antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi için agar well difüzyonu yöntemi kullanıldı.

Bakteriyel izolatlar Brain Heart Infusion agarda büyütüldükten sonra Brain Heart Infusion Broth’da 37°C’de 24 saat inkübe edildi. Her bir mikroorganizma 0.5 Macfarland’a ayarlandıktan sonra steril swamp yardımıyla Mueller Hinton Agar (MHA) yüzeyine yayıldı. 6 mm kork borusu yardımıyla açılan kuyulara test materyallerinden 100’er µl bırakıldı. Pozitif kontrol olarak % 0.12 KHX, negatif kontrol grubu olarak ise her oral çalkalama solüsyonu için kendi formülasyon bazı kullanıldı. 37 °C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. Çalışma üç paralel olarak yürütüldü ve sonuçların aritmetik ortalaması alındı (Wiegand ve ark., 2008).



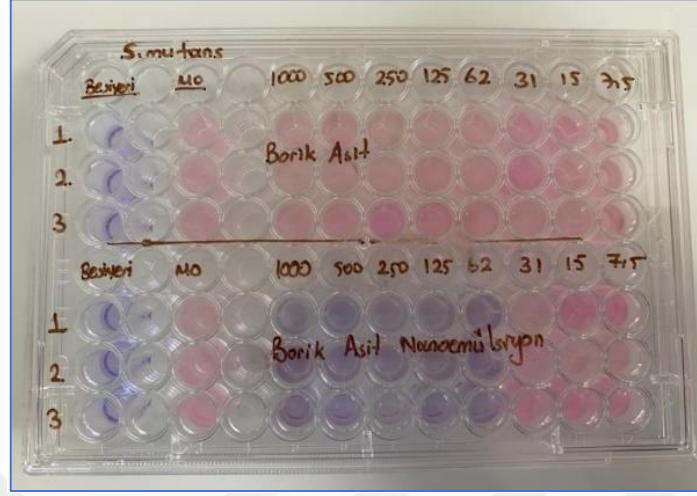
Şekil 3.4. Propolis ve propolis nanoemülsiyon grubunun well difüzyon testinde inhibisyon zonları

3.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi ile Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK)’nun belirlenmesi

MİK, bir mikroorganizmanın çoğalmasını inhibe eden en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonudur. Agar well difüzyon yöntemiyle antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu tespit edilen test materyallerinin minimum inhibitör konsantrasyon değerleri (MİK) mikrodilüsyon testi ile belirlendi.

Mikrodilüsyon testi, CLSI metoduna göre yapıldı. Minimal inhisyon konsantrasyonunu belirlemek için bakteriler Brain Heart Infusion Broth’da büyütüldü. 10^6 CFU/ml olarak ayarlanan bakteri hücrelerinden 96’lık platelere 100 µl konulurken test materyalleri seri dislüksyonlarında (0; 0.0049; 0.0098; 0.0195; 0.039; 0.078; 0.156; 0.313; 0.625; 1.25; 2.5; 5; 10 mg/ml) 100 µl eklendi. Negatif kontrol olarak sadece bakteri eklenilen grup kullanılırken, pozitif kontrol olarak KHX kullanıldı. 37 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra her kuyuya 5 µl resazurin (6.75 mg/ml) eklenerek 4 saat inkübasyona tekrar bırakıldı. Mavi renkli kuyular büyümenin olmadığı, pembe renkli

kuyular büyümenin olduğu kuyular olarak değerlendirildi. Büyümenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edildi (Wiegand ve ark., 2008).



Şekil 3.5. Borik asit ve borik asit nanoemülsiyon grubunun mikrodilüsyon testi ile MİK değerinin belirlenmesi

3.3.3. Antibiyofilm Aktivitenin Değerlendirilmesi

Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının ve formülasyonlarda kullandığımız saf etkin maddelerin farklı konsantrasyonları (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml, 1.25 mg/ml, 0.625 mg/ml, 0.312 mg/ml) hazırlanarak test edilen izolatlarla karşı antibiyofilm aktivitesi bakımından değerlendirildi.

Bakteriyel izolatlar Brain Heart Infusion agarda büyütüldükten sonra Brain Heart Infusion Broth'da 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Mikroplate kuyucuklarına 100 µl bakteri inokulumu (konsantrasyonu 600 nm'de 0,2 OD) ile 100 µl besiyeri içerisinde dilüe edilen test materyalleri (10; 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.312 mg/ml) eklendi. 37°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra kuyucuklarda bulunan besiyerleri uzaklaştırılarak distile su ile yıkandı ve her bir kuyucuğa % 0,5'lik kristal viyoletole eklenerek 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklar musluk suyu ile yıkanarak fazla boyadan arındırıldı ve her bir kuyucuğa % 30 asetik asit eklendikten sonra OD590 nm'de absorbansları ölçüldü. Hiçbir etken maddenin eklenmediği grup kontrol olarak kullanıldı. Pozitif kontrol olarak KHX kullanıldı ve seri dilüsyonları 2.5; 1.25; 0.625; 0.312 mg/ml

olacak şekilde yapıldı. Antibiyofilm aktiviteleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı (Schillaci ve ark., 2014).

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{[(\text{OD biyofilm kontrol} - \text{OD kontrol}) - (\text{OD örnek} - \text{OD kontrol})]}{(\text{OD biyofilm kontrol} - \text{OD kontrol})} \times 100$$

Elde edilen veriler GraphPad Prism 5.00 Software (GraphPad Software, La Jolla, CA) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi ve two-way ANOVA testi yapılarak p değerleri belirlendi. $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli olarak değerlendirildi.

3.4. Sitotoksitenin Değerlendirilmesi

Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının ve formülasyonlarda kullandığımız saf etkin maddelerin insan sağlıklı gingival fibroblast hücre hattı (HGF-1) üzerine sitotoksik etkileri MTT testi ve LDH testi kullanılarak değerlendirildi. Sitotoksitelerinin değerlendirilmesi için saf etkin maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı Tablo 3.9.'da anlatılmıştır.

Tablo 3.9. Saf maddelerin ve KHX'nin stok solüsyonlarının hazırlanışı

STOK SOLÜSYONU	HAZIRLANIŞI
5 mg/ml Bor nitrür	5 mg bor nitrür tartılarak 1 ml DMEM besiyeri eklendikten sonra vortekslenerek hazırlandı.
5 mg/ml Borik asit	5 mg borik asit tartılarak 1 ml DMEM besiyeri eklendikten sonra vortekslenerek hazırlandı.
5 mg/ml Sodyum borat	5 mg sodyum borat tartılarak 1 ml DMEM besiyeri eklendikten sonra vortekslenerek hazırlandı.
5 mg/ml Propolis	300 mg/ml propolisten 0,05 ml alınarak üzerine 0,95 ml DMEM besiyerinden eklenir sonra vortekslenerek hazırlandı.
5 mg/ml Hindistan cevizi yağı	5 mg hindistan cevizi tartıldıktan sonra 1 ml DMEM besiyerinden eklendi sonra vortekslenerek hazırlandı.
5 mg/ml Kekik ekstresi	60 mg/ml kekik ekstresi 0,25 ml alınarak 2,75 ml DMEM besiyerinden eklendikten sonra vortekslenerek hazırlandı.
5 mg/ml KHX	40 mg/ml KHX'den 0,125 ml alınarak 0,875 ml DMEM besiyeri eklendi sonra vortekslenerek hazırlandı.

Tablo 3.10. MTT ve LDH testinde kullanılan kimyasallar

KİMYASAL ADI	ŞİRKET
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	Nutri Culture
Fetal Bovine Serum (FBS)	Capricon
Penisilin/Streptomisin	Gibco
L-Glutamin	Multicell
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Ecotech
Dimetil sülfoksit (DMSO)	ACS Isolab
Trypsin-EDTA (%0,25)	Gibco
Triton x-100	BioShop
Etanol	ACS Isolab
LDH Cytotoxicity Assay	İnvitrogen
MTT	J&K

Tablo 3.11. MTT ve LDH testinde kullanılan materyaller

MATERYAL	ŞİRKET / MARKA
T-25'lik Flask	Isolab
2 mL'lik Mikrofüt Tüp	Isolab
10, 200 ve 1000 µL'lik Pipet Uçları	Isolab
15 ve 50 mL'lik Santrifüt Tüpü	Isolab
5, 10 ve 25 mL'lik Serolojik Pipet	Lp Italiana
96 Kuyucuklu Well Plate	Costar
Neubauer Lamı	Marienfild
Kriyo Tüp	Isolab

Tablo 3.12. MTT ve LDH testinde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

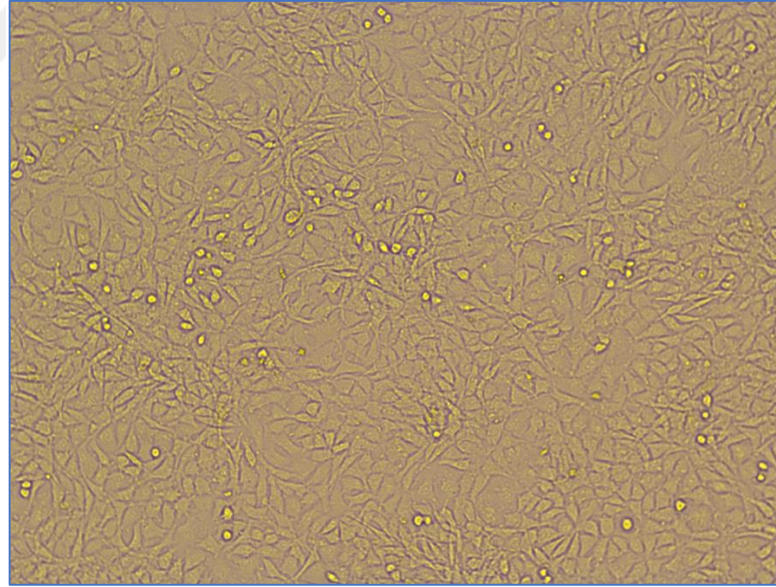
ÇÖZELTİ ADI	HAZIRLANIŞI
DMEM Besiyeri	Hazırlanacak besiyeri miktarının %10'u kadar FBS, %1'i kadar penisilin/streptomisin ve %1'i kadar L-Glutamin bazal DMEM besiyeri içerisine eklenerek hazırlandı ve +4 °C'de muhafaza edildi.
PBS	10X'lik PBS'den 50 ml'lik falkonlara steril distile su ile hazırlandı ve +4 °C'de muhafaza edildi.
Dondurma Besiyeri	DMEM besiyerine %8 oranında DMSO eklenmesi ile hazırlandı.
MTT Solüsyonu	0,15 g MTT, 15 ml distile suda (dH ₂ O) çözüldü (10 mg/mL). 15 ml'lik hacim filtreden geçirildi. Çözelti 3 adet 15 ml'lik santrifüj tüpüne 5'er mL olacak şekilde alikotlara ayrıldı. Her bir santrifüj tüpün üzerine 5 ml distile su (dH ₂ O) eklenerek son konsantrasyon 5 mg/ml'ye ayarlandı. MTT solüsyonu -80 °C'de muhafaza edildi.
LDH Reaksiyon Karışımı	Substrat stok solüsyonu hazırlamak için öncelikle kit içeriğinde bulunan substrat karışımına 11,4 ml steril distile su (dH ₂ O) eklendi ve karıştırılarak çözüldü. Reaksiyon karışımını hazırlamak için hazırlanan bu substrat stok solüsyonuna 600 µL assay buffer stok solüsyonu eklendi ve homojen hale getirilene kadar iyice karıştırıldı. Hazırlanan reaksiyon karışımı kullanılıncaya kadar ışıktan korunacak şekilde -20°C'de muhafaza edildi.
%1'lik Triton x-100	5 mL PBS içerisine 50 µl triton x-100 eklenerek hazırlandı. +4 °C'de muhafaza edildi.

Tablo 3.13. MTT ve LDH testinde kullanılan cihazlar

CİHAZ ADI	ŞİRKET / MARKA
Class II Biyogüvenlik Kabini	ESCO Airstream
Buzdolabı (+4 °C ve -20 °C)	J.P. Selecta
Derin Dondurucu (-80 °C)	Thermo Sciencific FDE
Ultra Saf Su Cihazı	Millipore, Q-3W
Etüv	Miprolab
Hassas Terazı	Shimadzu ATX 224
CO ₂ İnkübatör	ESCO Cell Culture
İnvert Mikroskop	Leica DFC 450C
Vorteks	WisdWisemix VM-10
Otoklav Cihazı	JSR, JSAC-60
Santrifüj	Hettich Zentrifugen Universal 320R
Su Banyosu	WiseBath
Mikropipet Takımı	Axypet
Shaker	ISOLAB
Mikroplate Okuyucu	Epoch Mikroplaka Spektrofotometresi

- **HGF-1 Hücre Hattının Kültüre Alınması**

Tez çalışması kapsamında Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (YÜTAM) temin edilen insan sağlıklı gingival hücre hattı (HGF-1) kullanıldı. HGF-1 hücreleri T-25'lik flasklarda % 10 FBS, % 1 L-Glutamin ve % 1 penisilin/streptomisin ilave edilerek hazırlanan DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besiyeri içerisinde 37 °C'lik % 5 CO₂'li inkübatörde kültüre edilerek çoğaltıldı. Deneysel amaca bağlı olarak flask yüzeyi %70-80 doluluğa ulaşıncaya kadar her 2-3 günde bir hücrelerin besiyeri değiştirildi. Deneysel aşamada kullanılmayan fazla hücreler, % 8 oranında dimetil sülfoksit (DMSO) içeren DMEM besiyeri içerisine alınarak kriyo tüplere aktarıldı. Hücreler +4 °C'de 30 dk. -20 °C'de 60 dk. bekletildikten sonra -80°C'ye kaldırıldı ve orada muhafaza edildi. Yapılan deneylerde HGF-1 hücrelerinin 20. pasajı (p20) kullanıldı.



Şekil 3.6. İnsan sağlıklı gingival hücre hattının (HGF-1) 10X büyütmedeki mikroskop görüntüsü

3.4.1. MTT Testi

Hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının ve formülasyonlarda kullandığımız saf etkin maddelerin HGF-1 hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etkileri MTT testi ile

belirlendi. HGF-1 hücrelerinin test materyalleri ile 0.156-5 mg/ml konsantrasyonlarda 1.5 dk muamele edilmesinin ardından 24 saat süreyle besiyeri ortamında inkübe edildi ve MTT testi uygulandı. Bu süreç aşağıdaki protokol izlenerek gerçekleştirildi:

1. Deneysel amaca uygun olarak T-25'lik flasklarda büyütülen ve % 70-80 doluluk oranına ulaşan HGF-1 hücrelerinin besiyeri uzaklaştırıldı. Hücreler 2 ml PBS ile yıkandı. Daha sonra hücreleri yüzeyden kaldırmak için 1,5 ml Tripsin-EDTA (% 0.25) eklendi ve 3 dk. 37 °C'lik % 5 CO₂'li inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyon süresinin ardından flask yüzeyinden ayrılan hücrelerin üzerine tripsini inhibe etmek için 2 ml besiyeri eklendi ve tüm hücreler 15 ml'lik santrifüj tüpüne aktararak 1.500 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant uzaklaştırıldı ve hücreler 3 ml besiyerinde çözöldü. Çözölen miktardan 10 µl alındı ve Neubauer lamına yüklenerek sayım yapıldı.
2. Sayım sonrasında 96 kuyucuklu platelere her bir kuyucukta 160 µl besiyeri içerisinde 7.500 hücre olacak şekilde ekim yapıldı. Hücrelerin plate yüzeylerine tutunmaları için bir gece boyunca 37°C'lik % 5 CO₂'li inkübatörde inkübe edildi.
3. İnkübasyon süresinin ardından hücrelerin besiyeri uzaklaştırıldı ve her bir kuyudaki hücre 160 µl PBS ile yıkandı.
4. Besiyeri ile hazırlanan test materyalleri ile pozitif kontrol olarak kullanılan KHX farklı konsantrasyonlarda (0,156-5 mg/ml) hücrelerin bulunduğu 96 kuyucuklu platelerin her bir kuyusuna 3 tekrör olacak şekilde 130 µl 1,5 dk süreyle uygulandı. Süre sonunda ilaçlı besiyerleri uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa kontrol de dahil olmak üzere 160 µl besiyeri eklendi. Hücreler 24 saat boyunca 37°C'lik % 5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklarda bulunan kontrol ve uygulama gruplarının besiyerleri uzaklaştırıldı. Ardından her kuyucuğa besiyeri ve MTT (%)

- 10) ile hazırlanan solüsyondan 100 µl eklendi. Plateler karanlıkta 37 °C'lik % 5 CO₂'li inkübatörde 4 saat inkübe edildi.
6. İnkübasyon süresinin ardından her bir kuyucuktaki solüsyon uzaklaştırıldı. Oluşan formazan kristallerini çözebilmek için her bir kuyucuğa 150 µl DMSO eklendi. Kristallerin homojen bir şekilde çözünebilmesi için shakerda 240 rpm'de 15 dk. çalkalandı.
7. Süre sonunda oluşan rengin absorbansı 570 nm'de ELISA okuyucu ile ölçüldü.

Test materyallerinin HGF-1 hücreleri üzerinde doz ve zaman bağımlı olarak IC₅₀ değerleri (hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyonu temsil eder), uygulanan test materyallerinin ve kontrol grubunun absorbans değerleri kıyaslanarak analiz edildi ve hücrelerdeki % canlılık aşağıda belirtilen formül yardımı ile hesaplandı.

$$\% \text{ canlılık} = \frac{[\text{Abs (bileşikler ile muamele edilen hücreler)} - \text{Abs (hücresiz ortamdaki MTT reaktifi)}]}{[\text{Abs (kontrol grubu hücreler)} - \text{Abs (hücresiz ortam)}]} \times 100$$

3.4.2. LDH Testi

MTT testini doğrulamak için hasar gören veya ölen hücrelerde LDH aktivitesinin belirlenmesi amacıyla LDH testi yapıldı. HGF-1 hücreleri, test materyalleri ile 0.156-5 mg/mL konsantrasyonlarda 1.5 dk muamele edilmesinin ardından 24 saat süreyle inkübe edildi ve LDH aktivitesi incelendi. LDH testi aşağıdaki kit protokolü izlenerek gerçekleştirildi:

1. MTT testinin 24 saat uygulanmasının ardından her konsantrasyondan (0,156-5 mg/ml) 3 tekerrür olarak hazırlanan kuyucuklardaki ortam (besiyeri) 2 ml'lik ependorf tüplere toplandı ve karıştırıldı (kontrol olarak % 1'lik triton x-100 kullanıldı).

2. Uygulama ve kontrol gruplarının ortamlarından 3 tekerrür olacak şekilde 50'şer µL alındı ve başka bir plate'e aktarıldı. Her bir grubun ortamına 50'şer µl LDH reaksiyon karışımı ilave edildi.
3. Plate oda sıcaklığında karanlıkta 30 dk. boyunca inkübe edildi.
4. İnkübasyon süresinin sonunda her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 490 nm'de ELISA okuyucuda ölçüm alındı.

Elde edilen sonuçlardan hücrelerdeki % LDH aktivitesi aşağıda belirtilen formül yardımıyla hesaplandı.

$$\% \text{ LDH aktivitesi} = \frac{[\text{Abs (bileşikler ile muamele edilen hücreler)} - \text{Abs (hücresiz ortamdaki LDH reaktif)}]}{[\text{Abs (kontrol grubu hücreler)} - \text{Abs (hücresiz ortam)}]} \times 100$$

Yapılan testler sonucunda elde edilen veriler GraphPad Prism 5.00 Software (GraphPad Software, La Jolla, CA) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi ve two-way ANOVA testi yapılarak p değerleri belirlendi. $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli olarak değerlendirildi.

3.5. Mine ve Kompozit Rezin Örneklerin Mikrosertlik, Yüzey pürüzlülüğü ve SEM Analizlerinin Yapılması

Mine ve kompozit rezin örneklerinin yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğü ölçümleri Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada antimikrobiyal etkinlik deneylerinin sonuçlarına göre antibakteriyel etkisi olduğu belirlenen saf etkin maddelerin (propolis ve kekik ekstresi) formüle edilmiş oral çalkalama solüsyonlarının (hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu, propolis nanoemülsiyonu, kekik ekstresi nanoemülsiyonu, bor nitrür nanosüspansiyonu, borik asit çözeltisi ve sodyum borat çözeltisi) ve KHX'nin, mine ve kompozit rezin

örneklerinin yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğü üzerine olan etkileri değerlendirildi. Her grup için bir mine ve bir kompozit rezin örneğinin SEM görüntüleri analiz edildi. Kontrol grubu olarak distile su kullanıldı. Toplamda 10 deney grubu oluşturuldu. Tez çalışmasına başlamadan önce yapılan güç analizi neticesinde örneklem büyüklüğü, % 85 güç, 0.40 etki boyutu ve 0.05'te α hatasında hesaplanarak grup başına en az 13 mine örneği ve 13 kompozit rezin örneği incelenmesi gerektiği belirlendi. Toplamda 10 deney grubu için 130 adet mine örneği ve 130 adet kompozit rezin örneği hazırlandı.

Tablo 3.14. Deney grupları ve örnek sayıları

Deney Grupları		Mine	Kompozit rezin
1.	Propolis (P)	n=13	n=13
2.	Kekik ekstresi (KE),	n=13	n=13
3.	Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	n=13	n=13
4.	Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	n=13	n=13
5.	Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	n=13	n=13
6.	Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	n=13	n=13
7.	Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	n=13	n=13
8.	Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	n=13	n=13
9.	Klorheksidin (KHX)	n=13	n=13
10.	Distile su (DS) (Kontrol)	n=13	n=13

3.5.1. Mine Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmada Atatürk Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi kliniğinde hasta izni alınarak, son 6 ay içerisinde çekilen gömülü 20 yaş dişleri kullanıldı. Dişler günlük olarak solüsyonları değiştirilerek toplandı ve dişlerin üzerindeki doku eklentileri uzaklaştırıldı. Dişler deneylerin gerçekleştirileceği zamana kadar distile su içerisinde oda ısısında muhafaza edildi, distile su düzenli olarak her hafta yenilendi. Mine örneklerinin hazırlanması için dişler mine-sement sınırının 2 mm apikalinden elmas frez yardımıyla kesilerek kron kısımları köklerinden ayrıldı. Dişlerin kron kısmı elmas frez yardımıyla

mezio-distal yönde ikiye ayrılarak, vestibül ve lingual yüzeyleri elde edildi. Elde edilen vestibül ve lingual diş yüzeyleri yere paralel olacak şekilde iç çapı 1 cm kalınlığı 2 mm olan silikon silindirik kalıplar kullanılarak akrilik rezin içerisine gömüldü. Elde edilen örnekler pürüzsüz ve düzgün bir yüzey elde etmek için sırasıyla 600, 800, 1000 ve 1200 gridlik karbid kağıtlarla zımparalandı. Hazırlanan mine örnekleri her grupta 13 örnek olacak şekilde randomize olarak 10 gruba ayrıldı.



Şekil 3.7. a) Akrilik rezin ve silikon kalıp b) Mine örnekleri

3.5.2. Kompozit Resin Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmada mikrohibrit kompozit rezin (G-aenial anterior, GC Comp., Tokyo, Japonya) kullanıldı. Standart boyutlarda kompozit rezin örneklerin hazırlanması için 2 mm kalınlığında 8 mm çapında teflon kalıp kullanıldı. Düz ve pürüzsüz bir örnek yüzeyi elde etmek amacıyla teflon kalıbın alt ve üst yüzeyinde siman camı ve şeffaf bantlar kullanıldı. Kompozit rezin, üretici firmanın talimatları doğrultusunda ağız spatülü yardımıyla tabakalar halinde teflon kalıba yerleştirildi. Örneklerin alt ve üst yüzeyi LED polimerizasyon cihazı (Changzhou Sifary Medical Technology Co., Ltd., Çin) kullanılarak 20 saniye boyunca polimerize edildi. Hazırlanan örneklerin ölçüm yapılacak olan yüzeyine polisaj (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) ve cila diskleri (3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) sırasıyla her biri 15 saniye olacak şekilde yavaş devirli mikromotor yardımı ile uygulandı. Diskler aynı yönde uygulandı ve her kullanımdan

A collection of dental instruments is displayed on a green surface. The instruments include a white and green handpiece with a digital display, a green and black scaler with a green handle, a silver curette, a silver probe, and a silver mirror. A blue box contains four burs (two yellow, two red) and a small blue and yellow tool. A white box labeled 'Kett' contains a single bur. A small white circular object is also visible.

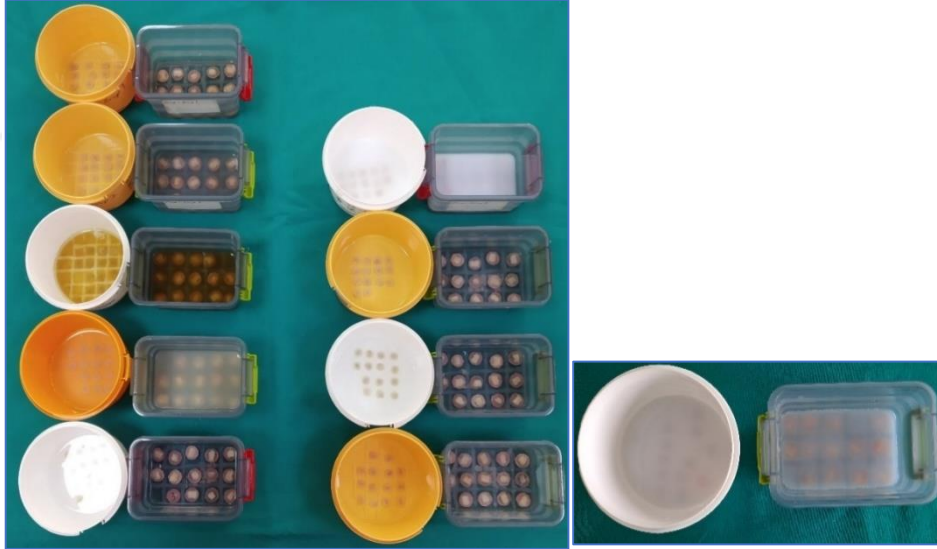
3.5.3. Mine ve Kompozit Rezin Örneklerin Antibakteriyel Etkinlik Gözlenen Oral Çalkalama Solüsyonlarına ve Saf Etkin Maddelere Maruz Bırakılması

55

kullanımı süresine eş değer) bekletildi (Gurgan & Yalcin Cakir, 2008). Örnekler solüsyonların uygulanmasından sonra distile su içerisine konuldu.

Tablo 3.15. Mine ve kompozit rezin örneklerine uygulanan oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin konsantrasyonları

Test Materyalleri	Konsantrasyon
Propolis	% 0.25
Propolis nanoemülsiyonu	% 0.50
Kekik ekstresi	% 0.25
Kekik ekstresi nanoemülsiyonu	% 0.0625
Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu	% 1
Bor nitür nanosüspansiyonu	% 0.125
Borik asit çözeltisi	% 0.0625
Sodyum borat çözeltisi	% 0.125
KHX	% 0.00195

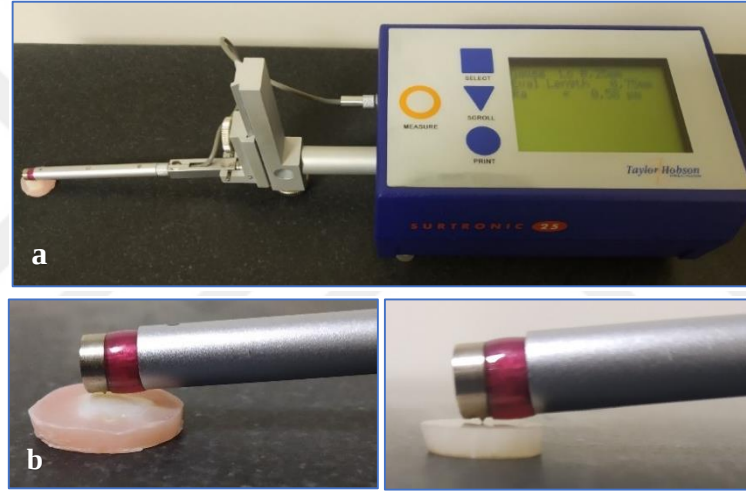


Şekil 3.10. Mine ve kompozit rezin örneklere solüsyonların uygulanması

3.5.4. Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümü

Mine ve kompozit rezin örneklerinin yüzey pürüzlülüğü ölçümü Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma laboratuvarında bulunan kontakt profilometre cihazı (Taylor-Hobson Precision Surtronic 25, UK) ile yapıldı. Örneklerin yüzey pürüzlülüğü ölçümü test materyallerine maruz bırakılmadan önce ve maruz

birakıldıktan sonra olmak üzere 2 farklı noktada yapıldı. Ölçüm uzunluğu mine örnekleri için 0.75 mm kompozit rezin örnekler için 1.25 mm olarak ayarlandı. Ölçüm dışı olarak alınacak mesafe (cutt-of) tüm örnekler için 0.25 mm olarak ayarlandı. Örnekler ölçüm yüzeyleri yukarıda olacak şekilde yere paralel olarak tablaya yerleştirildi ve cihazın ölçüm ucu örnek yüzeyine yerleştirilerek ölçüm sağlandı. Cihazın mikrometre (μm) cinsinden verdiği yüzey pürüzlülük ortalaması değeri (R_a) kaydedildi. Her bir örnek için 3 farklı noktadan ölçüm yapıldı ve bu ölçümlerin aritmetik ortalaması alınarak örneğin ortalama yüzey pürüzlülüğü değeri hesaplandı. Cihaz her grup ölçümünden önce kalibre edildi.

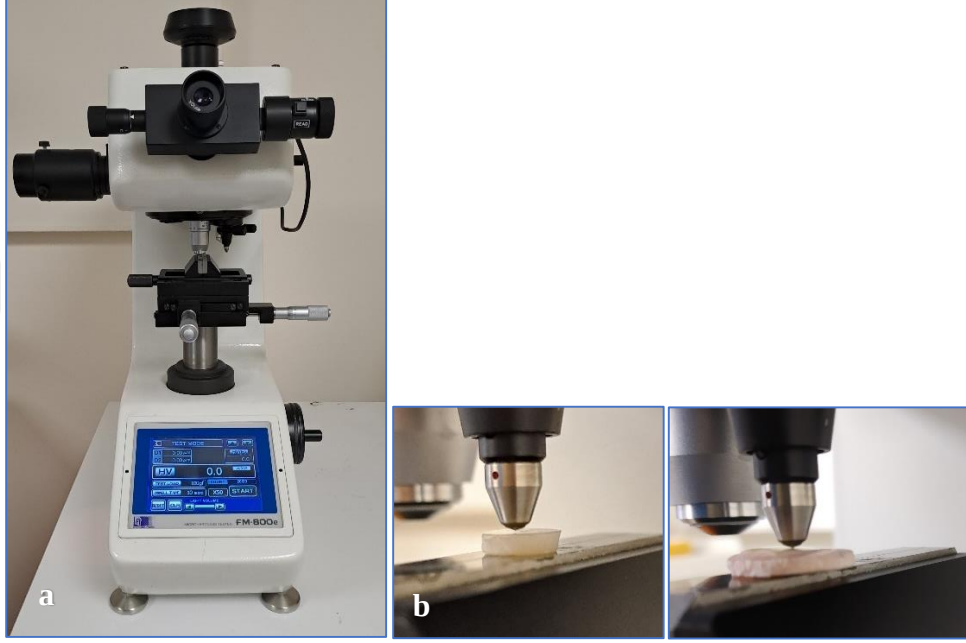


Şekil 3.11. a) Pürüzlülük ölçüm cihazı b) Mine ve kompozit örneklerin pürüzlülük ölçümü

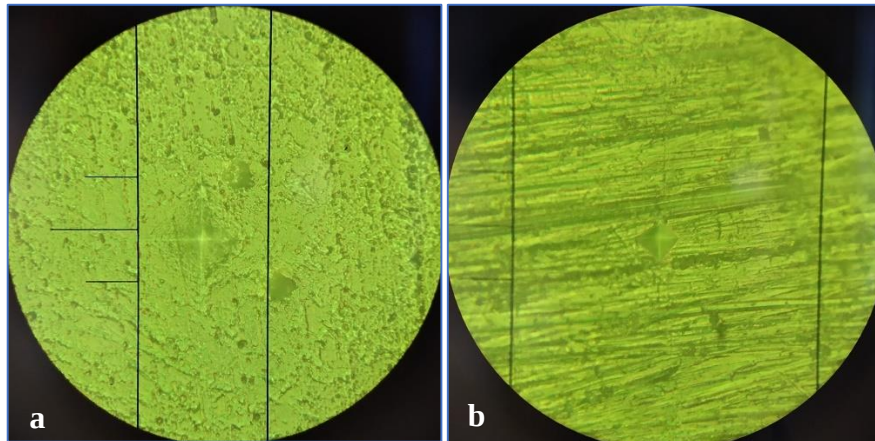
3.5.5. Yüzey Mikrosertliği Ölçümü

Mine ve kompozit rezin örneklerinin yüzey mikrosertliği ölçümü Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında bulunan mikrosertlik cihazı (Vickers-Fm800, Tokyo/Japonya) kullanılarak yapıldı. Örneklerin yüzey mikrosertliği ölçümü test materyallerine maruz bırakılmadan önce ve maruz bırakıldıktan sonra olmak üzere 2 farklı noktada yapıldı. Örnekler alt ve üst yüzeyleri paralel olacak şekilde ölçüm tablasına yerleştirildi, ölçüm yapılacak nokta stereomikroskop altında 40x büyütmede belirlendi ve 100 gr kuvvet 15 saniye süresince uygulandı. Örnek yüzeyinde

oluşan piramit izin köşegenleri cihazın kendisine ait stereomikroskop altında 40x büyütmede cihaz üzerindeki işaretleyiciler kullanılarak ölçüldü ve cihazın verdiği mikrosertlik değeri (VHN) kaydedildi. Her bir örnek için ölçüm 3 farklı noktada tekrarlandı ve elde edilen değerlerin ortalaması alınarak örneğin mikrosertlik değeri olarak kaydedildi. Cihaz her grup ölçümünden önce kalibre edildi.



Şekil 3.12. a) Vicker's sertlik ölçüm cihazı b) Mine ve kompozit rezin örneklerin sertlik ölçümü



Şekil 3.13. a)Kompozit rezin örneğinin yüzeyinde oluşan piramit izin görüntüsü b) Mine örneğinin yüzeyinde oluşan piramit izin görüntüsü

3.5.6. SEM Analizi

Örneklerin SEM analizi Doğu Anadolu İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)' nda gerçekleştirildi. Her grup için 1 mine ve 1 kompozit rezin örneğin yüzeyinin mikromorfolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla SEM görüntüleri alındı. Analiz öncesinde mine örnekleri % 97'lik etil alkol ile dehidrate edildi. Örnekler iletkenliğin sağlanması amacıyla vakum altında altın ile kaplandı ve taramalı elektron mikroskobu (SEM, Quanta FEG 250, FEI) ile yüzey analizleri yapıldı.



Şekil 3.14. Altınla kaplanmış mine ve kompozit rezin örnekleri

3.6. İstatistiksel Analiz

Antibiyofilm aktivite deneyi ve sitotoksosite testleri sonucunda elde edilen veriler GraphPad Prism 5.00 Software (GraphPad Software, La Jolla, CA) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi ve two-way ANOVA testi yapılarak p değerleri belirlendi. $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli olarak değerlendirildi.

Sertlik ve pürüzlülük testleri sonucunda elde edilen verilerin analizi IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, ABD) programında yapıldı. Yapılan testler mine örnekleri ve kompozit rezin örnekleri için ayrı ayrı uygulandı. Verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov normallik testi ile analiz edildi ve verilerin normal dağılıma uygun olduğu belirlendi.

Her bir gruba ait örneklerin pürüzlülük ve sertlik değerlerinin karşılaştırılmasında Bağımlı gruplara ait (Eşleme) t testi kullanıldı. Elde edilen sertlik ve pürüzlülük değerleri

açısından grupların karşılaştırılmasında One-way ANOVA ve post hoc Tukey testleri uygulandı. Örneklerin (mine-kompozit rezin) delta sertlik ve delta pürüzlülük değerlerine ait farklılığın belirlenmesinde Bağımsız gruplara ait t testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

4.1. Antibakteriyel Etkinliğin Değerlendirilmesine Ait Bulgular

4.1.1. Agar Well Difüzyon Testi ve Mikrodilüsyon Testi Sonuçları

Well difüzyon testi sonuçları Tablo 4.1.'de gösterilmektedir. Pozitif kontrol grubu olan KHX tüm bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivite göstermiştir. P, P-NE, KE ve KE-NE test bakterilerinden sadece *S.mutans* üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermiş, *S.salivarius*, *S.mitis*, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *L.fermentum* suşları üzerinde antibakteriyel etkileri gözlenmemiştir.

HCY, BN, BA ve SB test edilen bakterilerin hiçbiri üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermezken bu maddelerden formüle edilen oral çalkalama solüsyonları ise tüm test bakterileri üzerinde antibakteriyel etki sergilemiştir.

Negatif kontrol grubu olarak kullanılan formülasyon bazları beklenildiği üzere inhibisyon zonu oluşturmayarak test bakterileri üzerine antibakteriyel etki göstermemiştir.

Tablo 4.1. Agar well difüzyon testinde inhibisyon zonu çapları (mm)

Test Materyalleri	İnhibisyon Zonu Çapları (mm)					
	<i>S.mutans</i>	<i>S.salivarius</i>	<i>S.mitis</i>	<i>L.acidophilus</i>	<i>L.casei</i>	<i>L.fermentum</i>
Propolis (P)	17	-	-	-	-	-
Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	15	-	-	-	-	-
Kekik ekstresi (KE)	13	-	-	-	-	-
Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	17	-	-	-	-	-
Hindistan cevizi yağı (HCY)	-	-	-	-	-	-
Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	14	12	12	11	11	12
Bor nitrür (BN)	-	-	-	-	-	-
Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	13	17	16	16	16	16
Borik asit (BA)	-	-	-	-	-	-
Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	15	19	20	19	20	20
Sodyum borat (SB)	-	-	-	-	-	-
Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	14	15	16	19	17	15
Klorheksidin (KHx) (Pozitif kontrol)	30	27	25	25	27	20

-: Etki görülmedi

Well difüzyon testi sonuçlarına göre antibakteriyel aktivitesi gözlenen test materyallerinin, mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerleri belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.2’de sunulmuştur. Pozitif kontrol grubu olan KHX’nin test edilen tüm bakteriler üzerinde en düşük MİK değerlerine (MİK: 0.0048 – 0.0195 mg/ml) sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle tüm bakteri suşları en yüksek sensitiviteyi KHX’e karşı göstermiştir.

Pozitif kontrol dışındaki test materyallerinin MİK değerlerine bakıldığında *S.mutans* için en düşük MİK değeri (0.625) KE-NE ve BA-Ç’de, *S.salivarius*, *S.mitis*, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *L.fermentum* için ise en düşük MİK değeri (0.156) BA-Ç’de gözlenmiştir.

Test materyalleri arasında hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu ve bor türevleri ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonları tüm test bakterileri üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermiştir. MİK değerlerine baktığımızda, bor türevleri ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonları HCY-NE’nundan daha düşük MİK değerlerine sahiptir. Bor türevleri ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonları kendi içlerinde değerlendirildiklerinde ise BA-Ç tüm bakteriler üzerinde en düşük MİK değerini gösteren grup olmuştur. SB-Ç ve BN-NS’na baktığımızda ise SB-Ç *L.acidophilus* için BN-NS den daha düşük MİK değeri gösterirken, diğer bakteriler üzerinde BN-NS, SB-Ç’ne eşit ya da daha düşük MİK değerleri göstermiştir.

Tablo 4.2. Mikrodilüsyon testi sonucunda elde edilen MİK değerleri

Test Materyalleri	MİK (mg/ml)					
	<i>S.mutans</i>	<i>S.salivarius</i>	<i>S.mitis</i>	<i>L.acidophilus</i>	<i>L.casei</i>	<i>L.fermentum</i>
Propolis (P)	2.5	-	-	-	-	-
Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	5	-	-	-	-	-
Kekik ekstresi (KE)	5	-	-	-	-	-
Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	0.625	-	-	-	-	-
Hindistan cevizi yağı (HCY)	-	-	-	-	-	-
Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	5	10	10	10	10	10
Bor nitrür (BN)	-	-	-	-	-	-
Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	1.25	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625
Borik asit (BA)	-	-	-	-	-	-
Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	0.625	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156
Sodyum borat (SB)	-	-	-	-	-	-
Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	1.25	1.25	0.625	0.312	0.625	1.25
Klorheksidin (KHx) (Pozitif kontrol)	0.0048	0.0097	0.0097	0.0097	0.0097	0.0195

-: Seyreltme değerleri aralığında MİK tespit edilememiştir.

4.1.2. Antibiyofilm Aktivitesi Bulguları

Elde edilen sonuçlara göre test edilen izolatlara karşı BN-NS'nun, BA-Ç'nin ve SB-Ç'nin antibiyofilm aktivitesi gösterdiği, P'in, P-NE'nun, KE'nin, KE-NE'nun, HCY'nın, HCY-NE'nun, BN'ün, BA'in ve SB'ın ise antibiyofilm aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir. BN-NS'a ait sonuçlar Tablo 4.3. ve Şekil 4.1'de, BA-Ç'ne ait sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.2'de, SB-Ç'ne ait sonuçlar ise Tablo 4.5 ve Şekil 4.3'de sunulmuştur.

Antibiyofilm aktivitesi gözlenen solüsyonlarda konsantrasyon düştükçe biyofilm etkinliğinin de düştüğü, BN-NS'nun ve BA-Ç'nin 2,5 mg/ml ve üzeri derişimlerde, SB-Ç'nin ise 5 mg/ml ve üzeri derişimlerde test edilen tüm bakteri biyofilmlerine karşı güçlü antibiyofilm aktivitesi sergilediği görülmüştür.

En yüksek antibiyofilm etkinliğinin 10 mg/ml konsantrasyonda, BN-NS için *L.casei*'ye karşı, BA-Ç için *S. salivarius*'a karşı ve SB-Ç için *L.acidophilus*'a karşı gözleendiği tespit edilmiştir.

Pozitif kontrol olarak kullanılan KHX test edilen izolatlara karşı güçlü antibiyofilm etkinliğe sahip olduğu ve 2.5 mg/ml konsantrasyonunda biyofilm oluşumunu tamamen engellediği belirlenmiştir (Tablo 4.6. ve Şekil 4.4.).

Tablo 4.3. Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS) % biyofilm oranları

	0,312 mg/mL	0,625 mg/mL	1,25 mg/mL	2,5 mg/mL	5 mg/mL	10 mg/ml	Kontrol
<i>S.mutans</i>	101.175±2.25 ^{ns}	101.125±0.47 ^{ns}	96.575±2.70 ^{ns}	81.99±1.08 ^{***}	74.75±3.33 ^{***}	55.075±2.62 ^{***}	100
<i>S.salivarius</i>	100.185±2.76 ^{ns}	100.595±1.80 ^{ns}	94.325±2.96 ^{ns}	85.25±4.94 ^{***}	76.24±1.42 ^{***}	62.74±3.54 ^{***}	100
<i>S.mitis</i>	100.91±2.30 ^{ns}	101.285±0.51 ^{ns}	86.81±2.72 ^{***}	71.74±0.59 ^{***}	53.5±1.31 ^{***}	46.75±2.19 ^{***}	100
<i>L.acidophilus</i>	101.185±1.27 ^{ns}	99.91±3.70 ^{ns}	101.26±2.85 ^{ns}	84.675±0.68 ^{***}	63.54±2.43 ^{***}	45.855±2.02 ^{***}	100
<i>L.casei</i>	100.71±1.73 ^{ns}	90.815±3.25 ^{**}	78.01±1.59 ^{***}	65.025±1.03 ^{***}	43.39±2.78 ^{***}	35.08±2.60 ^{***}	100
<i>L.fermentum</i>	100.91±2.30 ^{ns}	86.785±4.05 ^{***}	76.31±2.72 ^{***}	60.69±2.36 ^{***}	43.53±1.11 ^{***}	36.95±2.67 ^{***}	100

p>0.05 = ns önemsiz, *p<0.05 önemli, **p<0.01 çok önemli, ***p<0.001 yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder

Tablo 4.4. Borik asit çözeltisi (BA-Ç) % biyofilm oranları

	0,312 mg/mL	0,625 mg/mL	1,25 mg/mL	2,5 mg/mL	5 mg/mL	10 mg/ml	Kontrol
<i>S.mutans</i>	101.235±4.22 ^{ns}	100.99±0.39 ^{ns}	93.35±0.89 ^{ns}	75.645±2.04 ^{***}	58.57±2.26 ^{***}	46.295±1.03 ^{***}	100
<i>S.salivarius</i>	90.735±3.51 ^{**}	74.99±3.84 ^{***}	66.35±5.13 ^{***}	45.145±1.33 ^{***}	27.07±1.27 ^{***}	16.295±1.03 ^{***}	100
<i>S.mitis</i>	101.235±4.22 ^{ns}	101.215±0.71 ^{ns}	82.965±0.44 ^{***}	66.005±2.66 ^{***}	43.47±3.67 ^{***}	36.195±1.46 ^{***}	100
<i>L.acidophilus</i>	100.345±2.51 ^{ns}	84.97±1.04 ^{***}	76.835±2.24 ^{***}	61.055±2.72 ^{***}	44.875±2.19 ^{***}	37.885±1.78 ^{***}	100
<i>L.casei</i>	100.635±3.79 ^{ns}	87.645±1.87 ^{***}	75.485±2.59 ^{***}	60.01±2.51 ^{***}	41.935±2.55 ^{***}	36.205±1.47 ^{***}	100
<i>L.fermentum</i>	100.635±3.79 ^{ns}	87.15±1.38 ^{***}	72.54±1.54 ^{***}	56.505±2.38 ^{***}	41±2.44 ^{***}	31.855±0.28 ^{***}	100

p>0.05 = ns önemsiz, *p<0.05 önemli, **p<0.01 çok önemli, ***p<0.001 yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder

Tablo 4.5. Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç) % biyofilm oranları

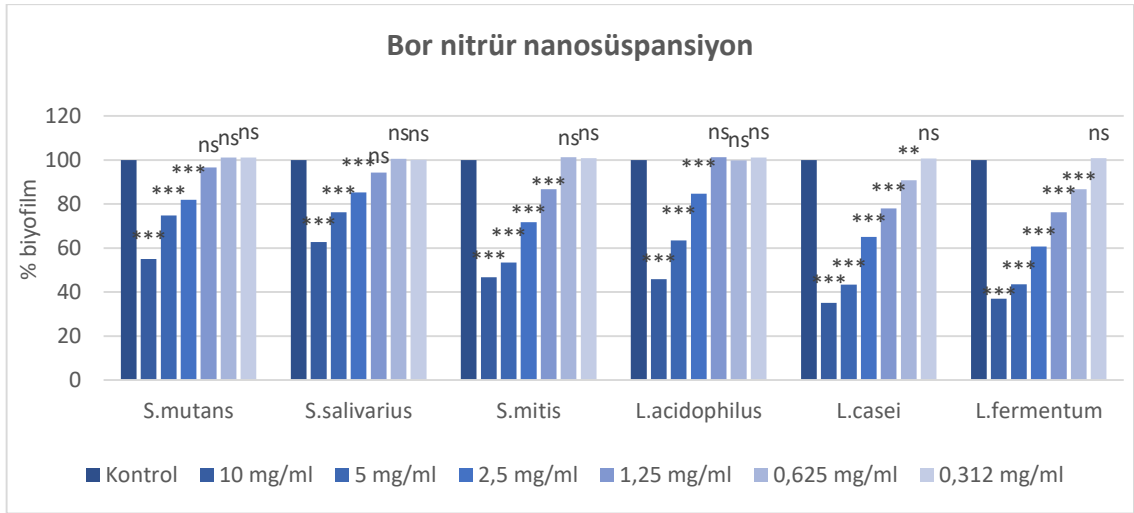
	0,312 mg/mL	0,625 mg/mL	1,25 mg/mL	2,5 mg/mL	5 mg/mL	10 mg/ml	Kontrol
<i>S.mutans</i>	101.185±4.16 ^{ns}	100.665±2.01 ^{ns}	100.675±6.44 ^{ns}	91.405±4.33 ^{ns}	74.495±2.45 ^{***}	56.72±0.67 ^{***}	100
<i>S.salivarius</i>	101.31±9.40 ^{ns}	96.315±2.93 ^{ns}	88.51±1.37 ^{**}	63.65±2.96 ^{***}	47.33±0.98 ^{***}	36.57±4.01 ^{***}	100
<i>S.mitis</i>	101.37±3.84 ^{ns}	100.885±1.90 ^{ns}	100.785±6.44 ^{ns}	88.445±1.70 ^{***}	75.24±3.40 ^{***}	52.455±1.05 ^{***}	100
<i>L.acidophilus</i>	100.775±1.40 ^{ns}	101.185±2.07 ^{ns}	93.885±1.26 ^{ns}	74.735±2.05 ^{***}	53.275±2.76 ^{***}	35.85±5.04 ^{***}	100
<i>L.casei</i>	100.745±1.73 ^{ns}	100.685±1.36 ^{ns}	100.855±2.21 ^{ns}	85.2±1.82 ^{***}	73.43±2.55 ^{***}	50.85±2.16 ^{***}	100
<i>L.fermentum</i>	100.37±2.43 ^{ns}	102.01±1.08 ^{ns}	100.58±0.93 ^{ns}	90.865±3.85 ^{ns}	70.67±2.33 ^{***}	52.2±1.38 ^{***}	100

p>0.05 = ns önemsiz, *p<0.05 önemli, **p<0.01 çok önemli, ***p<0.001 yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder

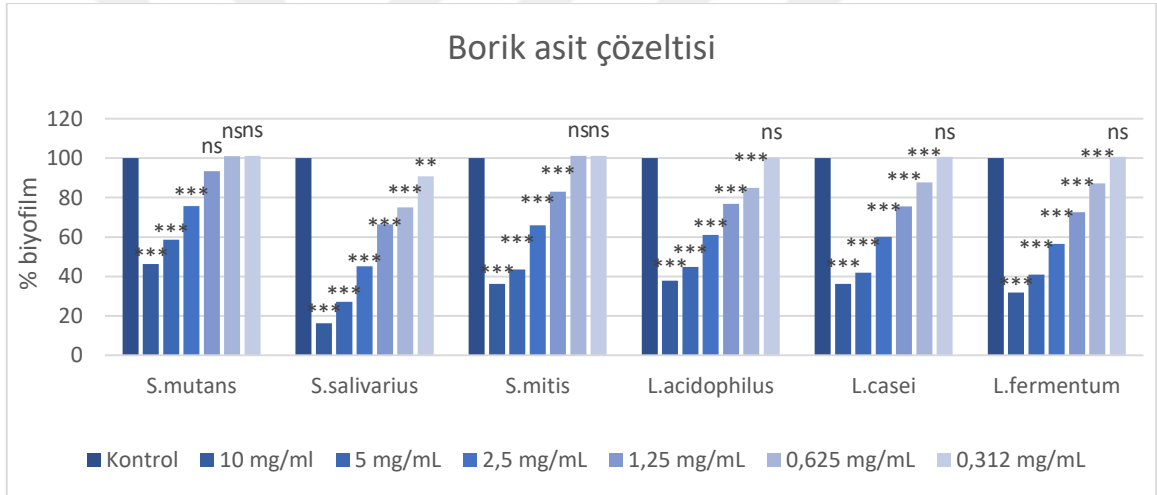
Tablo 4.6. KHX % biyofilm oranları

	0,312 mg/mL	0,625 mg/mL	1,25 mg/mL	2,5 mg/mL	Kontrol
<i>S.mutans</i>	17.015±0.89 ^{***}	11.625±0.46 ^{***}	1.65±0.565 ^{***}	0	100
<i>S.salivarius</i>	25.515±1.98 ^{***}	16.585±0.91 ^{***}	11.61±0.98 ^{***}	0	100
<i>S.mitis</i>	22.395±0.63 ^{***}	14.07±3.04 ^{***}	8.025±2.5 ^{***}	0	100
<i>L.acidophilus</i>	29.685±2.13 ^{***}	12.94±0.07 ^{***}	9.585±1.63 ^{***}	0	100
<i>L.casei</i>	12.94±0.39 ^{***}	7.535±0.44 ^{***}	3.13±0.01 ^{***}	0	100
<i>L.fermentum</i>	23.945±0.86 ^{***}	13.79±0.5 ^{***}	6.475±1.21 ^{***}	0	100

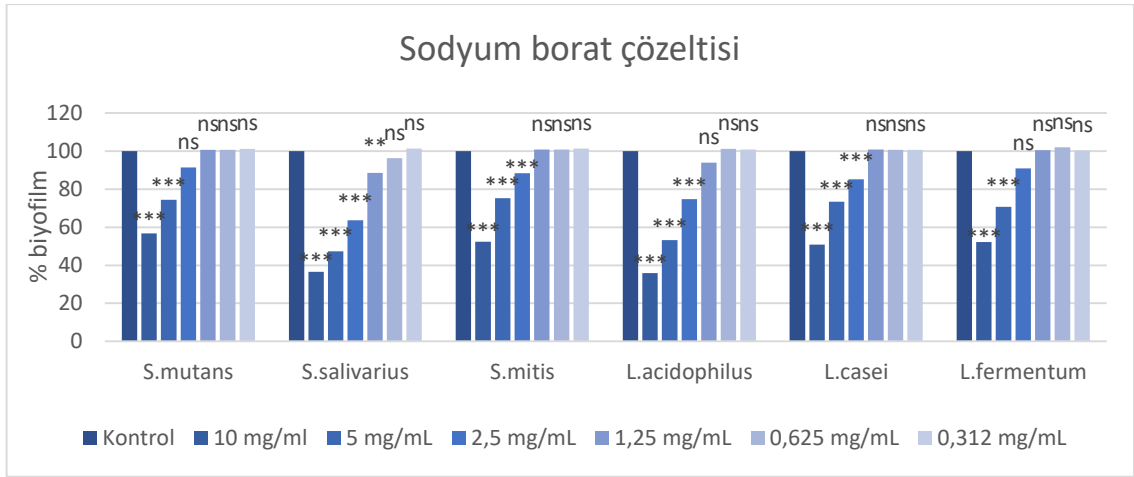
p>0.05 = ns önemsiz, *p<0.05 önemli, **p<0.01 çok önemli, ***p<0.001 yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder



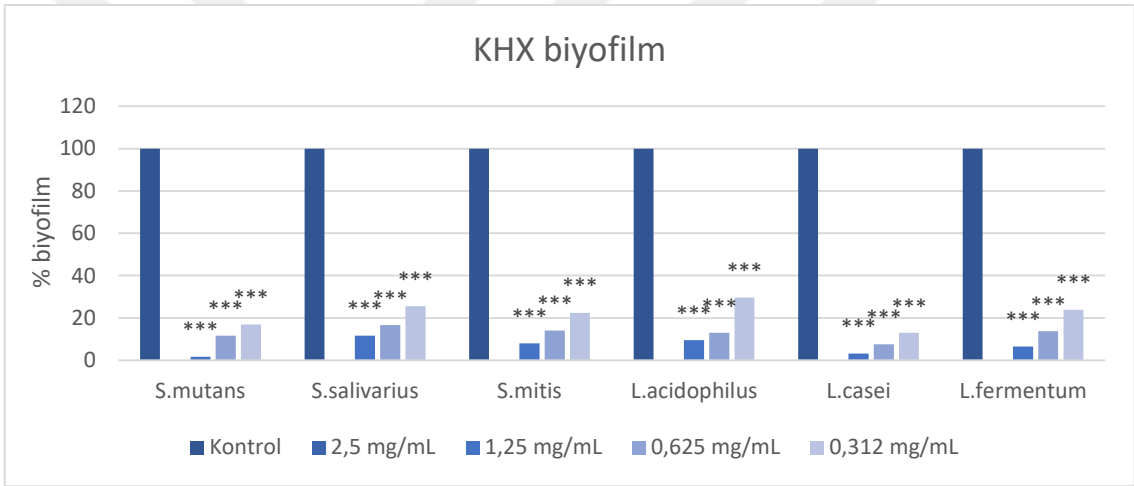
Şekil 4.1. Bor nitrür nanosüspansiyonu % biyofilm oranları
 $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder



Şekil 4.2. Borik asit çözeltisi % biyofilm oranları
 $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder



Şekil 4.3. Sodyum borat çözeltisi % biyofilm oranları
 $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder



Şekil 4.4. KHX % biyofilm oranları
 $p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder

4.2. Sitotoksikite Testi Bulguları

4.2.1. MTT Testi Bulguları

MTT testi sonucunda elde edilen % canlılık oranı ve hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyonu temsil eden IC_{50} değerleri Tablo 4.7.'de ve Şekil 4.5.'de sunulmuştur.

MTT testinin sonuçlarına göre hindistan cevizi yağının 0.156 ve 1.25-5 mg/ml, hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonunun 0.156-1.25 mg/ml, propolisin 0.156-5 mg/ml, propolis nanoemülsiyonunun 0.156-2.5 mg/ml, kekik ekstresi ve kekik ekstresi nanoemülsiyonunun 0.312-5 mg/ml, bor nitrürün 0.156-5 mg/ml, bor nitrür

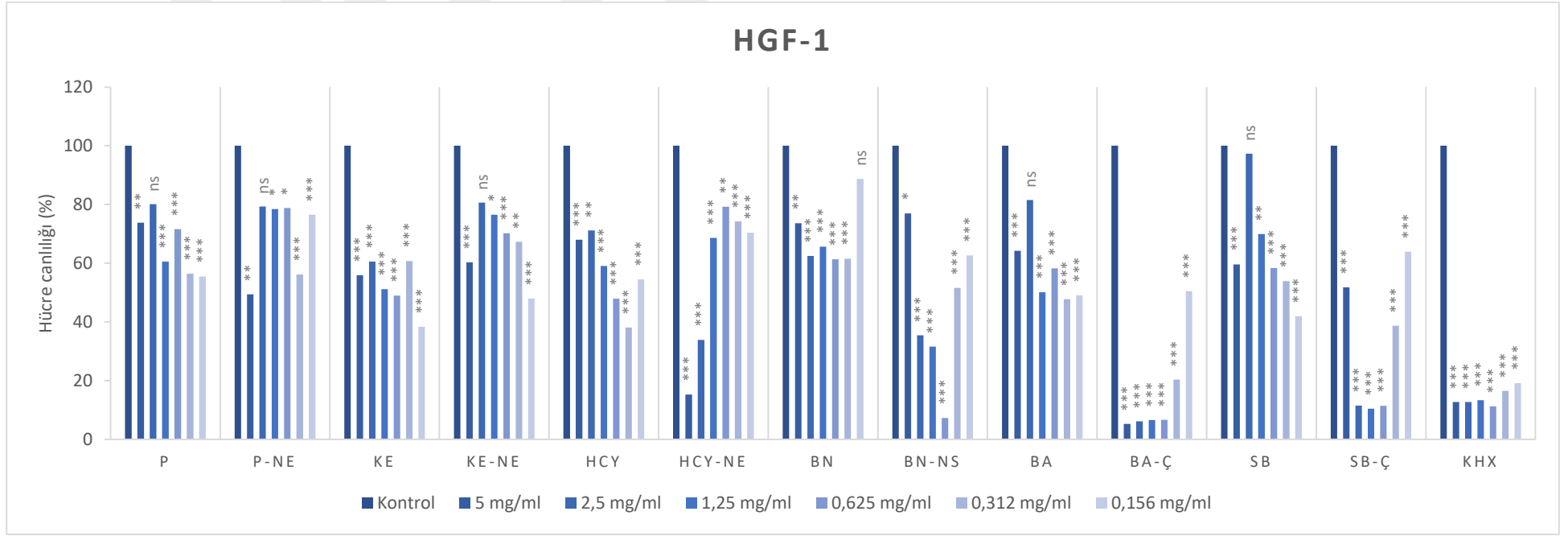
nanoemülsiyonunun 0.156 ve 5 mg/ml, borik asitin 0.625, 2.5 ve 5 mg/ml, sodyum boratın 0.625-5 mg/ml ve sodyum borat çözeltisinin 0.156 ve 5 mg/ml konsantrasyonlarda kontrole kıyasla sitotoksik etki gösterdiği fakat hücre canlılığının % 50'nin üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Test materyallerinin diğer tüm konsantrasyonlarında ise sitotoksik etki gösterdiği ve hücre canlılığını % 50'nin altına düşürdüğü gözlemlenmiştir. Çalışmada, HGF-1 hücreleri üzerinde doz bağımlı olarak sitotoksik etkisi en yüksek olan maddenin borik asit çözeltisi olduğu ($IC_{50}:0.002\pm0.166$) sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte pozitif kontrol olarak kullanılan KHX'in ($IC_{50}:0.731\pm0.012$) yine doza bağımlı bir şekilde HGF-1 hücrelerinde ciddi sitotoksik etkilere sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 4.7. MTT testi sonucunda % canlılık oranları

	0,156 mg/mL	0,312 mg/mL	0,625 mg/mL	1,25 mg/mL	2,5 mg/mL	5 mg/mL	Kontrol	IC ₅₀ (mg/ml)
P	55,52***	56,48***	71,59***	60,53***	80,09 ^{ns}	73,85**	100	129,251±0,141
P-NE	76,55***	56,15***	78,81*	78,47*	79,35 ^{ns}	49,47***	100	5,226±0,184
KE	38,36***	60,77***	49,03***	51,14***	60,53***	55,96***	100	0,249±0,073
KE-NE	48,05***	67,31**	70,24***	76,55*	80,63 ^{ns}	60,28***	100	3,474±0,109
HCY	54,48***	38,10***	47,90***	59,05***	71,19**	68***	100	0,976±0,121
HCY-NE	70,38***	74,27***	79,25**	68,64***	33,94***	15,26***	100	1,655±0,381
BN	88,69 ^{ns}	61,56***	61,36***	65,66***	62,48***	73,65**	100	7,329±0,099
BN-NS	62,66***	51,66***	7,33***	31,66***	35,5***	77*	100	6,454±0,204
BA	49,08***	47,80***	58,25***	50,16***	81,56 ^{ns}	64,26***	100	1,529±0,120
BA-Ç	50,49***	20,41***	6,68***	6,61***	6,19***	5,30***	100	0,002±0,166
SB	41,95***	53,89***	58,35***	69,92**	97,29 ^{ns}	59,64***	100	17,256±0,108
SB-Ç	63,94***	38,69***	11,40***	10,45***	11,54***	51,80***	100	5,564±0,265
KHX	19,16***	16,56***	11,27***	13,36***	12,77***	12,74***	100	0,731±0,012

p>0.05 = ns önemsiz, *p<0.05 önemli, **p<0.01 çok önemli, ***p<0.001 yüksek derecede önemli, kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder
Kontrol: Hiçbir test materyalinin uygulanmadığı canlı hücre grubu



Şekil 4.5. MTT testi sonucunda % canlılık oranları grafiği

$p > 0.05$ = ns önemsiz, $*p < 0.05$ önemli, $**p < 0.01$ çok önemli, $***p < 0.001$ yüksek derecede önemli, Kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder
Kontrol: Hiçbir test materyalinin uygulanmadığı canlı hücre grubu

4.2.1. LDH Testi Bulguları

LDH testi bulguları Tablo 4.8’de ve Şekil 4.6’da sunulmuştur. LDH testinin sonuçlarına göre hindistan cevizi yağının 0.156 ve 1.25-5 mg/ml, hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonunun 0.156-1.25 mg/ml, propolis ve propolis nanoemülsiyonunun 0.156-5 mg/ml, kekik ve kekik nanoemülsiyonunun 0.156-2.5 mg/ml, borik asitin 0.156-5 mg/ml, bor nitrürün 0.156-1.25 mg/ml, bor nitrür nanoemülsiyonunun 0.156 mg/ml, borik asit çözeltisinin 0.156 mg/ml, sodyum boratın 0,312-5 mg/ml ve sodyum borat çözeltisinin 0.156 mg/ml konsantrasyonlarında LDH aktivitesinin % 50’nin altında olduğu; dolayısıyla maddelerin bu konsantrasyonlarda sitotoksik etkilerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Borik asit çözeltisinin doz bağımlı olarak en yüksek LDH aktivitesine sahip olduğu dolayısıyla sitotoksik etkisinin yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte pozitif kontrol olarak kullanılan KHX’in de 0.156-2.5 mg/ml konsantrasyonlarda LDH aktivitesinin %50’nin altında olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.8. LDH testi sonucunda % LDH aktivitesi

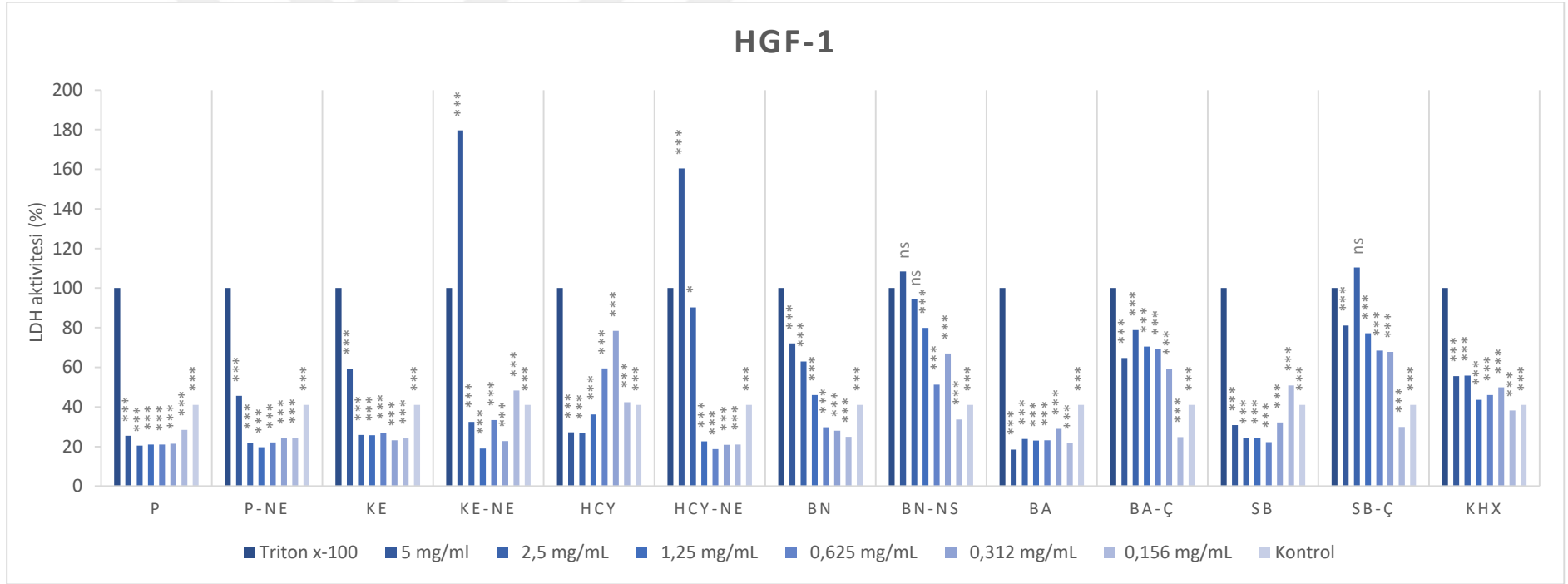
	0,156 mg/mL	0,312 mg/mL	0,625 mg/mL	1,25 mg/mL	2,5 mg/mL	5 mg/mL	Kontrol	Triton x-100
P	28.45***	21.42***	20.98***	21.08***	20.45***	25.48***	41	100
P-NE	24.50***	24.06***	22.06***	19.67***	21.81***	45.63***	41	100
KE	24.06***	23.13***	26.74***	25.72***	25.90***	59.35***	41	100
KE-NE	48.27***	22.79***	33.38***	18.98***	32.46***	179.62***	41	100
HCY	42.46***	78.49***	59.45***	36.21***	26.70***	27.23***	41	100
HCY-NE	21.05***	20.92***	18.69***	22.64***	90.30*	160.39***	41	100
BN	24.94***	28.06***	29.72***	46.02***	63.01***	72.14***	41	100
BN-NS	33.63***	66.97***	51.30***	79.90***	94.35 ^{ns}	108.36 ^{ns}	41	100
BA	21.77***	28.94***	23.18***	23.03***	23.91***	18.49***	41	100
BA-Ç	24.84***	59.06***	69.11***	70.53***	78.78***	64.77***	41	100
SB	50.86***	32.21***	22.30***	24.21***	24.30***	30.84***	41	100
SB-Ç	29.87***	67.75***	68.53***	77.17***	110.46 ^{ns}	81.07**	41	100
KHX	38.17***	49.88***	45.98***	43.67***	55.89***	55.54***	41	100

p>0.05 = ns önemsiz, *p<0.05 önemli, **p<0.01 çok önemli, ***p<0.001 yüksek derecede önemli,

Negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil eder

Triton x-100: Negatif kontrol

Kontrol: Hiçbir test materyalinin uygulanmadığı grup (pozitif kontrol)



Şekil 4.6. LDH testi sonucunda % LDH aktivitesi grafiği

$p > 0.05$ = ns önemsiz, * $p < 0.05$ önemli, ** $p < 0.01$ çok önemli, *** $p < 0.001$ yüksek derecede önemli

Triton x-100: Negatif kontrol

Kontrol: Hiçbir test materyalinin uygulanmadığı grup (pozitif kontrol)

Elde edilen MTT ve LDH testi sonuçları birlikte göz önüne alındığında; hindistan cevizi yağının, propolis, propolis nanoemülsiyonunun, kekik ekstresi, kekik ekstresi nanoemülsiyonunun borik asit ve sodyum boratın düşük LDH aktivitesi, yüksek hücre canlılığı gösterdiği; bunun sonucu olarak önemli sitotoksik etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir. Bununla birlikte bor nitrürün nanoemülsiyonu, sodyum borat çözeltisi ve borik asit çözeltisinin ise yüksek LDH aktivitesine, düşük hücre canlılığına sahip olduğu böylelikle yüksek sitotoksik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bor nitrürün ve hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonunun yüksek konsantrasyonlarında ise yine LDH aktivitesinin yüksek olduğu dolayısıyla yüksek dozlarda yüksek sitotoksik etkiye sahip oldukları bulunmuştur.

4.3. Mikrosertlik Testi Bulguları

Mine ve kompozit rezin örneklerin solüsyonlara maruz bırakılmadan önceki ve maruz bırakıldıktan sonraki ortalama yüzey sertliği değerleri ve bu değerler arasındaki farklar (ortalama $\pm$ standart sapma) Tablo 4.9. ve Tablo 4.10'da verilmiştir.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre mine örneklerinde (Tablo 4.9), grupların kendi içinde solüsyonlara maruz bırakılmadan önceki ve solüsyonlara maruz bırakıldıktan sonraki yüzey sertliği değerleri karşılaştırıldığında SB-Ç grubu istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0.017$), bu grupta yüzey sertliği artışı görülmektedir ($\Delta VHN=26.01\pm9.36$). Diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0,05$).

Mine örneklerinde yüzey sertliği değişimi (ΔVHN) değerlerine bakıldığında en yüksek ΔVHN değerini SB-Ç grubu (26.01 ± 9.36) , en düşük ΔVHN değerini ise HCY-NE grubu (1.39 ± 8.21) göstermiştir ancak gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ΔVHN değerlerinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir ($p=0.319$).

Tablo 4.9. Mine örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (VHN ÖNCE),uygulandıktan sonra (VHN SONRA) mikrosertlik değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ VHN) ortalama ve standart sapmaları

Örnek	Gruplar	Δ VHN	VHN ÖNCE	VHN SONRA	p ⁺
Mine	Propolis (P)	9.01± 9.98 ^A	203.07±11.08 ^a	212.08±10.86 ^a	0.384
	Kekik ekstresi (KE)	-12.03±9.10 ^A	207.87±9.30 ^a	195.84±8.88 ^a	0.211
	Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	13.37±15.05 ^A	216.86±11.66 ^a	230.24±9.74 ^a	0.392
	Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	7.49±9.93 ^A	226.11±9.91 ^a	233.70±4.78 ^a	0.465
	Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	1.39±8.21 ^A	222.29±6.55 ^a	223.69±6.89 ^a	0.868
	Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	6.39±10.86 ^A	215.43±7.54 ^a	221.83±9.15 ^a	0.567
	Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	18.17±8.56 ^A	201.30±9.68 ^a	219.47±8.74 ^a	0.055
	Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	26.01±9.36 ^A	210.53±8.41 ^a	236.55±4.94 ^b	0.017 *
	Klorheksidin (KHx)	11.34±6.91 ^A	204.70±11.82 ^a	216.04±8.91 ^a	0.127
	Distile su (DS) (Kontrol)	22.61±10.77 ^A	196.07±11.79 ^a	218.68±10.16 ^a	0.058
p ⁺⁺		0.319	-	-	

+: öncesi ve sonrası ölçümlerinin karşılaştırılması (Paired Samples Test), ++: oral çalkalama solüsyonlarının karşılaştırılması sonuçları (One Way Anova).

*: p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark.

Farklı büyük harfler sütunlardaki, farklı küçük harfler satırlardaki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Kompozit rezin örneklerinde (Tablo 4.10.) ise grupların kendi içinde solüsyonlara maruz bırakılmadan önceki ve solüsyonlara maruz bırakıldıktan sonraki yüzey sertliği değerlerinin karşılaştırılmasında P grubu istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,001^*$), bu grupta yüzey sertliğinde azalma görülmektedir ($\Delta VHN= -7.86\pm1.77$).

Kompozit rezin örneklerinde en yüksek ΔVHN değeri P grubunda (7.86 ± 1.77) gözlemlenirken en düşük ΔVHN değeri KE-NE (0.46 ± 2.16) grubunda gözlemlenmiştir. ΔVHN değerlerine göre gruplar arası karşılaştırma yapıldığında P grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunurken ($p=0.009$), diğer gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

Tablo 4.10. Kompozit rezin örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (VHN ÖNCE),uygulandıktan sonra (VHN SONRA) mikrosertlik değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ VHN) ortalama ve standart sapmaları

Örnek	Gruplar	Δ VHN	VHN ÖNCE	VHN SONRA	p ⁺
	Propolis (P)	-7.89±1.77 ^A	36.06±1.80 ^a	28.19±0.87 ^b	0.001*
	Kekik ekstresi (KE)	-1.86±1.45 ^{A,B}	33.25±1.13 ^a	31.38±1.02 ^a	0.225
	Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	-3.75±2.65 ^{A,B}	37.10±2.06 ^a	33.34±1.54 ^a	0.182
	Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	0.46±2.16 ^{A,B}	31.32±1.76 ^a	31.79±1.40 ^a	0.832
Kompozit	Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	0.92±0.94 ^B	30.31±0.88 ^a	31.23±0.84 ^a	0.347
	Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	1.35±1.11 ^B	27.34±1.05 ^a	28.70±0.69 ^a	0.247
	Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	-0.76±2.64 ^{A,B}	30.25±3.21 ^a	29.48±1.06 ^a	0.778
	Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	-3.70±2.04 ^{A,B}	34.66±2.26 ^a	30.95±0.88 ^a	0.95
	Klorheksidin (KHx)	1.22±1.17 ^B	24.80±0.92 ^a	26.02±1.20 ^a	0.318
	Distile su (DS) (Kontrol)	1.61±1.46 ^B	27.76±1.17 ^a	29.37±0.92 ^a	0.294
	p⁺⁺	0.009 *	-	-	

+: öncesi ve sonrası ölçümlerinin karşılaştırılması (Paired Samples Test), ++: oral çalkalama solüsyonlarının karşılaştırılması sonuçları (One Way Anova).

*: p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı fark.

Farklı büyük harfler sütunlardaki, farklı küçük harfler satırlardaki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Her solüsyon için mine ve kompozit rezin örneklerinde yüzey sertliği değişimi (Δ VHN) değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4.11.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Kompozit ve mine örneklerinin Δ VHN değerlerinin karşılaştırılması

Gruplar	Örnekler	Δ VHN	p+
Propolis (P)	Mine	9,01 $\pm$ 9,98	0,109
	Kompozit	-7,86 $\pm$ 1,77	
Kekik Ekstresi (KE)	Mine	-12,03 $\pm$ 9,10	0,281
	Kompozit	-1,86 $\pm$ 1,45	
Propolis Nanoemülsiyonu (P-NE)	Mine	13,37 $\pm$ 15,05	0,273
	Kompozit	-3,75 $\pm$ 2,65	
Kekik Ekstresi Nanoemülsiyonu (KE-NE)	Mine	7,49 $\pm$ 9,93	0,496
	Kompozit	0,46 $\pm$ 2,16	
Hindistan Cevizi Yağı Nanoemülsiyonu (HCY-NE)	Mine	1,39 $\pm$ 8,21	0,955
	Kompozit	0,92 $\pm$ 0,94	
Bor Nitrür Nanosüspansiyonu (BN-NS)	Mine	6,39 $\pm$ 10,86	0,649
	Kompozit	1,35 $\pm$ 1,11	
Borik Asit Çözeltisi (BA-Ç)	Mine	18,17 $\pm$ 8,56	0,045*
	Kompozit	-0,76 $\pm$ 2,64	
Sodyum Borat Çözeltisi (SB-Ç)	Mine	26,01 $\pm$ 9,36	0,05*
	Kompozit	-3,70 $\pm$ 2,04	
Klorheksidin (KHX)	Mine	11,34 $\pm$ 6,91	0,162
	Kompozit	1,22 $\pm$ 1,17	
Distile Su (DS) (Negatif kontrol)	Mine	22,61 $\pm$ 10,77	0,65
	Kompozit	1,61 $\pm$ 1,46	

+: (Independent samples test) *: p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark.

Mine ve kompozit rezin örneklerin Δ VHN değerleri her solüsyon için karşılaştırıldığında karşılaştırıldığında SB-Ç grubunda ve BA-Ç grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0.05).

4.4. Pürüzlülük Testi Bulguları

Mine ve kompozit rezin örneklerin solüsyonlara maruz bırakılmadan önceki ve maruz bırakıldıktan sonraki ortalama yüzey pürüzlülüğü değerleri ve bu değerler arasındaki farklar (ortalama $\pm$ standart sapma) Tablo 4.12. ve Tablo 4.13.'de verilmiştir.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre mine örneklerinde (Tablo 4.12.), grupların kendi içinde solüsyonlara maruz bırakılmadan önceki ve solüsyonlara maruz bırakıldıktan sonraki yüzey pürüzlülüğü değerleri karşılaştırılmasında KE-NE grubu

istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0.012$), bu grupta yüzey pürüzlülüğünde azalma görülmektedir ($\Delta Ra = -0.11 \pm 0.03$). Diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0.05$).

Yüzey pürüzlülüğü değişimi (ΔRa) değerlerine bakıldığında en yüksek ΔRa değerini KE-NE grubu (-0.11 ± 0.03), en düşük ΔRa değerini ise P-NE grubu (0.009 ± 0.07) göstermiştir ancak gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ΔRa değerlerinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir ($p=0.320$).



Tablo 4.12. Mine örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (Ra ÖNCE),uygulandıktan sonra (Ra SONRA) ortalama yüzey pürüzlülüğü değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ Ra) ortalama ve standart sapmaları

Örnek	Gruplar	Δ Ra	Ra ÖNCE	Ra SONRA	p ⁺
Mine	Propolis (P)	-0.07±0.03 ^A	0.71±0.04 ^a	0.63±0.03 ^a	0.054
	Kekik ekstresi (KE)	-0.06±0.05 ^A	0.67±0.05 ^a	0.61±0.04 ^a	0.317
	Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	-0.009±0.07 ^A	0.70±0.04 ^a	0.69±0.07 ^a	0.894
	Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	-0.11±0.03 ^A	0.70±0.04 ^a	0.58±0.03 ^b	0.012 *
	Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	-0.07±0.03 ^A	0.74±0.2 ^a	0.67±0.03 ^a	0.068
	Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	-0.01±0.03 ^A	0.68±0.06 ^a	0.66±0.07 ^a	0.692
	Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	-0.02±0.06 ^A	0.74±0.07 ^a	0.71±0.06 ^a	0.799
	Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	-0.02±0.06 ^A	0.77±0.06 ^a	0.74±0.09 ^a	0.653
	Klorheksidin (KHx)	0.10±0.07 ^A	0.71±0.05 ^a	0.81±0.08 ^a	0.209
	Distile su (DS) (Kontrol)	0.07±0.06 ^A	0.73±0.05 ^a	0.80±0.06 ^a	0.275
p ⁺⁺		0.32	-	-	

+: öncesi ve sonrası ölçümlerinin karşılaştırılması (Paired Samples Test), ++: oral çalkalama solüsyonlarının karşılaştırılması sonuçları (One Way Anova).

*: p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı fark.

Farklı büyük harfler sütunlardaki, farklı küçük harfler satırlardaki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Kompozit rezin örneklerinde ise (Tablo 4.13.) grupların kendi içinde solüsyonlara maruz bırakılmadan önceki ve solüsyonlara maruz bırakıldıktan sonraki yüzey pürüzlülüğü değerleri karşılaştırılmasında HCY-NE grubu istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0.001$), bu grupta yüzey pürüzlülüğünde azalma görülmektedir ($\Delta Ra = -0.41 \pm 0.07$).

ΔRa değerlerine bakıldığında en yüksek ΔRa değeri HCY-NE grubunda (-0.41 ± 0.07) gözlemlenirken en düşük ΔRa değeri DS (kontrol) (0.008 ± 0.10) grubunda gözlemlenmiştir. Kompozit rezin örneklerinde ΔRa değerlerine göre gruplar arası karşılaştırma yapıldığında tüm gruplar HCY-NE grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterse de ($p<0.001$), DS (kontrol) grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4.13. Kompozit rezin örneklerinin, test solüsyonları uygulanmadan önce (Ra ÖNCE),uygulandıktan sonra (Ra SONRA) ortalama yüzey pürüzlülüğü değerlerinin ve iki değer arasındaki farkın (Δ Ra) ortalama ve standart sapmaları

Örnek	Gruplar	Δ Ra	Ra ÖNCE	Ra SONRA	p ⁺
	Propolis (P)	0.17±0.10 ^A	0.48±0.09 ^a	0.66±0.05 ^b	0.118
	Kekik ekstresi (KE)	0.20±0.10 ^A	0.66±0.11 ^a	0.87±0.04 ^a	0.075
	Propolis nanoemülsiyonu (P-NE)	0.12±0.10 ^A	0.54±0.07 ^a	0.67±0.05 ^a	0.234
	Kekik ekstresi nanoemülsiyonu (KE-NE)	0.08±0.07 ^A	0.71±0.05 ^a	0.79±0.07 ^a	0.307
Kompozit	Hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu (HCY-NE)	-0.41±0.07 ^B	0.81±0.06 ^a	0.39±0.04 ^b	<0.001 *
	Bor nitrür nanosüspansiyonu (BN-NS)	0.02±0.08 ^A	0.54±0.07 ^a	0.57±0.05 ^a	0.734
	Borik asit çözeltisi (BA-Ç)	0.19±0.09 ^A	0.61±0.08 ^a	0.81±0.09 ^a	0.063
	Sodyum borat çözeltisi (SB-Ç)	0.09±0.08 ^A	0.68±0.07 ^a	0.77±0.04 ^a	0.319
	Klorheksidin (KHX)	0.09±0.07 ^A	0.51±0.03 ^a	0.61±0.07 ^a	0.268
	Distile su (DS) (Kontrol)	0.008±0.10 ^{A,B}	0.70±0.07 ^a	0.71±0.27 ^a	0.94
	p⁺⁺	<0.001 *	-	-	

+: öncesi ve sonrası ölçümlerinin karşılaştırılması (Paired Samples Test), ++: oral çalkalama solüsyonlarının karşılaştırılması sonuçları (One Way Anova).

*: p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark.

Farklı büyük harfler sütunlardaki, farklı küçük harfler satırlardaki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

Her solüsyon için mine ve kompozit rezin örneklerinde yüzey pürüzlülüğü değişimi (ΔRa) değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4.14’de gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Kompozit ve mine örneklerinin ΔRa değerlerinin karşılaştırılması

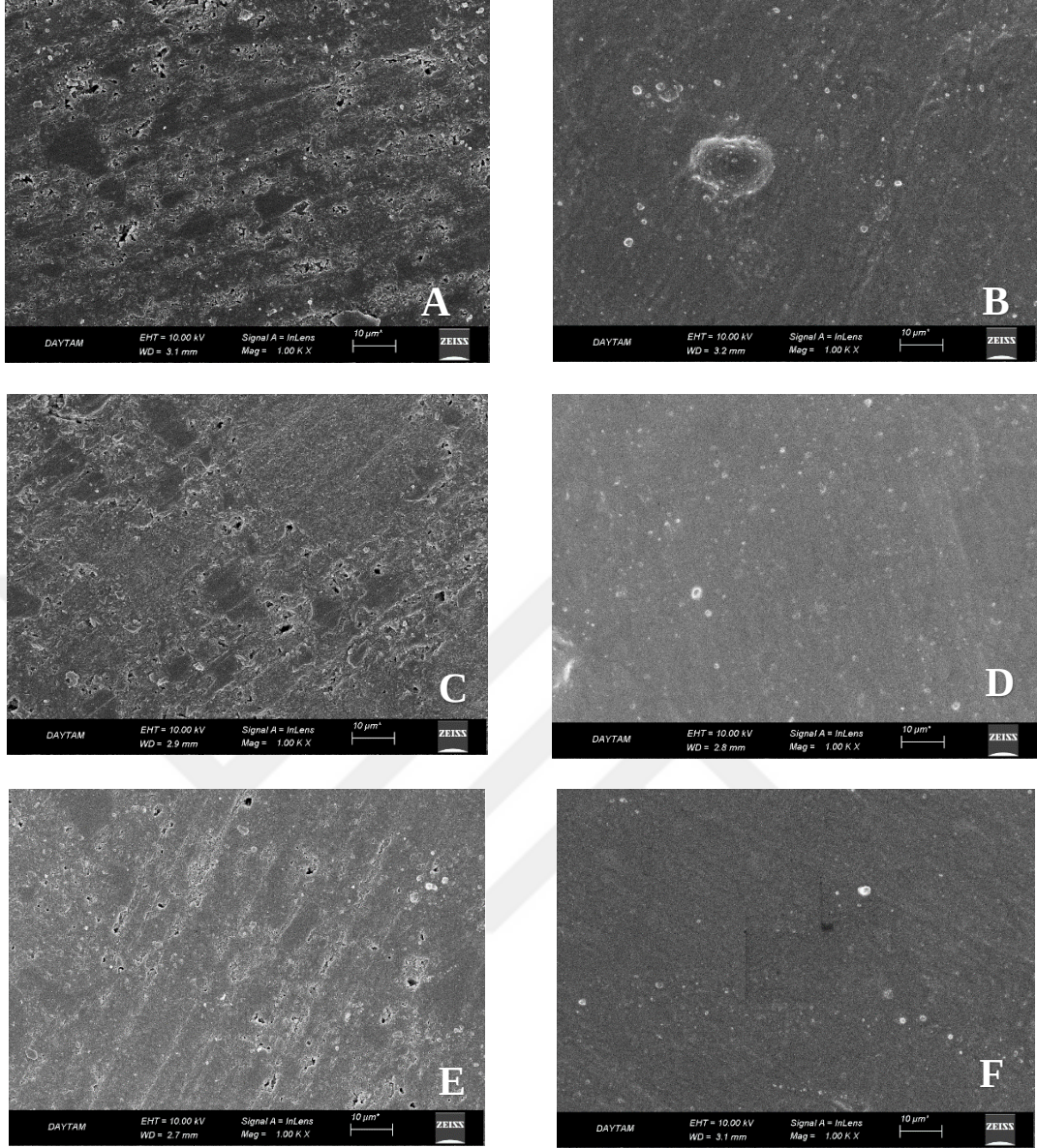
Gruplar	Örnekler	ΔRa	p+
Propolis (P)	Mine	-0,07±0,03	0,032*
	Kompozit	0,17±0,10	
Kekik Ekstresi (KE)	Mine	-0,06±0,05	0,037*
	Kompozit	0,20±0,10	
Propolis Nanoemülsiyonu (P-NE)	Mine	-0,009±0,07	0,281
	Kompozit	0,12±0,10	
Kekik Ekstresi Nanoemülsiyonu (KE-NE)	Mine	-0,11±0,03	0,032*
	Kompozit	0,08±0,07	
Hindistan Cevizi Yağı Nanoemülsiyonu (HCY-NE)	Mine	-0,07±0,03	<0,001*
	Kompozit	-0,41±0,07	
Bor Nitrür Nanosüspansiyonu (BN-NS)	Mine	-0,01±0,03	0,648
	Kompozit	0,02±0,08	
Borik Asit Çözeltisi (BA-Ç)	Mine	-0,02±0,06	0,129
	Kompozit	0,19±0,09	
Sodyum Borat Çözeltisi (SB-Ç)	Mine	-0,02±0,06	0,276
	Kompozit	0,09±0,08	
Klorheksidin (KHx)	Mine	0,10±0,07	0,909
	Kompozit	0,09±0,07	
Distile Su (DS) (Negatif kontrol)	Mine	0,07±0,06	0,604
	Kompozit	0,008±0,10	

+: (Independent samples test) *: p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı fark.

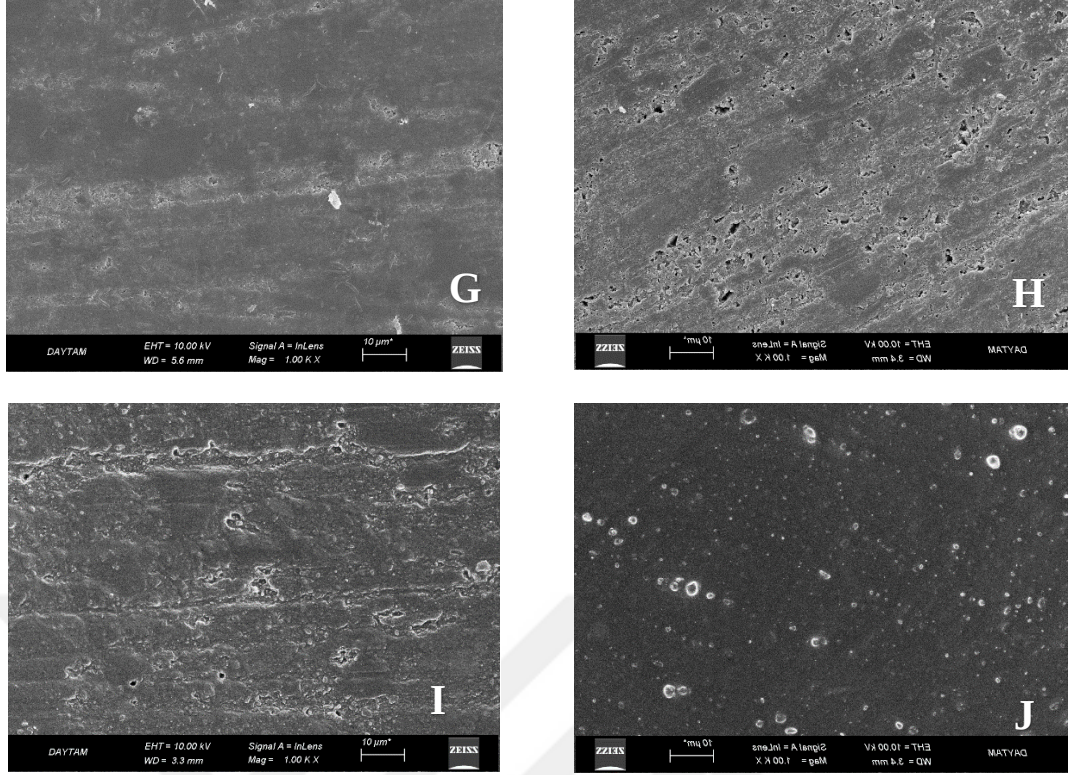
Mine ve kompozit rezin örneklerin ΔRa değerleri her solüsyon için karşılaştırıldığında P, KE, KE-NE ve HCY-NE grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0.05).

4.5. SEM Görüntülerinin Değerlendirilmesi

Kompozit rezin ve mine örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de sunulmuştur.



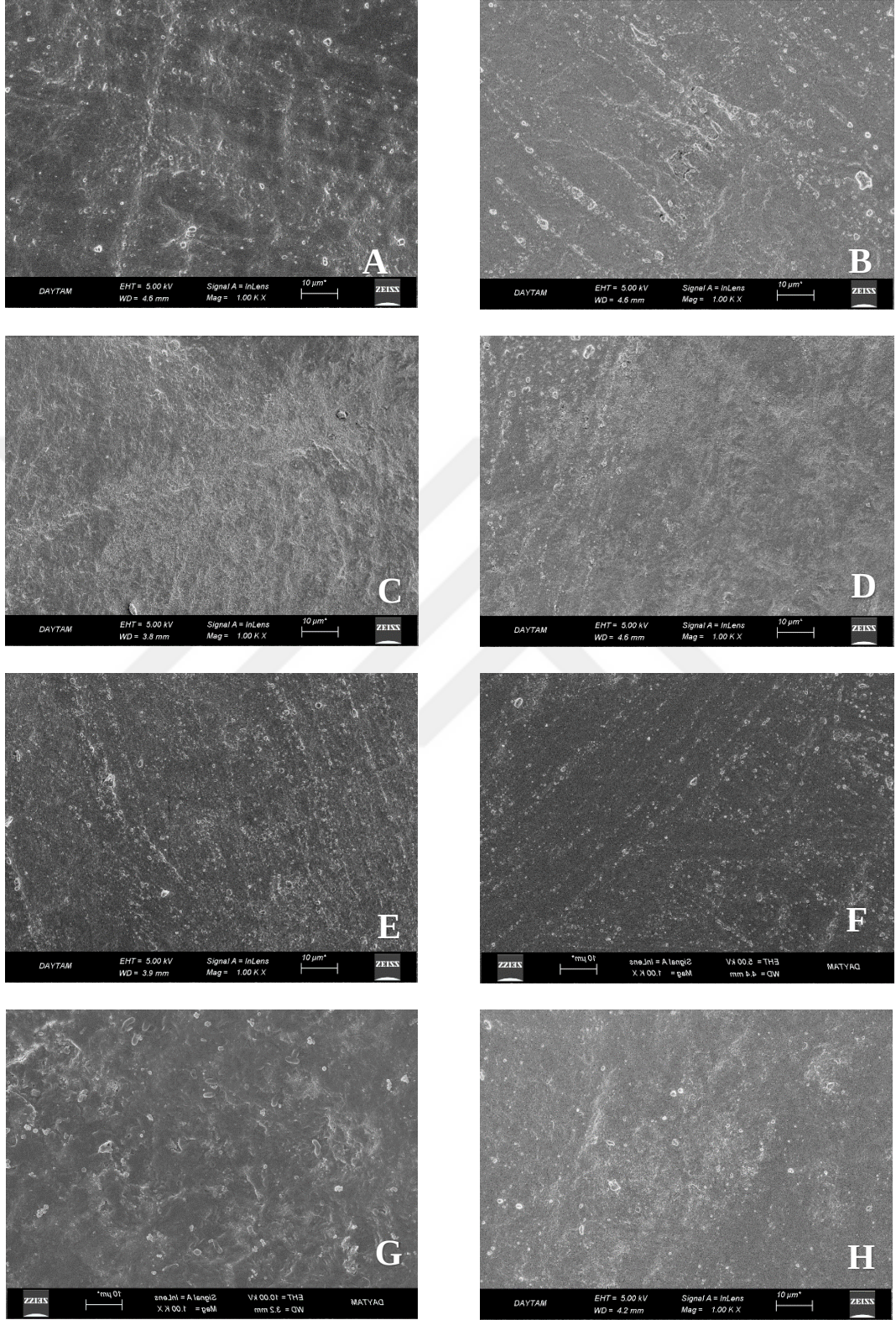
Şekil 4.7. Kompozit rezin örneklerinin x1000 büyütme altında SEM görüntüleri
A: DS (kontrol) grubu, B: KHx grubu, C: P grubu, D: P-NE grubu, E: KE grubu, F: KE-NE grubu, G: HCY-NE grubu, H: BN-NS grubu, I: BA-Ç grubu, J: SB-Ç grubu



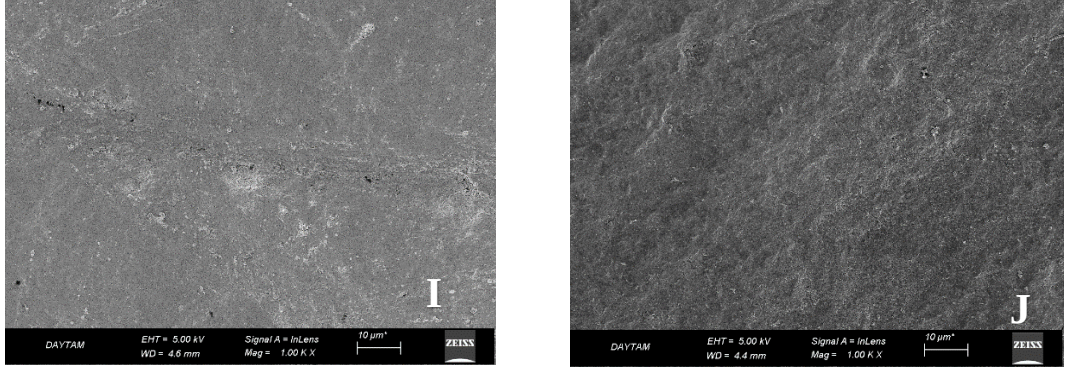
Şekil 4.7. Kompozit rezin örneklerinin x1000 büyütme altında SEM görüntüleri (Devamı)

A: DS (kontrol) grubu, **B:** KHX grubu, **C:** P grubu, **D:** P-NE grubu, **E:** KE grubu, **F:** KE-NE grubu, **G:** HCY-NE grubu, **H:** BN-NS grubu, **I:** BA-Ç grubu, **J:** SB-Ç grubu

Kompozit rezin örneklerinin SEM görüntüleri değerlendirildiğinde, kontrol grubunda belirgin pürüzlülük alanları ve mikrogözenekli bir yapı izlenmektedir. HCY-NE grubunda ise yüzey pürüzlülüğü bulgularına paralel olarak, gözenekli yapının HCY-NE tanecikleri tarafından doldurulduğu ve daha pürüzsüz bir yapının oluştuğu görülmektedir. Diğer gruplarda ise kontrol grubunda izlenen gözenekli yapıya paralel görüntüler izlenmektedir.



Şekil 4.8. Mine örneklerinin x1000 büyüme altında SEM görüntüleri
A: DS (kontrol) grubu, **B:** KHX grubu, **C:** P grubu, **D:** P-NE grubu, **E:** KE grubu, **F:** KE-NE grubu, **G:** HCY-NE grubu, **H:** BN-NS grubu, **I:** BA-Ç grubu, **J:** SB-Ç grubu



Şekil 4.8. Mine örneklerinin x1000 büyüme altında SEM görüntüleri (Devamı)
A: DS (kontrol) grubu, B: KHX grubu, C: P grubu, D: P-NE grubu, E: KE grubu, F: KE-NE grubu, G: HCY-NE grubu, H: BN-NS grubu, I: BA-Ç grubu, J: SB-Ç grubu

Mine örneklerinin SEM görüntüleri incelendiğinde KE-NE grubunda, kontrol grubunda izlenen gözenekli yapının kaybolduğu, daha homojen bir mine morfolojisi görülmektedir. Diğer gruplarda elde edilen görüntüler ise kontrol grubuna benzerdir, belirgin bir farklılık görülmemektedir.

5. TARTIŞMA

Diş çürükleri dünyada en yaygın görülen sağlık sorunlarından biridir. Genetik, biyolojik, çevresel, davranışsal birçok faktörün rol aldığı çürük oluşum mekanizmasında ana etkenlerden biri de mikrobiyal dental plağın yapısında bulunan karyojenik bakterilerdir (Nasidze ve ark., 2009). Birçok türü yapısında barındıran mikrobiyal dental plakta çürükle ilişkilendirilen primer patojen *S.mutans*'tır. *S.mutans* daha çok başlangıç çürüklerinin oluşumu ile ilişkilendirilir. Streptokok türlerinden *S.salivarius* ve *S.mitis* de çürükle ilişkilendirilmiştir (AlEraky ve ark., 2021; Becker ve ark., 2002; Gross ve ark., 2012). Kavite oluştuğu derin çürük lezyonlarında ise baskın mikroorganizma daha çok laktobasillerdir. *L.acidophilus* derin dentin çürükleri ile ilişkilendirilir ve çürüğün sekonder patojeni olarak adlandırılır. *L.fermentum* ve *L.casei* de çürük oluşumunda etkili olduğu kabul edilen laktobasil türleri arasındadır (Ademe ve ark., 2020; Gross ve ark., 2012; Neves ve ark., 2017; Tänzer & Livingston, 2001).

Davranışsal faktörlerinde etkili olduğu çürük oluşum süreci ağız hijyeninin sağlandığı düzenli bir temizlik rutini ile yönetilebilir. Ağız hijyeni uygulamaları ile dental biyofilmlerin etkin bir şekilde bozulması, ağız sağlığının ve diş yapısının korunmasında, çürük lezyonlarının önlenmesinde önceliklidir (Selwitz ve ark., 2007b). Diş fırçalama, diş ipi kullanımı gibi mekanik yöntemler dental plağı gidermede ve ağız sağlığının korunmasında birincil yöntem olarak kabul edilse de, kemoterapötik ajanlar içeren oral çalkalama solüsyonları, diş fırçalamayı tamamlamak ve plak oluşumunu azaltmak için yaygın şekilde kullanılmaktadır (Brookes ve ark., 2020). Kimyasal olarak çeşitli antimikrobiyal ajanlar içeren oral çalkalama solüsyonları, kullanım kolaylığı nedeniyle ağız hijyeninin sağlanmasında iyi bir yöntem olarak kabul edilmiştir (Lakade ve ark., 2014). Bu amaçla yaygın olarak kullanılan ajan KHX' dir. KHX, gram pozitif ve gram negatif bakterilere, mayalara ve virüslere karşı etkinliği kanıtlanmış altın standart antiplak

ajanıdır (Cieplik ve ark., 2019). Ancak KHX'nin yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında mukoza erozyonuna, supragingival diş taşı oluşumuna, dişlerde ve restorasyonlarda lekelenmeye sebep olduğu bilinmektedir (Eriksen ve ark., 1985; Marinone & Savoldi, 2000). Ayrıca periodontal ligament hücrelerindeki protein sentezini inhibe ettiği, epitel hücrelerine, gingival fibroblastlara karşı sitotoksik olduğu da bildirilmiştir (Liu ve ark., 2018). KHX'nin kanıtlanmış etkinliğine rağmen sahip olduğu bu dezavantajlar, KHX ile kıyaslanabilecek etkinliğe sahip ancak bu dezavantajları barındırmayan alternatif ajanların arayışına yol açmıştır. Son zamanlarda, birçok araştırmacı potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak bitkisel ekstraktlar, uçucu yağlar, doğada bulunan bileşikler ve yeni sentezlenmiş moleküllerin araştırılmasına odaklanmıştır (Balouiri ve ark., 2016). Doğal bitkisel ajanlar gösterdikleri terapötik etkiler sebebiyle yıllardır kimyasal bileşenlere alternatif ucuz, etkin, yan etkisi az ajanlar olarak kullanılmaktadır (Kanth, 2016). Bor türevleri de antibakteriyel etkinliği ile çalışmalara konu olan maddeler arasındadır (Aral et al., 2020; Francesco De Seta et al., 2009; Woods, 1994).

Bu bağlamda çalışmamızda; hindistan cevizi yağı, propolis, kekik ekstresi olmak üzere 3 farklı doğal maddenin, bor nitrür, borik asit, sodyum borat olmak üzere 3 farklı bor türevinin ve bu maddeler ile hazırlanan oral çalkalama solüsyonlarının; diş çürüğü etkeni bakteriler olan *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus fermentum* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkinlikleri ve diş fibroblast hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri değerlendirildi. Ayrıca antibakteriyel etkinlik gösteren oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin; mine ve kompozit rezin örneklerinin yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğü üzerine olan etkileri değerlendirildi.

Bir ajanın *in vitro* antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek amacıyla kullanılan farklı yöntemler mevcuttur. Bu yöntemlerle test edilen ajanın antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadığı, aktivitesi varsa MİK belirlenir. Yöntem seçiminde; test edilecek ajanların sayısı, miktarı, çözünürlüğü, kullanılacak mikroorganizma cinsi ve yoğunluğu rol oynamaktadır. Sonuçların güvenilir ve tekrarlanabilir olduğu en az emekle, en kısa sürede ve en ekonomik şekilde uygulanabilen yöntem tercih edilmelidir. Agar well (kuyucuk) difüzyon yöntemi, bitkilerin veya mikrobiyal ekstraktların antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan, duyarlılığı yüksek bir test yöntemidir (Valgas ve ark., 2007). Bu sebeple çalışmamızda antimikrobiyal aktiviteyi belirlemede bilinen en temel yöntemlerden olan agar well (kuyucuk) difüzyon yöntemi kullanılmıştır. MİK değerinin belirlenmesi amacıyla da, uygulamadaki sorunların ve kullanılan materyal miktarının en aza indiği, en çok kullanılan yöntemlerden biri olan mikrodilüsyon yöntemi tercih edilmiştir (Abbasoğlu, 1996).

Ağız boşluğunda kullanılan ürünlerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesi insan sağlığı açısından önemlidir. Antibakteriyel etkinliği sebebiyle kullanılan bir ajan mukozalara zarar vermemeli ve toksik olmamalıdır (Külekçi ve ark., 1999). Günümüzde bir materyalin biyoyumluluğunun belirlenmesi amacıyla *in vitro*, *in vivo* testler ve hayvan deneyleri yapılmaktadır. *In vivo* testler ve hayvan deneylerinin uzun zaman almaları ve yüksek maliyetleri sebebiyle genellikle *in-vitro* koşullardaki hücre kültürü çalışmaları kullanılmaktadır (Tokur & Aksoy, 2017b). Hücre kültürü çalışmalarında materyallerin hücreler üzerindeki toksik etkileri çeşitli testlerle değerlendirilmektedir. MTT testi ve LDH testi bu amaçla en sık kullanılan metabolik sitotoksosite değerlendirme testleridir (Erkekoğlu & Baydar, 2021). Dental materyallerin sitotoksitesinin belirlenmesinde de sıklıkla kullanılan MTT testinin hızlı, ekonomik, güvenilir sonuç veren ve düşük seviyedeki toksisiteyi değerlendirebilen bir yöntem olduğu bildirilmiştir

(Wataha ve ark., 1992). Bu sebeple çalışmamızda sitotoksitenin değerlendirilmesi amacıyla MTT testi kullanılmıştır. LDH testi ise MTT testi sonuçlarını desteklemesi amacıyla yapılmıştır. Diş hekimliğine ilişkin hücre kültürü çalışmalarında insan ve hayvan pulpa hücreleri, fare fibroblast ve odontoblast hücre hatları, insan epitelyal hücreleri kullanılmaktadır (Süsgün Yıldırım ve ark., 2017). Kullanılacak hücrenin tipi test edilecek materyalin etkileşime gireceği dokuya göre seçilmelidir, periodontal doku ve ağız mukozası için fibroblastların kullanılması daha uygundur (Browne, 2007). Çalışmamızda da insan sağlıklı gingival fibroblast hücre hattı (HGF-1) kullanılmıştır (Tuncer & Demirci, 2011). Klinik uygulamada ve hastaların günlük rutinlerinde KHX solüsyonları kullanım süresi 30 sn ile 2 dk arasında değişmektedir. Çalışmamızda bu süreler göz önünde bulundurularak HGF-1 hücreleri test ajanlarına 1.5 dakika boyunca maruz bırakılmıştır.

Oral çalkalama solüsyonları sadece oral yumuşak dokular için değil, aynı zamanda diş sert dokusu için de zararsız ve güvenli olmalı, dental restoratif materyallere negatif yönde etki etmemelidir. Mine ve restoratif materyallerde yüzey pürüzlülüğü artışı serbest yüzey enerjisinin düşmesine dolayısıyla dental plak birikiminin, bakteriyel adezyonun artışına sebep olmaktadır. Bununla birlikte minede ve kompozit rezin restorasyonlarda çürük oluşumuna, renklenmeye, sekonder çürüklere ve ağızda kalım ömrünün ksalmasına neden olmaktadır (M. F. de A. Silva ve ark., 2006). Yüzey sertliği ise bir materyalin aşınmaya karşı direncini arttırmaktadır. Restoratif materyallerdeki ve minedeki düşük yüzey mikrosertlik değerleri, yapılarında erken deformasyona ya da kırılmaya neden olabilmektedir (Buket ve ark., 2022). Bu sebeple çalışmamızın son aşamasında antibakteriyel etkinliğin gözleendiği oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin mine ve sık kullanılan restoratif materyallerden biri olan kompozit rezinin yüzey pürüzlülüğü ve yüzey sertliği üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda uzun dönemdeki etkilerin değerlendirilmesi amacıyla 1 yıllık oral çalkalama solüsyonu maruziyeti sümile edilmiştir. Yapılan çalışmalarda oral çalkalama solüsyonlarının 1 yıllık kullanım süresinin, günde birer dakikadan iki kez olmak üzere toplamda 12 saate tekabül ettiği bildirildiğinden (Gürkan ve ark., 1997; Gurgan & Yalcin Cakir, 2008) , mine ve kompozit rezin örnekleri 12 saat süreyle solüsyonlara maruz bırakılmıştır.

Yüzey mikrosertliğini test etmek için kullanılan geleneksel testler: Brinell , Knoop , Rockwell ve Vicker's mikrosertlik testleridir (Ilie ve ark., 2017). Dış hekimliğinde en çok tercih edilenleri ise Knoop ve Vicker's testleridir. Yapılan bir çalışmada Knoop ve Vickers mikrosertlik testi sonuçları kıyaslanmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ve sonuçların birbirine paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Poskus, 2004). Diğer yandan Vicker's cihazının girinti ucu Knoop cihazının ucuna göre daha kısa köşegenlere sahiptir, bu sayede materyalin yüzey özelliklerinden daha az etkilendiği ve daha hassas ölçümler yapılabildiği belirtilmiştir (Fuentes ve ark., 2003). Mine ve kompozit rezinlerin Vicker's mikrosertlik analizlerinde farklı kuvvetlerin farklı sürelerde uygulandığı çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda Vicker's mikrosertlik testi kullanılmış olup literatürdeki diğer çalışmalara paralel olarak mine ve kompozit rezin örneklerle 15 saniye boyunca 100 gr yük uygulanmıştır (Comba ve ark., 2020; Gürel ve ark., 2016).

Yüzey pürüzlülüğü değerlendirmesi taramalı elektron mikroskobu (SEM) gibi kalitatif metotlar ve yüzey profili analizi gibi kantitatif metotlar ile yapılabilir. SEM küçük ayrıntıların görülmesi amacıyla geliştirilmiş, elektron demeti ile yüzeyi tarayarak görüntü elde eden bir elektron mikroskobu tipidir. Odak derinliği, ayırım gücü, görüntü ve analizi birleştirme özelliği en sık kullanılan yüzey topografyası inceleme yöntemlerinden biri olmasını sağlamıştır (Lewczuk & Szyryńska, 2021). Kontakt

profilmetreler ise 2 boyutlu ölçüm yaparak kantitatif sonuçlar (Ra) veren ölçüm cihazlarıdır. Kontakt profilometreler, örneklerde ölçüm öncesi ön hazırlık gerektirmemesi, tekrarlanabilir ölçümlere izin vermesi, kullanımının kolay olması ve elde edilen sayısal sonuçlar sayesinde istatistiksel analiz yapılabilmesi avantajlarıyla literatürde sık kullanılan bir yöntemdir (García ve ark., 2018; Joniot ve ark., 2006). Bu sebeplerle çalışmamızda mine ve kompozit rezin örnek yüzeylerinin ortalama yüzey pürüzlülüğünü ölçmek amacıyla kontakt profilometre cihazı, örnek yüzeyi topografyasını incelemek amacıyla SEM analizi kullanılmıştır. Yapılan literatür taramasında çeşitli ajanlara maruziyet sonrasında mine ve kompozit rezinlerin yüzey özelliklerinin değerlendirildiği çalışmalarda kontrol grubu olarak distile suyun kullanıldığı görülmüştür. Distile su hazırladığımız oral çalkalama solüsyonlarının formülasyonunda da çözücü olarak kullanıldığı için çalışmamızda da kontrol grubu olarak distile su tercih edilmiştir (Favaro ve ark., 2020; Miranda ve ark., 2011).

Literatüre bakıldığında bor türevlerinin antibakteriyel etkinliği ile ilgili yapılan çalışmaların bor nitrür nanoparçacıkları üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Kıvanç ve ark. (M Kıvanç ve ark., 2018) hegzogonal bor nitrür (hBN) nanoparçacıklarının farklı derişimlerinin (0,00156 ve 0.8 mg/mL) *S.mutans*, *S.pasteuri* ve *Candida sp.*'ye karşı antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında, hBN nanoparçacıklarının 0.4 mg/ml konsantrasyonunda 3 mikroorganizmanın da üremesini engellediğini ancak test edilen konsantrasyonlarda öldürücü etki göstermediğini bildirmişlerdir. Antibiyofilm etkinin araştırılması ise iki farklı protokolle yapılmış olup, ilk protokolde; hBN nanoparçacıkları MİK değerinde *S.mutans* ve *S.pasteuri* biyofilmine karşı etkisiz bulunurken *Candida sp.*'ye karşı antibiyofilm etki göstermiştir. İkinci protokolde ise *S.mutans* ve *Candida sp.*'ye karşı yüksek antibiyofilm etki görülürken, *S.pasteuri* 'ye karşı yine etkisiz kalmıştır. İki protokol uygulamasının sonuçları arasındaki

farkın biyofilm oluşumu ve yapısı ile ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Alansy ve ark. (Alansy ve ark., 2022) bor nitrür nanoparçacıklarını (BNNS) antibakteriyel etki elde etmek amacıyla dental kompozit rezinlerin yapısına inorganik bir doldurucu olarak ilave etmişlerdir. BNNS içeren kompozitin *S.mutans*'a karşı antibakteriyel etkinliği, koloni oluşturan birim tahlili ile değerlendirilmiş ve biyofilmdeki canlı bakteri sayısının kontrol kompozitine kıyasla %97.62 oranında azaldığı bildirilmiştir. Raval ve ark. (Raval ve ark., 2023) bor nitrür (BN) kaplı dental implantların *S.mutans* ve *F.nucleatum* üzerine antibakteriyel etkinliğini ve biyofilm adezyonuna etkisini in vitro olarak test ettikleri çalışmalarında, hem BN kaplı hem de kontrol disk (BN içermeyen) numunelerin *S.mutans* ve *F.nucleatum*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. BN kaplı disklerde *S.mutans* için inhibisyon zonu oluşurken, *F.nucleatum* için antibakteriyel etki gözlenmemiştir. BN'ün biyofilm yapışması üzerine etkisi *S.mutans* için anlamlı bir azalma sağlarken *F.nucleatum* üzerindeki etkisi anlamsız bulunmuştur. Bor nitrürün, *S.mutans*'a karşı daha belirgin bakterisidal aktivite gösterdiği; ancak, *F.nucleatum*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise bor nitrürün saf hali, test ettiğimiz bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermezken, formüle ettiğimiz bor nitrür nanosüspansiyonu araştırmacıların bulgularına paralel olarak, *S.mutans* ve test ettiğimiz diğer bakteri suşları üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermiştir. *S.mutans* için 1.25 mg/ml, diğer bakteri suşları için ise 0.625 mg/ml MİK değeri gösterirken, 0.625 mg/ml ve üzeri derişimlerde de bakteri biyofilmlerine karşı güçlü antibiyofilm aktivitesi sergilemiştir.

Zer ve ark. (Zer ve ark., 2022) borik asidin farklı konsantrasyonlarında (% 1, 2, 4, 6) süspansiyonlarını hazırlayarak *S.mutans*, *S.mitis* ve daha 8 farklı mikroorganizmaya karşı dezenfektan etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, bakteriler 1, 2, 5, 10 ve 30 dakikalık sürelerde süspansiyonlara maruz bırakmış ve temas süreleri sonunda

bakterilerin üreyip üremedikleri değerlendirilmiştir. Borik asidin % 1 konsantrasyonda ve test edilen tüm sürelerde bakteri izolatlarına karşı etkinliği saptanmazken, % 2 ve % 4 konsantrasyonlarında ise test edilen tüm sürelerde *S.mutans* ve *S.mitis* 'in üremesini engellediği görülmüştür. Borik asitin % 6 konsantrasyonda ise 1. dakikadan itibaren tüm bakterilere karşı etkin olduğu bildirilmiştir. Aral ve ark. (Aral ve ark., 2020) borik asitin periodontal patojenler olan *F.nucleatum* ve *P.gingivalis* üzerine bakterisidal ve bakteristatik etkilerini mikrodülsiyon metodu ile inceledikleri çalışmalarında, borik asit *F.nucleatum*'un üremesini 780 nM (nanomolar) da *P.gingivalis* 'in üremesini ise 1.56 µM (mikromolar) konsantrasyonunda durdurabilmiştir. Zan ve ark. (Zan ve ark., 2013) borik asitin kök kanalındaki *E.fecalis* biyofilmine karşı antibakteriyel etkisini in vitro olarak araştırmıştır. 104 küçük azı dişinin kök kanallarında *E.fecalis* biyofilmi oluşturulup, 2 dakika boyunca farklı konsantrasyonlardaki borik asit (% 2, % 4 ve % 6) ve % 5.25 NaOCl ile irrigasyon sonrası bakteri sayısındaki azalma ölçülmüştür. % 2 borik asit irrigasyonu negatif kontrol grubu (salin) ile benzer etki gösterirken % 6 borik asit irrigasyonunun pozitif kontrolle kıyaslanabilecek seviyede bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacıların bulgularına paralel olarak çalışmamızda borik asitin % 1'lik saf hali, *S.mutans*, *S.mitis* ve diğer bakteri suşları üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermemesine karşın, formüle ettiğimiz % 1 borik asit çözeltisi tüm test bakterileri üzerinde antibakteriyel etkinlik ve antibiyofilm aktivitesi göstermiştir. MİK değeri *S.mutans* için 1,25 mg/ml, diğer bakteri suşları için 0.625 mg/ml olarak tespit edilmiş, 2.5 mg/ml ve üzeri derişimlerde de tüm bakteri biyofilmlerine karşı güçlü antibiyofilm aktivitesi sergilemiştir.

Yılmaz ve ark. (Yılmaz, 2012) sodyum boratın (boraks) *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter septikus* bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkinliği makrodülsiyon broth yöntemi ile değerlendirmiş ve sodyum

boratın tüm bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinlik gösterdiği bildirmişlerdir. MİK değerini *S.aureus* ve *A.septikus* için 23.80 mg/mL, *E.coli* ve *P.aeruginosa* için ise 47.60 mg/mL olarak belirlemişlerdir. Kaplan ve ark. (Kaplan ve ark., 2021) implant cerrahisinde sıkça kullanılan sentetik kemik grefti olan polimetil metakrilatın (PMMA) yapısına 7.5, 5.0 ve 2.5 g sodyum borat minerali yüklemesinin antibakteriyel direnci ve hücre entegrasyonunu artırma üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Antibakteriyel etkinliği *E.faecalis* ve *S.aureus* suşları üzerinde agar difüzyon test yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar sodyum borat miktarı ile doğru oranlı olarak sodyum borat yüklü greftlerin, bakteriyel büyümeyi önemli ölçüde azaltarak *E.faecalis* ve *S.aureus* suşlarına karşı kayda değer antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda ise sodyum boratın saf hali, test ettiğimiz bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermezken formüle ettiğimiz sodyum borat çözeltisi tüm test bakterileri üzerinde antibakteriyel etkinlik ve antibiyofilm aktivitesi göstermiştir. Sodyum borat çözeltisi ise *L.acidophilus* için 0.312 mg/ml, *L.casei* ve *S.mitis* için 0.625 mg/ml diğer bakteri suşları için ise 1.25 mg/ml MİK değeri göstermiş, 5 mg/ml ve üzeri derişimlerde de tüm bakteri biyofilmlerine karşı güçlü antibiyofilm aktivitesi sergilemiştir.

Çalışmamızda bor nitürür, borik asit ve sodyum boratın saf hallerinde, test bakterilerinin üzerinde antibakteriyel etkinlik ve antibiyofilm aktivite gözlenmezken, bu maddelerden formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonlarının tüm bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinlik ve antibiyofilm aktivite göstermesinin, formülasyonların maddelerin etkinliğini artırmasının etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bor nitürür nanosüspansiyon olarak formüle edilmiştir. Nanosüspansiyonlar nanoboyuttaki partiküllerin kullanıldığı sistemlerdir (Singh ve ark., 2017). Nanopartikül formülasyonlarında küçük partikül boyutu ve buna bağlı olarak artan

yüzey alanı, yüksek termodinamik enerji ile birleştğinde etken maddenin hızlı çözünmesini kolaylaştırır ve partikülün absorpsiyonunu artırır. Bu durum artmış kimyasal reaktivite ile biyoyararlanım avantajları sağlar, böylece maddelerin etkinliği artar (Özgün, 2016). Bu sayede nano formülasyonlar, bakteri hücrelerine karşı yüksek seçiciliğe ve küçük boyut, geniş yüzey alanı ve yüksek oranda reaktif doğaları nedeniyle biyofilm gibi biyolojik engelleri de geçme yeteneğine sahiptirler (Qayyum & Khan, 2016). Sahip oldukları bu avantajlardan dolayı günümüzde biyofilm oluşumunun inhibisyonu için de nanoformülasyonların kullanımı umut verici antibiyofilm stratejileri arasında sayılmaktadır (Külekçi ve ark., 1999). Bor nitrür nanosüspansiyonunda elde ettiğimiz sonuçlar da nanoformülasyonların etkinliğini destekler niteliktedir. Benzer şekilde, Omolo ve ark. (Omolo ve ark., 2018) çalışmalarında fusidik asitten bir nanosüspansiyon formüle etmişler ve nanosüspansiyon formülasyonunun fusidik asitin çözünürlüğünü 8 kat antibakteriyel etkinliğini ise *S.aureus*'a karşı 16 kat, MRSA (Metisiline dirençli *S.aureus*)'ya karşı ise 8 kat artırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda borik asit ve sodyum borat ise çözelti olarak formüle edilmiştir. Çözeltilerde etkin maddenin absorpsiyonu hızlı, biyoyararlanımı yüksektir ve bu durum maddenin etkinliğinin artmasını sağlamaktadır (Değim, 2004). Elde ettiğimiz bu sonuçlar, formülasyonun bir maddenin etkinliğini artırmadaki önemine dikkat çekmektedir.

Kullandığımız bir diğer madde olan hindistan cevizi yağı son dönemde “yağ çekme (oil pulling)” uygulaması ile ağız sağlığının korunmasında popüler olarak kullanılmaktadır (Woolley ve ark., 2020b). Singla ve ark. (Singla ve ark., 2014) hindistan cevizi yağı, susam yağı ve zeytinyağı ile diş eti masajının tükürükteki *S.mutans* ve *Lactobacillus* türleri sayısına etkisini klorheksidinle kıyaslamalı olarak değerlendirmişlerdir. Sağlıklı yetişkinlerden oluşan 4 grup üç hafta boyunca

hindistancevizi yağı, susam yağı, zeytinyağı ve klorheksidin jeli ile günde 10 dakika diş eti masajı yapmıştır. Deneklerin dişeti skorları, plak skorları ve tükürük örnekleri başlangıçta ve üç hafta sonunda alınmış, deney sonunda tükürükteki *S.mutans* sayısı, Lactobasil sayısı, plak skorları ve diş eti skorlarında anlamlı bir azalma olduğunu, üç deney grubunda klorheksidinle benzer etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Shino ve ark. (Shino ve ark., 2016) hindistan cevizi yağı, klorheksidin ve probiyotiklerin erken çocukluk dönemi çürüğü olan çocuklardan izole edilen *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. *C.albicans* klorheksidin, hindistancevizi yağı ve probiyotiklere karşı duyarlı bulunmuş, hindistan cevizi yağının klorheksidin kadar olmasa da probiyotiklerden daha antikandidal olduğu bildirilmiştir. Öte yandan Dönmez ve danışmanı (Dönmez, 2021) yaptıkları tez çalışmasında aralarında hindistan cevizi yağı da bulunan farklı doğal maddelerin *S.mutans*, *L.acidophilus* ve *C.albicans* oral patojenleri üzerine antimikrobiyal etkisini difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerini kullanarak değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri veriler doğrultusunda hindistan cevizi yağının test edilen oral patojenlere karşı herhangi bir antimikrobiyal özellik göstermediğini bildirmişlerdir. Firdaus ve ark. (Firdaus ve ark., 2019) erken çocukluk çağı çürüğü bulunan (EÇÇ) çocuklardan elde ettikleri *S.mutans* ile oluşturdukları biyofilmler üzerine farklı konsantrasyonlarda (% 0.8, % 8 ve % 80) saf hindistancevizi yağı köpüğünün etkinliğini araştırmışlardır. % 80 konsantrasyondaki saf hindistan cevizi yağı köpüğü, *S.mutans* biyofilminin canlılığını azaltmış ve EÇÇ'yi önlemede altın standart ajan olan CPP-ACP ile istatistiksel olarak benzer etki göstermiştir. Rukmini ve ark. (Rukmini ve ark., 2017) taze ve pastörize edilmiş hindistan cevizi sularının *S.mutans* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında iki hindistan cevizi suyununda *S.mutans* üzerinde bir inhibisyon zonu oluşturmadığını ve antibakteriyel etkisinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Benzer olarak

çalışmamızda da hindistan cevizi yağı test bakterilerinin hiçbiri üzerinde antibakteriyel etki göstermemiştir. Hindistan cevizi yağının antibakteriyel etkisi içeriğindeki laurik asite atfedilmiş ve farklı coğrafi kökenli hindistan cevizi yağlarının farklı oranlarda laurik asit içerdiği bildirilmiştir (Laureles ve ark., 2002; Rukmini ve ark., 2017). Tüm bu verileri değerlendirdiğimizde çalışma sonuçlarındaki bu farklılıkların sebebinin çalışmalarda kullanılan hindistan cevizinin farklı coğrafi kökenlerden geliyor olması sebebiyle olabileceğini düşünmekteyiz (Amit ve ark., 2022). Çalışmamızda hindistan cevizi yağı test edilen bakteriler üzerinde antibakteriyel ve antibiyofilm etki göstermezken formüle ettiğimiz hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu tüm test bakterilerinde antibakteriyel etki göstermiştir. HCY-NE’unda nanopartiküllerin yüzey alanını ve çözünürlüğü artırması dolayısıyla hücre penetrasyonunun artması sonucu antibakteriyel etkinliğin arttığını düşünmekteyiz (Omolo ve ark., 2018). Ayrıca bir maddenin adsorbsiyonu yüzey alanı ile doğru, partikül boyutu ile ters orantılıdır (Chen ve ark., 2015). Bu nedenle HCY-NE bakteri yüzeyinde HCY’den daha etkili bir şekilde dağılmış ve adsorbe edilmiş olabilir. HCY-NE bakteri suşları üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermesine rağmen bakteri biyofilmlerine karşı antibiyofilm aktivite göstermemiştir. Biyofilmler, mikroorganizmalar tarafından oluşturulan eksopolisakkarit matriks ile çevrilmiş topluluklardır. Biyofilmin bu matriks yapısı antimikrobiyal ajanların penetrasyonunu azaltarak bakteriye ulaşmasını engeller ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanmalarını sağlar (Bowen ve ark., 2018). Biyofilm içindeki bakterilerin, planktonik bakterilerle karşılaştırıldığında antibiyotiklere birkaç kat daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Rabin ve ark., 2015). Biyofilmin bu dirençli yapısı sebebi ile HCY-NE biyofilme etki etmekte yetersiz kalmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda yer verdiğimiz bir diğer madde olan propolis son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan doğal maddelerden biridir. Akça ve ark. (Akca ve ark., 2016)

propolisin *S.mutans*, *S.sobrinus*, *L.acidophilus*, *L.salivarius* ve *C.albicans* oral patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisini broth mikrodilüsyon ve agar dilüsyon testlerini kullanarak klorheksidin ile kıyaslamalı olarak değerlendirmişlerdir. Hazırladıkları etanolik propolis ekstratının (EEP) *L.acidophilus* ve *L.salivarius* üzerindeki bakterisidal etkisinin KHX' inden daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Diğer yandan, *S.mutans*, *S.sobrinus* ve *C. albicans* biyofilmlerine karşı her iki ajanın da aynı konsantrasyonda etkili olduğu bildirilmiştir. Bulgularımız bu çalışmayla paralel olarak P ve P-NE'nun *S.mutans* üzerinde antibakteriyel etkinliğinin olduğunu gösterirken, *L.acidophilus* için ise bu çalışmanın sonuçlarının aksine antibakteriyel etkinliğinin olmadığını göstermektedir. Çalışmamızda su bazlı propolis ekstratı kullanılmış olup nanoemülsiyon formülasyonunun içeriğinde de alkol bulunmamaktadır, sözü geçen çalışmada ise propolisin etanolik ekstratı değerlendirilmiş olup propolis ekstrakte edilmesinde metanol, etanol gibi alkol içerikli çözücülerin kullanılması ile propolisin kendi antimikrobiyal etkinliğinin önüne geçilmektedir (Tosi ve ark., 1996). Sonuçlarımıza paralel bir çalışmada Airen ve ark. (Airen ve ark., 2018) propolisin etanolik ekstraktı ile su ekstratının *S.mutans* ve *L.acidophilus* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini agar well difüzyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Etonolik propolis ekstraktının *S.mutans* ve *L.acidophilus* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini, su bazlı propolis ekstratının ise *S.mutans* üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki göstermediğini, *L.acidophilus* üzerinde ise etanolik porpolis ekstratına göre anlamlı derecede daha düşük bir aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Yuan ve ark. (Yuan ve ark., 2022) Doğu Çin menşeli kavak propolisinden elde ettikleri propolis esansiyal yağının (PEO) *S.mutans*'a karşı antibakteriyel ve antibiyofilm etkinliğini değerlendirmişlerdir. PEO' nun *S.mutans*'a karşı MİK ve MBK değerleri sırasıyla 0.625 ve 1.8 µl/ml olarak belirlenmiş ve sonuçlar PEO'nun *S.mutans*'ı önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir. Farklı konsantrasyonlarda

PEO'nun *S.mutans*'ın biyofilmi üzerindeki etkilerini değerlendirdiklerinde ise 1/4 MİK veya üzerindeki PEO, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azaltmıştır. Çalışmamızda ise propolis *S.mutans* için 2,5 mg/ml, propolis nanoemülsiyonu ise 5 mg/ml MİK değeri göstermiştir ancak test edilen konsantrasyonlarda (0,312 – 10 mg/ml) *S.mutans* biyofilmi üzerinde etkisiz kalmıştır. Biyofilm antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli bir yapıdır ve inhibisyonu için daha yüksek madde konsantrasyonları gerekebilir (Rather ve ark., 2021), bu sebeple propolis ve propolis nanoemülsiyonun *S.mutans* biyofilmine karşı daha yüksek konsantrasyonlarda etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda propolis ve propolis nanoemülsiyonu diğer test bakterileri üzerinde antibakteriyel ve antibiyofilm etki göstermemiştir. Propolisin kimyasal bileşenleri çok karmaşıktır ve farklı propolis türlerinden 600'den fazla bileşen tanımlanmıştır. Propolisin kesin bileşimi, bitki kaynaklarına, arı türlerine ve coğrafi bölgelere göre değişmektedir (Huang ve ark., 2014). Propolisin mikroorganizmalara karşı etki mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır. Propolis ekstraktlarında bulunan flavonoidler, kafeik asit, benzoik asit ve sinamik asit gibi bazı bileşenler muhtemelen mikrobiyal sitoplazmik membran veya hücre duvarı üzerine etki ederek fonksiyonel ve yapısal hasara neden olduğu düşünülmektedir (Mirzoeva ve ark., 1997). Bazı araştırmacılar, mikroorganizmalara karşı aktivitesinin, tek tek bileşiklerden ziyade flavonoidlerin ve diğer fenoliklerin sinerjistik etkisiyle daha fazla ilişkili olduğunu savunmuşlardır (Amoros ve ark., 1994). Ek olarak, bakteri hücre duvarı ve biyofilm özelliklerinin , propolisin bakterisidal etkisini belirleyen yardımcı faktörler olduğu sonucuna varılmıştır (Duarte ve ark., 2003; Lemos & Burne, 2008). Bu sebeplerle propolis her bir mikroorganizmaya karşı farklı şekillerde etki gösterebilmektedir. Yazdanian ve ark. (Yazdanian ve ark., 2022) 9 farklı iran propolisinin etanolik ekstratının *S.mutans* , *S.mitis* , *S.salivarius* , *L.acidophilus*, *E.Coli* ve

C.albicans'a karşı antimikrobiyal aktivitesini agar disk difüzyon yöntemi ve mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Her bir propolis çeşidi aynı bakteri üzerinde farklı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde farklı bölgelerden toplanan propolis örneklerinin, farklı antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular ile diğer çalışmaların sonuçları arasındaki farklılığın, propolisin bileşenleri ve bunların farklı bakteri hücre duvarı yapıları üzerindeki aktiviteleri ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Kullandığımız bir diğer madde olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antibakteriyel etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Hammad ve ark. (Hammad ve ark., 2007) çeşitli konsantrasyonlardaki (%5, %10 ve %20) sulu kekik (*Thymus vulgaris*) ekstraktının *S.mutans* büyümesi ve bu bakterinin insan bukkal epitel hücrelerine adezyonu üzerindeki etkisini in vitro olarak araştırdıkları çalışmalarında *S.mutans*'ın sulu kekik ekstraktına maruz bırakılmasının, zamana ve konsantrasyona bağlı olarak bakteriyel canlılığın azalmasına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. *S.mutans*'ın 48 saatlik bir süre boyunca % 20 sulu kekik ekstraktına maruz bırakılması , bakteriyel canlılığın % 96 inhibisyonu ile sonuçlanmıştır. İnsan bukkal epitel hücrelerinin % 5, % 10 ve % 20 sulu kekik ekstraktı ile 1 saat ön inkübasyonu, *S.mutans*'ın epitel hücrelerine yapışmasında sırasıyla % 83, % 90 ve % 98 azalma sağlamıştır. Ayrıca sulu kekik ekstresi ile gargaranın etkisi, sağlıklı yetişkinler üzerinde in vivo olarak test edilmiş, bukkal epitelyuma bakteri yapışmasında konsantrasyona bağlı bir azalma olduğu, % 20 sulu kekik ekstraktı ile 1 dakikalık ağız çalkalamasından sonra epitel hücreleri toplandığında, bu hücrelere bakteri yapışması % 85 oranında inhibe edilirken, aynı süre için klorheksidin diglukonat ile ağız çalkalaması yapıldığında % 45'lik yapışma inhibisyonu sağlandığı, klorheksidin ile ağız çalkalamanın, % 10 sulu kekik ekstresi ile

çalkalamayla hemen hemen eşit bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Aralarında kekik yağında bulunduğu farklı esansiyal yağların antibakteriyel etkinliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada kekik yağı *S.mutans*'a karşı en yüksek antibakteriyel etkiyi göstermiştir (Ács ve ark., 2018). Schött ve ark. (Schött ve ark., 2017) da çalışmalarında dört farklı kekik türünün uçucu yağının *S.mutans'a karşı in vitro* antibakteriyel etkisini değerlendirilmiş ve dört kekik türünün de *S.mutans*'a karşı önemli bir antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirilmişlerdir. Benzer olarak çalışmamızda da % 5 kekik ekstresi ve kekik ekstresi nanoemülsiyonu *S.mutans* üzerinde antibakteriyel aktivite göstermiş ve MİK değeri kekik ekstresi için 2,5 mg/ml kekik ekstresi nanoemülsiyonu için ise 5 mg/ml olarak belirlenmiştir. Tardugno ve ark. (Tardugno ve ark., 2018) aralarında kekik (*Tymus vulgaris*) yağında bulunduğu 14 esansiyal yağın ve bunların klorheksidin ile kombinasyonlarının *S.mutans* ve *Lactobacillus* spp.'ye karşı antibakteriyel etkisini agar disk difüzyonu ve MİK tayini ile değerlendirmişlerdir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kekiğin *S.mutans* ve *Lactobacillus* spp.'ye karşı hafif inhibitör etki gösterdiği, klorheksidinle kombine olarak kullanıldığında ise sinerjistik etki göstererek *S.mutans* ve *Lactobacillus* spp.'ye karşı bakteriyel büyümeyi engellemek için gereken klorheksidin miktarını azalttığı bildirilmiştir. Dunn ve ark. (Dunn ve ark., 2016) kekik uçucu yağın da aralarında bulunduğu biz dizi uçucu yağın, *L.Fermentum* da dahil olmak üzere çeşitli laktobasil türleri üzerindeki antibakteriyel etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında kekik yağın laktobasiller üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmiş ve bu etkiyi orta dereceli olarak sınıflandırmışlardır. Çalışmamızda ise kekik ekstresi ve kekik ekstresi nanoemülsiyonunun test ettiğimiz laktobasil türlerine karşı antibakteriyel etkinliğinin olmadığı gözlemlenmiştir. Fani ve ark. (Fani & Kohanteb, 2017) çalışmalarında kekik (*Tymus vulgaris*) uçucu yağın *S.mutans*, *S.pyogenes*,

C.albicans, *P.gingivalis* ve *A.actinomycescomitans*'ın her birinin 30 klinik izolatına karşı antibakteriyel etkinliğini in vitro yöntemlerle belirlemeyi amaçlamışlardır. 16 ila 256 µg/ml konsantrasyonlarda kekik yağı tüm klinik izolatlar üzerinde güçlü antibakteriyel aktivite sergilemiştir. Çalışmamızda kekik bitkisinin *Thymus vulgaris* türü kullanılmış olup, saf hali ve formüle ettiğimiz nanoemülsiyon formu sadece *S.mutans* üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermiş *S.salivarius*, *S.mitis*, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *L.fermantum*'a karşı etkisiz kalmıştır. *S.mutans* biyofilmi üzerinde ise test edilen konsantrasyonlarda (0,312-10 mg/ml) antibiyofilm aktivite göstermemiştir. Kekik birçoğu geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan yaklaşık 400 türden oluşur (Ghorab ve ark., 2014). Araştırmacıların bulguları ile çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular arasındaki farklılığın, kekik bitkisinin kimyasal bileşiminin ve aktif bileşenlerin (timol, karvakrol vb.) konsantrasyonlarının büyük ölçüde bitki genotipi, coğrafi koşullar, toprağın doğası, sıcaklık, toplama mevsimi ve daha da önemlisi toplanan bitkiden ekstratların ve yağların elde edilmesi prosedürü gibi çevresel faktörlerin etkisi tarafından belirlenmesine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz (Fani & Kohanteb, 2017).

Altın standart antiplak ajanı olarak kabul edilen klorheksidinin güçlü antimikrobiyal etkinliğine rağmen doku nekrozu, enflamatuvar reaksiyonlar ve rejenerasyon inhibisyonu ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Coelho ve ark., 2020). Bir çok yazar tarafından KHX'in in vitro olarak dişeti fibroblastları üzerinde güçlü bir toksik etkiye sahip olduğu, düşük konsantrasyonlarda bile dişeti fibroblastlarında ve epitel hücrelerinde protein ve DNA sentezini inhibe ettiği belirtilmiştir (Babich ve ark., 1995; Bayraktar ve ark., 2023; Faria ve ark., 2009; Giannelli ve ark., 2008; Sukumaran ve ark., 2020). Araştırmacılar, fibroblastların % 0,01 ve üzeri derişimlerde KHX'e maruz kalmasının, zamana bağlı olarak hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir (Schmidt ve ark., 2016; Sukumaran ve ark., 2020). Babgi

ve ark. (Babgi ve ark., 2021) yaptıkları in vitro çalışmada, % 0.2 KHX'e 2 dk maruz kaldıktan sonra HGF hücrelerinin canlılığında güçlü bir inhibisyon tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Bayraktar ve ark. (Bayraktar ve ark., 2023) % 0.2'lik KHX solüsyonunun, HGF üzerinde 30 sn ve 2 dk maruz kalma sürelerinde sitotoksitesini değerlendirdikleri çalışmalarında, KHX'nin HGF hücrelerinin canlılığını yüksek oranda azalttığını ve sitotoksik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızın bulgularına bakıldığında, literatürle uyumlu olarak, KHX'nin test ettiğimiz konsantrasyon aralığında (0.156-5 mg/ml) ve 1.5 dk temas süresinde HGF-1 hücreleri üzerinde yüksek LDH aktivitesi ve düşük hücre canlılığı göstererek ciddi sitotoksik etkilere sahip olduğu görülmüştür. KHX'ine alternatif olarak antibakteriyel etkinliğini değerlendirdiğimiz doğal maddeler ve bor türevlerinin MTT ve LDH testi sonuçlarına bakıldığında ise sitotoksitelerinin KHX'e kıyasla çok daha düşük olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda elde edilen MTT ve LDH testi sonuçlarının birbiriyle tutarlı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte çalışmamızda dozlar arasında anlamlı bir artışın ya da azalışın olmamasının, maddelerin HGF-1 hücreleri üzerinde sitostatik ve sitosidal etki göstermelerinden kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın bulgularını destekler nitelikte, toksisite testleri sonucunda dozlar arası anlamlı bir artış veya azalışın olmadığı ve bu durumun, etkisi araştırılan maddelerin hücreler üzerinde sitostatik veya sitosidal etkiler göstermesinden kaynaklı olduğuna dair literatürde birçok çalışma bulunmaktadır (Han ve ark., 2018; Nikoleousakos ve ark., 2021; B. Yuan ve ark., 2012).

Rasel ve ark. (Rasel ve ark., 2015) düşük konsantrasyonlarda (0, 20, 30, 50, 200 µg/ml) bornitrür nanopartiküllerinin insan osteoblast hücreleri üzerindeki sitotoksitelerini üç farklı zaman diliminde (1, 3, 5. gün) değerlendirmişler ve sitotoksik etkilerinin ya hiç olmadığını ya da istatistiksel olarak anlamsız seviyede kaldığını

bildirmişlerdir. Kıvanç ve ark. (Kıvanç ve ark., 2018) ise hegzogonal bor nitrür (hBN) nanopartiküllerinin Darby köpek böbrek hücreleri ve insan normal cilt fibroblastı üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Hem 24 saat hem de 48 saat maruziyet sonrasında iki hücre türü içinde düşük konsantrasyonlarda (0.025–0.1 mg/ml) sitotoksik olmadığı ancak yüksek konsantrasyonda (0.4 mg/ml) cilt fibroblastı hücresinde hafif sitotoksositeye neden olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda ise bor nitrür ve bor nitrür nanosüspansiyonu daha geniş bir konsantrasyon aralığında (0.156-5 mg/ml) test edilmiş ve araştırmacıların bulgularına paralel şekilde, HGF-1 hücreleri üzerinde düşük konsantrasyonlarda (0.156-0.312 mg/ml) önemli sitotoksik etki göstermezken daha yüksek konsantrasyonlarda ise sitotoksik etkisinin arttığı görülmüştür.

Taşlı ve ark. (Taşlı ve ark., 2013) sodyum boratın 5-700 µg/ml aralığındaki konsantrasyonlarında, insan dişi germ kök hücrelerinin (hTGSC) üzerindeki sitotoksitesini 24.,48. ve 72. saatte değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, sodyum boratın 10- ve 20- µg/ml konsantrasyonlarda hücre canlılığını arttırdığını, daha yüksek konsantrasyonlarının ise hTGSC'ler üzerinde toksik etkisi olduğunu ancak hücre canlılığının % 50'nin altına düşmediğini göstermiştir. Kaplan ve ark. (Kaplan ve ark., 2021) yapısına farklı miktarlarda (7.5, 5.0 ve 2.5g) sodyum borat yüklemesi yaptıkları sentetik kemik greftlerinin sitotoksik etkisini fare osteoblast hücre hatlarında değerlendirmişlerdir. 5 g ve 7.5 g sodyum borat yüklü greftler düz kemik greftiyle aynı ya da daha yüksek oranda hücre canlılığı göstermiştir. Sodyum borat mineral yüklü greftler için hücre canlılığı düz kemik greftine göre %57.8 oranında artmıştır. Bu iki çalışmaya benzer olarak çalışmamızda sodyum borat (0,156-5 mg/ml) HGF-1 hücreleri üzerinde düşük LDH seviyesi ve yüksek hücre canlılığı göstermiştir.

Ergün ve ark. (Ergün, 2021) borik asidin 1.56-100 mM doz aralığındaki sitotoksik etkilerini L929 fare fibroblastı hücreleri üzerinde 48 saat maruziyetten sonra

değerlendirmiş ve borik asidin 42.065 mM (IC₅₀) ve üzerindeki derişimlerde fibroblast hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Bu bulguların aksine Yılmaz Sarıaltın ve ark. (Yılmaz Sarıaltın ve ark., 2022) ise borik asidin çeşitli konsantrasyonlarında (0.5–1000 µM) insan sertoli (HSeS) hücreleri üzerindeki sitotoksitesini 24 saat maruziyetten sonra değerlendirmişler ve borik asitin, test edilen konsantrasyon aralığında HSeC'ye karşı sitotoksik olmadığını ve hücre canlılığı üzerinde önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise borik asitin daha yüksek konsantrasyonlarının (0.156-5 mg/ml) HGF-1 hücreleri üzerinde düşük LDH aktivitesi ve yüksek hücre canlılığı gösterdiği ve düşük sitotoksik etkiye sebep olduğu görülmüştür. Elde elde ettiğimiz verileri ve literatür bilgilerini değerlendirdiğimizde borik asitin sitotoksik etkilerinin hücre tipine, konsantrasyona ve maruziyet süresine göre değiştiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bor nitrür, borik asit ve sodyum borat test ettiğimiz konsantrasyonlarda (0.156-5 mg/ml) düşük LDH aktivitesi ve yüksek hücre canlılığı göstererek düşük sitotoksik etkiler sergilerken bu maddelerden formüle ettiğimiz bornitrür nanoemülsiyonu, borik asit çözeltisi ve sodyum borat çözeltisinin aynı konsantrasyonlarda nispeten yüksek LDH aktivitesi ve düşük hücre canlılığı göstermesi sonucu sitotoksik etkilerinin arttığı görülmüştür. Bunun formülasyonların etken maddelerin çözünürlüğünü ve absorpsiyonunu artırmasının etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Buna rağmen bornitrür nanosüspansiyonu (IC₅₀:6.454±0.204) ve sodyum borat çözeltisinin (IC₅₀:5.564±0,265) HGF-1 hücreleri üzerindeki sitotoksitesinin KHX (IC₅₀:0.731±0.012) altın standardından çok daha düşük seviyede olduğu, borik asit çözeltisinin (IC₅₀:0.002±0.166) ise KHX'le benzer sitotoksikite gösterdiği görülmüştür. Elde ettiğimiz bu bulgular doğrultusunda KHX den daha biyoyumlu antimikrobiyal ajan arayışında bor türevlerinin kullanımı umut vermektedir.

Çalışmamızda kullandığımız doğal maddelerden olan hindistan cevizi yağının sitotoksitesi ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda; İbrahim ve ark. (İbrahim ve ark., 2016) hindistan cevizi yağının farklı konsantrasyonlarının (3-100 µg/ml) insan göbek kordonu endotelinin (HUVEC), fibroblast (CCD-18) ve retinal ganglion (RGC-5) hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerini incelemişler, hücre canlılığının olumsuz etkilenmediğini, üç hücre grubunda da hücre proliferasyonun arttığını bildirmişlerdir. Varma ve ark. (Varma ve ark., 2019) işlenmemiş hindistan cevizi yağının farklı konsantrasyonlarının (15.625–1000 µg/ml), insan keratinositleri (HaCaT), insan monositleri (THP-1) ve fare embriyonik fibroblastları (NIH3T3) üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Hindistan cevizi yağının düşük konsantrasyonlarında HaCaT, THP-1 ve NIH3T3 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etki gösterdiğini, IC₅₀ değerinin HaCaT için 787.15 ve THP-1 için 706.53 µg/mL olduğunu, NIH3T3 içinse 1000 µg/ml'nin üzerinde olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızda hindistan cevizi yağının çok daha yüksek konsantrasyonları HGF-1 ücreleri üzerinde test edilmiştir. IC₅₀ değeri hindistan cevizi yağı için 0.976 mg/ml, hindistancevizi yağı nanoemülsiyonu için ise 1.655 mg/ml olarak belirlenmiştir. Araştırmacıların bulgularına paralel olarak hindistan cevizi yağı ve hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonu, HGF-1 hücreleri üzerinde düşük LDH aktivitesi ve yüksek hücre canlılığı göstererek düşük sitotoksik etki göstermiştir.

Propolisin sitotoksik etkileri ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında ise Yuan ve ark. (Yuan ve ark., 2022) Doğu Çin menşeli kavak propolisinden elde ettikleri farklı derişimlerdeki propolis esansiyal yağının (PEO) (0.005, 0.05, 0.5 ve 5 µl/ml) insan oral epitel hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini 24 saat inkübasyondan sonra değerlendirmişlerdir. Sitotoksik olmayan bir konsantrasyonu temsil eden IC₁₀ değerinin 1.299 µl/ml olduğunu ve PEO'nun insan oral epitel hücreleri üzerinde sitotoksisiteye sahip olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise propolis ve propolis nanoemülsiyonu

0.156-5 mg/ml aralığında test edilmiş ve araştırmacıların bulgularına paralel olarak HGF-1 hücreleri üzerinde düşük LDH aktivitesi ve yüksek hücre canlılığı göstererek düşük sitotoksik özellikler sergilemiştir. Millones-Gómez ve ark. (Millones-Gómez ve ark., 2022) peru propolisinden elde ettikleri propolisin etanolik ekstratının (EEP) HGF-1 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini geniş bir konsantrasyon aralığında (0.024 mg/ml – 50 mg/ml) değerlendirmişler ve doza bağlı olarak sitotoksik etkinin arttığını bulmuşlardır. Düşük konsantrasyonda yüksek hücre canlılığı görülürken, 0.098 mg/ml ve üzeri konsantrasyonda hücre canlılığının % 50'nin altına indiğini ve yüksek sitotoksisite görüldüğünü bildirmişlerdir. Benzer şekilde Yazdanian ve ark. (Yazdanian ve ark., 2022) çalışmalarında 9 farklı iran propolisinin etanolik ekstratının insan diş eti fibroblast hücrelerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Propolisin etanolik ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarını (0.97 ila 500 mg/ml) hücrelere uygulamış, 24 ve 48 saat inkübasyondan sonra doza ve zamana bağlı bir şekilde, canlı hücrelerin sayısının önemli ölçüde azaldığını, farklı bölgelerden elde edilen propolis ekstratlarının aynı konsantrasyonlarda farklı hücre canlılık oranı gösterdiğini bildirmişlerdir. Bulgularımıza bakıldığında araştırmacıların yüksek sitotoksisite bildirdiği konsantrasyon aralığında, propolis ve propolis nanoemülsiyonunda düşük sitotoksik etkiler gözlenmiştir, bu olumlu sonuca su bazlı propolis ekstratı kullanmamızın etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Çalışma sonuçlarımızı ve literatür bilgilerini değerlendirdiğimizde propolisin sitotoksik etkisinin, coğrafi kökenine, konsantrasyonuna ve ekstraksiyon işleminde etanol gibi alkol ürünü kullanılıp kullanılmamasına bağlı olarak değiştiği görülmektedir.

Oliveira ve ark. (Oliveira ve ark., 2017) kekik (*thymus vulgaris*) ekstresinin insan dişeti fibroblastları (FMM-1) üzerindeki sitotoksik etkisini MTT testi ile incelemişlerdir. Testte kekik ekstresini 25, 50 ve 100 mg/ml seyreltmelerde 5 dk süreyle FMM-1

hücrelerine uygulanmasıyla hücre canlılığında azalma görülse de, kekik ekstresinin tüm derişimlerinde hücre canlılığının %50'nin üzerinde olduğu bildirilmiştir. Calò ve ark. (Calò ve ark., 2015) çalışmalarında kekik (*tymus vulgaris*) ve kekiğin anabileşeni olan timolün insan keratinosit hücre hatlarındaki toksik etkilerini MTT testi ile değerlendirmişlerdir. Hücreler 1 saat süreyle kekik (1.82–14.69) ve timol (1–8 µg/ml) ekstraktına maruz bırakılmış, sitotoksosite, maruziyetin sona ermesinden hemen sonra ve 24 saat sonra değerlendirilmiştir. Timole maruz bırakılan numunelerin hücre canlılığının hiçbir zaman % 80'in altına düşmediği, kekiğin ise yalnızca test edilen en yüksek iki konsantrasyonda önemli sitotoksik etki gösterdiği buna rağmen hem maruziyetin hemen sonrasında hem de 24 saat sonra hücre canlılığının %50 'nin üzerinde olduğu bildirilmiştir. Araştırmacıların sonuçlarına paralel olarak çalışmamızda kekik ekstresi ve kekik ekstresi nanoemülsiyonu maruziyetin 24 saat sonrasında düşük LDH aktivitesi ve yüksek hücre canlılığı göstermiş ve HGF-1 hücreleri üzerinde önemli bir sitotoksositeye sahip olmadığı görülmüştür.

Oral çalkalama solüsyonları kullanımları sırasında mine dokusu ve ağızda bulunan restorasyonlar ile direkt temas halindedir. Bu solüsyonların diş dokularının ve restoratif materyallerin yüzey sertliği ve pürüzlülüğüne olan etkilerinin değerlendirilmesi dikkate değer bir konudur. Çalışmamızda da antibakteriyel etkinlik elde ettiğimiz oral çalkalama solüsyonlarının ve saf maddelerin MİK değerlerindeki konsantrasyonlarında, mine ve kompozit rezinin yüzey pürüzlülüğü ve yüzey sertliğine olan etkisi KHX'ne kıyasla değerlendirilmiştir. Kontrol olarak distile su (DS) kullanılmıştır.

KHX oral çalkalama solüyonu olarak sık kullanılan bir ajan olmasına karşın, diş hekimliği literatürüne bakıldığında yapılan çalışmaların KHX'nin antibakteriyel etkinliği, bağlanma dayanımına etkisi, diş dokularında ve dental restoratif materyallerde oluşturduğu renk değişimi üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. KHX'nin diş dokularının

ve restoratif materyallerin yüzey özelliklerine olan etkileri ile ilgili yapılan literatür taramasında, yüzey pürüzlülüğünü konu alan çalışmalar nispeten var olsada yüzey sertliğine etkisi ile ilgili çalışmalar sayıca çok azdır. Çalışmamızda KHX mine ve kompozit rezin örneklerine MİK konsantrasyonunda uygulanmış olup, elde ettiğimiz verilere göre hem mine hem de kompozit rezin örneklerin yüzey sertliği ve pürüzlülüğünde anlamlı bir değişime sebep olmamış, DS (kontrol) grubuyla istatistiksel olarak benzerlik göstermiştir.

Jeong ve ark. (Jeong ve ark., 2011), klorheksidinin ve piyasada bulunan diğer oral çalkalama solüsyonlarının 18 aylık kullanım sonunda mine sertliği ve pürüzlülüğü üzerine olan etkilerini küçük azı dişleri üzerinde değerlendirmişler ve minenin yüzey sertliğinin klorheksidin grubunda distile su grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar mine örneklerinin yüzey sertliğinde elde ettiğimiz bulguları desteklemektedir. Sözü geçen çalışmada yüzey pürüzlülüğü sonuçları değerlendirildiğinde ise klorheksidin grubunda mine pürüzlülüğünün arttığı ve bu artışın distile su grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda da KHX grubunda yüzey pürüzlülüğü bulguları artış göstermiştir ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, distile su grubuyla benzerlik göstermiştir. Çalışmamızda KHX'nin konsantrasyonu MİK değerine göre ayarlanmış olup bu konsantrasyon Jeong ve ark. (Jeong ve ark., 2011) uyguladığı konsantrasyonun çok altındadır. Sonuçlar arasındaki farklılığın uygulanan KHX konsantrasyonu sebebiyle oluştuğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda KHX uygulanan kompozit rezinlerin yüzey pürüzlülüğünde ve yüzey sertliğinde anlamlı bir fark görülmemiş, DS (kontrol) grubuyla benzer etki göstermiştir. Çelik ve ark. (Celik ve ark., 2021), % 0.12 klorheksidini 3 farklı kompozit rezin materyalinin yüzey pürüzlülüğü üzerine etkisini, 21 dakikalık 8 döngü halinde

maruziyet sonrası değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada klorheksidine maruz bırakıldıktan sonra kompozit rezinlerin Ra değerlerinde artış görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sözü geçen çalışmada kullanılan KHX konsantrasyonu, bizim uyguladığımız konsantrasyondan çok yüksektir, buna rağmen yüzey pürüzlülüğü değerlerinde anlamlı bir değişimin elde edilmemesi çalışmamızın bulgularını destekler niteliktedir.

Khan ve ark. (Khan, 2015) nanofil kompozit rezinin yüzey sertliği üzerinde 4 farklı oral çalkalama solüsyonunun etkilerini değerlendirmişlerdir. Nanofil kompozit rezin örnekler başlangıç yüzey sertliği ölçümünden sonra 14 gün boyunca solüsyonlara maruz bırakılmış ve sonuç yüzey sertliği ölçümü yapılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucunda % 0.12 KHX içeren oral çalkalama solüsyonun yüzey sertliğinde anlamlı bir azalmaya sebep olduğu bildirilmiş ve bu azalma içeriğindeki alkol ile ilişkilendirilmiştir. Alkolün, polimer zincirine nüfuz ederek ve kompozit rezinin yapısından reaksiyona girmemiş monomerlerin salınmasına neden olarak kompozit malzemenin hidrolitik bozunmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Khan, 2015). Araştırmacıların aksine çalışmamızda KHX kompozit rezinlerin yüzey sertliğinde anlamlı bir değişime sebep olmamış, kontrol grubuyla benzer etki göstermiştir. Bulgular arasındaki farklılığın kullandığımız KHX'nin düşük konsantrasyonda olmasından ve içeriğinde alkol bulunmamasından kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Yaptığımız literatür taramasında çalışmamızda kullandığımız doğal maddelerin ve bor türevlerinin, mine ve kompozit rezinlerin yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğü üzerine etkilerini değerlendiren, çalışmamızın sonuçlarını kıyaslayabileceğimiz benzer çalışmalar sayıca çok azdır, çalışmamızın bu yönüyle farklı in-vitro çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Propolisin mine üzerindeki etkileri ile ilgili literatüre bakıldığında yapılan çalışmaların propolisin minenin remineralizasyonuna etkisine odaklandığı görülmektedir. Ali ve ark. (Ali ve ark., 2021) demineralizasyon döngüsüne tabi tuttukları mine örneklerinde yüzey sertliği değişimini ölçerek, propolis yağının remineralizasyon potansiyelini değerlendirmişlerdir. Propolis yağının demineralize minede yüzey sertliğini ve minenin remineralizasyon kapasitesini artırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise mine örnekleri bir remineralizasyon döngüsüne tabi tutulmamış, sağlam mine yüzeyleri kullanılmıştır. Giamalia ve ark. (Giamalia ve ark., 1999) % 0.4, % 1 ve % 2 oranında propolis ekstratlarına maruz bıraktıkları minenin sertliğinin propolis konsantrasyonu ile paralel olarak arttığını, alınan SEM görüntülerinde mine yüzeyinde mineral çöktürmeleri görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise araştırmacıların test ettiklerinden çok daha düşük konsantrasyonlar olan, propolis için % 0.25, propolis nanoemülsiyonu için ise % 0.50 konsantrasyonları test edilmiştir. Bulgularımız literatürle benzer şekilde, propolis ve propolis nanoemülsiyonunun istatistiksel olarak anlamlı olmasa da minenin yüzey sertliğini artırırken yüzey pürüzlülüğünü azalttığını göstermiş, bu da mine remineralizasyonunun arttığını düşündürmüştür. Bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı seviyede olmamasının kullandığımız düşük konsantrasyonlar sebebiyle olduğunu ve daha yüksek konsantrasyonlarda anlamlı değişimlerin elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, P-NE kompozit rezinlerin yüzey sertliği ve yüzey pürüzlülüğünde anlamlı bir değişim oluşturmazken, propolis kompozit rezinin yüzey sertliğinde anlamlı bir azalmaya sebep olmuştur. Silva ve ark. (Silva ve ark., 2008) polimetilmetakrilat rezin (PMMA) kaidelerine uygulanan % 10 propolis etanolik ekstratı içerikli antifungal ajanın, kaidenin yüzey sertliğine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, propolis içerikli ajanın PMMA'nın yüzey sertliğini artırdığını ve bunun PMMA rezinin yüzeyinde biriken

propolis sebebiyle olabileceğini bildirmişlerdir. Bu bulguların aksine, Heidrich ve ark. (Heidrich ve ark., 2019) ise % 12 glikolik propolis ekstresinin dental akrilik rezinlerin yüzey sertliğine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, propolisin yüzey sertliğinde bir değişme sebep olmadığını bildirmişlerdir. Bu bilgiler doğrultusunda propolisin, dental rezin materyallerin yüzey sertliğine etkisinin anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kekik bitkisi antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuar etkileriyle farklı medikal alanlarda, uzun süreli kullanım geçmişine sahip bir bitkidir. (Açar& Aktören, 2022) Kekiğin bu etkileri, başlıca timol ve karvakrol olmak üzere yapısında bulunan fenolik bileşiklere atfedilmiştir, kekik bitkisi ayrıca yapısında kalsiyum, potasyum gibi çeşitli mineralleri de bulundurmaktadır (Elbahnasawy ve ark., 2019). Diş hekimliği literatüründe de kekik bitkisi, bu yönleriyle araştırmalara konu olmuştur, ancak kekikiğin ya da kekik içerikli bir solüsyonun mine ve kompozit rezinlerin yüzey özelliklerine etkisini konu alan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda kekik ekstresi mine ve kompozit rezinlerin yüzey sertliği ve pürüzlülüğünde anlamlı bir değişime sebep olmazken, kekik ekstresi ile hazırladığımız oral çalkalama solüsyonu mine örneklerinin yüzey pürüzlülüğünde azalmaya sebep olmuştur. Elde ettiğimiz verilerin desteklenmesi ve mekanizmasının açıklanabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Formüle ettiğimiz bir diğer oral çalkalama solüsyonu olan hindistan cevizi yağı nanoemülsiyonunun kompozit rezin örneklerin yüzey sertliğinde anlamlı bir etki oluşturmazken, yüzey pürüzlülüğü değerlerinde anlamlı bir azalma sağladığı görülmüştür. Bu azalmanın hindistan cevizi yağı nanoemülsiyon partiküllerinin kompozit rezini yapısına absorbe olup, pöröz alanlarda birikintiler oluşturmaları sonucunda oluştuğunu düşünmekteyiz. Yüzey pürüzlülüğü kompozit rezinlerin estetik özelliklerini ve restorasyon başarısını etkileyen önemli bir faktördür. Pürüzlülüğün artması estetik

açından kompozit rezinin parlaklığını azaltarak mat görünmesine, lekelenmeye karşı direncinin azalmasına sebep olurken, diğer yandan plak retansiyonunun artmasına ve sekonder çürüklerin oluşumuna zemin hazırlamakta ve restorasyon ömrünün kısılmasına sebep olmaktadır (Ölmez & Kisbet, 2013). Yaptığımız literatür taraması kapsamında çalışmamız hindistan cevizi yağı ile geliştirilmiş bir formülasyonun kompozit rezinlerin yüzey özelliklerine etkisini değerlendiren ilk çalışmadır, çalışmamızın bu yönüyle başka çalışmalara da ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullandığımız doğal maddeler olan hindistan cevizi yağı, propolis ve kekik ekstresi yüz yıllardır geleneksel tıp ve gıda alanında yaygın olarak kullanılmaktadır (Bhargava ve ark., 2021; DebMandal & Mandal, 2011; Salehi ve ark., 2018). Bu doğal maddelerin bir gıda ürünü olmasının yanında oral hijyen ürünlerinde ve uygulamalarında (Taheri ve ark., 2011; Woolley ve ark., 2020a) da sıklıkla kullanılmaya başlandığını göz önünde bulundurarak, elde ettiğimiz verilerin literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Bor türevleri ile hazırladığımız oral çalkalama solüsyonlarında elde ettiğimiz sonuçlara baktığımızda ise SB-Ç'nin sadece minenin yüzey sertliğinde anlamlı bir artış oluşturduğu diğer grupların ise mine ve kompozit rezin örneklerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Minede oluşan mikrosertlik değişimlerinin minenin mineral içeriğindeki değişikliklerin doğrudan bir ölçüsü olarak kullanılabileceği bildirilmiş, minenin mikrosertliğinde oluşan artış minede remineralizasyonun göstergesi olarak kabul edilmiştir (Toker ve ark., 2016). Hiraishi ve ark. (Hiraishi ve ark., 2021) çalışmalarında yüzey ön reaksiyonlu cam iyonomer (Surface Pre-reacted Glass-ionomer filler) (S-PRG) dolgu maddelerinden salınan borat iyonlarının mine dokusu ile etkileşimini incelemişler ve borat iyonlarının mine yapısındaki hidroksiapatite adsorbe olarak mineral birinkitileri oluşturduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların bulgulardan yola çıkarak, SB-Ç grubunda

elde ettiğimiz mikrosertlik artışının sodyum borat minerallerinin mine yapısına çökelmesi ve minenin mineral içeriğinin artması sebebiyle oluştuğunu düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonlarının ve saf etkin maddelerin etkisini, KHX altın standardı ile kıyasladığımızda, minenin yüzey sertliği ve pürüzlülüğü değişiminde gösterdikleri ΔVHN ve ΔRa değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kompozit rezinlerin yüzey sertliği değişiminde gösterdikleri ΔVHN değerlerinde de KHX ile aralarında anlamlı bir fark oluşmamıştır. Kompozit rezinlerin yüzey pürüzlülüğü değişiminde gösterdikleri etkilere baktığımızda ise ΔRa değerlerinde sadece HCY-NE grubuyla KHX grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmuş, diğer gruplar KHX grubu ile benzerlik göstermiştir. HCY-NE kompozit rezinlerin yüzey pürüzlülüğünde anlamlı bir azalmaya sebep olmuştur. Çalışmamızda test solüsyonları mine ve kompozit rezin örneklerine MİK değerlerinde uygulanmıştır, elde ettiğimiz bu veriler, KHX'e alternatif oral çalkalama solüsyonu arayışında umut vadeci olsa da, mine ve kompozit rezinin yüzey özelliklerine olan etkilerinin tam olarak aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız tüm basamaklarını değerlendirdiğimizde bazı kısıtlamalara sahiptir. Çalışmamızın ana kısıtlılığı in vitro test yöntemlerinin kullanılmış olmasıdır. Antibakteriyel etkinliğin ve sitotoksitenin belirlenmesinde in vitro test yöntemleri rutin olarak kullanılmalarına karşın, test maddeleriyle ortam bileşenleri arasında öngörülemeyen etkileşimler olabilir veya test formülasyonunun içeriğinde bulunan bir bileşenin olası uçuculuğu sonuçları etkileyebilir. Ağız ortamında meydana gelen termal değişikliklerin, kuvvetlerin taklit edilememesi, tükürük bileşenlerinin ve mikroorganizmaların hem birbiriyle hem de kullandığımız materyallerle etkileşimlerinin ön görülememesi çalışmamızın diğer bir sınırlamasıdır.

Bu sebeplerle klorheksidin altın standardının dezavantajlarının üstesinden gelmek, yeni bir oral çalkalama solüsyonu formülasyonunun standardizasyonunu sağlamak için test edilen materyaller üzerinde başka in vitro çalışmalara ve uzun vadeli klinik deneylere ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sınırları dahilinde elde edilen sonuç ve öneriler aşağıda sunulmuştur:

1. Propolis ve kekik ekstresi *S.salivarius*, *S.mitis*, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *L.fermentum* üzerinde antibakteriyel etki ve antibiyofilm aktivite göstermezken, *S.mutans* üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermiş ancak antibiyofilm etki göstermemiştir. Benzer şekilde propolis ve kekik ekstresinden formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonları da sadece *S.mutans* üzerinde antibakteriyel etki göstermiş ancak antibiyofilm aktivite göstermemiştir.
2. Hindistan cevizi yağı test ettiğimiz bakterilerin hiç biri üzerinde antibakteriyel etkinlik ve antibiyofilm etki göstermemiştir. Hindistan cevizi yağından formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonu ise tüm test bakterileri üzerinde antibakteriyel etki göstermiş ancak antibiyofilm aktivite göstermemiştir.
3. Bor nitrür, borik asit ve sodyum borat test ettiğimiz tüm bakteriler üzerinde antibakteriyel etki ve antibiyofilm aktivite göstermezken, bor nitrür, borik asit ve sodyum borattan formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonları tüm test bakterileri ve bakteri biyofilmlerine karşı antibakteriyel etki ve antibiyofilm aktivite göstermiştir.
4. KHX tüm test bakterilerine karşı antibakteriyel etki ve antibiyofilm aktivite göstermiştir.
5. KHX, HGF-1 hücreleri üzerinde test ettiğimiz konsantrasyon aralığında (0,312-5 mg/ml) yüksek sitotoksik etki göstermiştir.
6. Propolis ve kekik ekstresi test ettiğimiz konsantrasyon aralığında, HGF-1 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etki göstermiştir. Benzer şekilde propolis

ve kekik ekstresinden formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonları da test ettiğimiz konsantrasyon aralığında HGF-1 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etki göstermiştir.

7. Hindistan cevizi yağı HGF-1 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etki gösterirken hindistan cevizi yağından formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonu, yüksek konsantrasyonlarında, HGF-1 hücreleri üzerinde yüksek sitotoksik etki göstermiştir buna rağmen sitotoksik etkisi KHX' den daha azdır.
8. Test ettiğimiz konsantrasyon aralığında borik asit ve sodyum borat HGF-1 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etki gösterirken, borik asit ve sodyum borat kullanarak formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonları HGF-1 hücreleri üzerinde daha yüksek sitotoksik etkiye neden olmuştur. Buna rağmen sodyum borat çözeltisi KHX'den daha az, borik asit çözeltisi ise KHX ile benzer sitotoksik etki göstermiştir.
9. Bor nitrür yüksek konsantrasyonlarında, HGF-1 hücreleri üzerinde yüksek sitotoksik etki göstermiştir. Bor nitrür kullanarak formüle ettiğimiz oral çalkalama solüsyonu ise HGF-1 hücreleri üzerinde daha yüksek sitotoksik etki göstermesine rağmen, sitotoksik etkisi KHX'den çok daha azdır.
10. Minenin yüzey pürüzlülüğü değerleri, grupların kendi içinde değerlendirildiğinde sadece KE-NE grubunda farklılık göstermiş, KE-NE minenin yüzey pürüzlülüğünde azalmaya sebep olmuştur. Pürüzlülük değişimi değerlerinde (ΔRa) ise tüm gruplar kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir.
11. Minenin yüzey sertliği değerleri, grupların kendi içinde değerlendirildiğinde sadece SB-Ç grubunda farklılık göstermiş, SB-Ç minenin yüzey sertliğinde

artıŖa sebep olmuŖtur. Sertlik deęiŖimi değerlerinde (ΔVHN), tüm gruplar kontrol gurubu ile benzerlik gstermiŖtir.

12. Kompozit rezinin yüzey pürüzlülüğü değerleri, grupların kendi içinde değerlendirildiğinde sadece HCY-NE grubunda farklılık gstermiŖ, HCY-NE kompozit rezinin yüzey przllğde azalmaya sebep olmuŖtur. Pürüzlülük deęiŖimi değerlerinde (ΔRa) ise tüm gruplar kontrol grubu ile benzerlik gstermiŖtir.

13. Kompozit rezinin yüzey sertliği değerleri grupların kendi içinde değerlendirildiğinde sadece P grubunda farklılık gstermiŖ, P kompozit rezinin yüzey sertliğinde azalmaya sebep olmuŖtur. Sertlik deęiŖimi değerlerinde (ΔVHN), P grubu kontrol ile farklılık gsterirken diğer gruplar kontrol grubu ile benzerlik gstermiŖtir.

Elde ettiğimiz tüm sonuçları değerlendirdiğimizde bor nitrür ve sodyum borat içerikli oral çalkalama solüsyonları, test edilen tüm karyojenik bakteriler üzerinde antibakteriyel etki, bakteri biyofilmleri üzerinde ise antibiyofilm aktivite gstermeleri, sitotoksisitelerinin KHx'den çok daha dŖk olmaları ve MİK değerlerinde mine ve kompozit rezinin yüzey sertliği ve pürüzlülüğü deęiŖimine etkilerinin kontrol grubu ile benzer olmaları sebepleriyle n plana çıkmaktadır. In vitro olarak gerekleŖtirdięimiz alıŖmamızın sonuçları yeni in vitro alıŖmalarla ve in vivo deneylerle desteklenirse, bu materyallerden klorheksidine alternatif bir oral çalkalama solüsyonu geliŖtirilebileceęini dŖnmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Aas, J. A., Griffen, A. L., Dardis, S. R., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., Leys, E. J., & Paster, B. J. (2008). Bacteria of Dental Caries in Primary and Permanent Teeth in Children and Young Adults. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(4), 1407–1417. <https://doi.org/10.1128/JCM.01410-07>
- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721–5732. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005>
- Abbasi, A. J., Mohammadi, F., Bayat, M., Gema, S. M., Ghadirian, H., Seifi, H., Bayat, H., & Bahrami, N. (1970). Applications of Propolis in Dentistry: A Review. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 28(4). <https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i4.16>
- Abbasoğlu, U. (1996). Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri. *FABAD J. Pharm Sci.*, 22, 111–118.
- Açar, D. N., & Aktören, O. (2022). Diş Hekimliğinde Aromaterapi. *Selcuk Dental Journal*. <https://doi.org/10.15311/selcukdentj.1097018>
- Ács, K., Balázs, V. L., Kocsis, B., Bencsik, T., Böszörményi, A., & Horváth, G. (2018). Antibacterial activity evaluation of selected essential oils in liquid and vapor phase on respiratory tract pathogens. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 227. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2291-9>
- Addy, M., Moran, J., Newcombe, R., & Warren, P. (1995). The comparative tea staining potential of phenolic, chlorhexidine and anti-adhesive mouthrinses. *Journal of Clinical Periodontology*, 22(12), 923–928. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1995.tb01796.x>
- Ademe, D., Admassu, D., & Balakrishnan, S. (2020). Analysis of salivary level *Lactobacillus* spp. and associated factors as determinants of dental caries amongst

- primary school children in Harar town, eastern Ethiopia. *BMC Pediatrics*, 20(1), 18.
<https://doi.org/10.1186/s12887-020-1921-9>
- Airen, B., Sarkar, P. A., Tomar, U., & Bishen, K. A. (2018). Antibacterial effect of propolis derived from tribal region on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An in vitro study. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 36(1), 48–52.
https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_1128_17
- Akca, A. E., Akca, G., Topçu, F. T., Macit, E., Pıkdöken, L., & 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*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/3627463>
- Alansy, A. S., Saeed, T. A., Al-Attab, R., Guo, Y., Yang, Y., Liu, B., & Fan, Z. (2022). Boron nitride nanosheets modified with zinc oxide nanoparticles as novel fillers of dental resin composite. *Dental Materials*, 38(10), e266–e274.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.08.010>
- AlEraky, D. M., Madi, M., El Tantawi, M., AlHumaid, J., Fita, S., AbdulAzeez, S., Borgio, J. F., Al-Harbi, F. A., & Alaghl, A. S. (2021). Predominance of non-*Streptococcus mutans* bacteria in dental biofilm and its relation to caries progression. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 7390–7395.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.052>
- Ali, S., Farooq, I., Bugshan, A., Siddiqui, I. A., Al-Khalifa, K. S., & Al-Hariri, M. (2021). Efficacy of propolis in remineralising artificially induced demineralisation of human enamel - An in-vitro study. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 16(2), 283–287. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2020.10.022>
- Amit, Jamwal, R., Kumari, S., Kelly, S., Cannavan, A., & Singh, D. K. (2022).

- Assessment of geographical origin of virgin coconut oil using inductively coupled plasma mass spectrometry along with multivariate chemometrics. *Current Research in Food Science*, 5, 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.003>
- Amoros, M., Lurton, E., Boustie, J., Girre, L., Sauvager, F., & Cormier, M. (1994). Comparison of the Anti-Herpes Simplex Virus Activities of Propolis and 3-Methyl-but-2-enyl Caffeate. *Journal of Natural Products*, 57(5), 644–647. <https://doi.org/10.1021/np50107a013>
- An, B., Wang, R., & Zhang, D. (2012). Role of crystal arrangement on the mechanical performance of enamel. *Acta Biomaterialia*, 8(10), 3784–3793. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.06.026>
- Anauate-Netto, C., Anido-Anido, A., Lewgoy, H. R., Matsumoto, R., Alonso, R. C. B., Marcucci, M. C., Paulino, N., & Bretz, W. A. (2014). Randomized, Double-masked, Placebo-controlled Clinical Trial on the Effects of Propolis and Chlorhexidine Mouthrinses on Gingivitis. *Brazilian Dental Science*, 17(1), 11–15. <https://doi.org/10.14295/bds.2014.v17i1.947>
- Arabacı, Ç. (2019). Streptokoklar. In *Güncel Mikrobiyoloji Çalışmaları*. Akademisyen kitabevi.
- Aral, K., Çelik Güler, Ö., Cooper, P. R., Shoker, S., Kuehne, S. A., & Milward, M. R. (2020). Antimicrobial Effects of Boric Acid against Periodontal Pathogens. *Journal of Ege University School of Dentistry*, 41(1), 20–25. <https://doi.org/10.5505/eudfd.2020.04935>
- Arnold, W.H, Cerman, M., Neuhaus, K., & Gaengler, P. (2003). Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Archives of Oral Biology*, 48(6), 467–473. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(03\)00087-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(03)00087-6)

- Arnold, Wolfgang H, Dorow, A., Langenhorst, S., Gintner, Z., Bánóczy, J., & Gaengler, P. (2006). Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Health*, 6(1), 8. <https://doi.org/10.1186/1472-6831-6-8>
- Arslan, S., Perçin, D., Koç, A. N., ER, Ö., & Silici, S. (2012). Antimicrobial activity of poplar propolis on mutans streptococci and caries development in rats. *Turkish Journal of Biology*, 36. <https://doi.org/10.3906/biy-1101-180>
- Babgi, W., Alhajaji, M., Al-Mehmadi, L., Elbaqli, R., Khayat, N., Aldahlawi, S., & Youssef, A.-R. (2021). Effect of root conditioning agents hyaluronic acid, EDTA and chlorhexidine on the attachment of human gingival fibroblasts to healthy root surface. *The Saudi Dental Journal*, 33(6), 342–347. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2020.03.009>
- Babich, H., Wurzbürger, B. J., Rubin, Y. L., Sinensky, M. C., & Blau, L. (1995). Anin vitro study on the cytotoxicity of chlorhexidine digluconate to human gingival cells. *Cell Biology and Toxicology*, 11(2), 79–88. <https://doi.org/10.1007/BF00767493>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bayraktar, G., Yılmaz, A., & Özener, H. Ö. (2023). Klorheksidin İnsan Dişeti Fibroblastları Üzerindeki Hücre Canlılığı ve Sitotoksikite Etkinliğinin İn vitro Koşullarda Değerlendirilmesi. *European Journal of Research in Dentistry, Cilt: 7-* (Cilt: 7-Sayı: 1), 27–32. <https://doi.org/10.29228/erd.40>
- Bechtle, S., Habelitz, S., Klocke, A., Fett, T., & Schneider, G. A. (2010). The fracture behaviour of dental enamel. *Biomaterials*, 31(2), 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.050>
- Becker, M. R., Paster, B. J., Leys, E. J., Moeschberger, M. L., Kenyon, S. G., Galvin, J.

- L., Boches, S. K., Dewhirst, F. E., & Griffen, A. L. (2002). Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(3), 1001–1009. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.3.1001-1009.2002>
- Ben-Jabeur, M., Ghabri, E., Myriam, M., & Hamada, W. (2015). Thyme essential oil as a defense inducer of tomato against gray mold and Fusarium wilt. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.05.006>
- Berchier, C. E., Slot, D. E., & Van der Weijden, G. A. (2010). The efficacy of 0.12% chlorhexidine mouthrinse compared with 0.2% on plaque accumulation and periodontal parameters: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(9), 829–839. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01575.x>
- Bhargava, P., Mahanta, D., Kaul, A., Ishida, Y., Terao, K., Wadhwa, R., & Kaul, S. C. (2021). Experimental Evidence for Therapeutic Potentials of Propolis. *Nutrients*, 13(8), 2528. <https://doi.org/10.3390/nu13082528>
- Biocompatibility of Dental Materials*. (2009). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-77782-3>
- Bjorndal, L., & Kidd, E. A. (2005). The Treatment of Deep Dentine Caries Lesions. *Dental Update*, 32(7), 402–413. <https://doi.org/10.12968/denu.2005.32.7.402>
- Bonilla, E. D., Hayashi, M., Pameijer, C. H., Le, N. V., Morrow, B. R., & Garcia-Godoy, F. (2020). The effect of two composite placement techniques on fracture resistance of MOD restorations with various resin composites. *Journal of Dentistry*, 101, 103348. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103348>
- Borgnakke, W. S. (2015). Does treatment of periodontal disease influence systemic disease? *Dental Clinics*, 59(4), 885–917.
- Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2018). Oral Biofilms: Pathogens,

- Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in Microbiology*, 26(3), 229–242. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>
- Bretz, W. A., Chiego, D. J., Marcucci, M. C., Cunha, I., Custódio, A., & Schneider, L. G. (1998). Preliminary Report on the Effects of Propolis on Wound Healing in the Dental Pulp. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 53(11–12), 1045–1048. <https://doi.org/10.1515/znc-1998-11-1217>
- Brookes, Z. L. S., Bescos, R., Belfield, L. A., Ali, K., & Roberts, A. (2020). Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *Journal of Dentistry*, 103, 103497. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103497>
- Browne, R. M. (2007). The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials- does it have a role? *International Endodontic Journal*, 21(2), 50–58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1988.tb00955.x>
- Buket Kaynar, Z., Doğan, T., Dönmez, N., & Kazak, M. (2022). Karanfil Ve Yeşil Çayın Restoratif Materyallerin Yüzey Ve Optik Özellikleri Üzerine Etkisi: İn Vitro Çalışma. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 1–1. <https://doi.org/10.17567/ataunidfd.953257>
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347–363.
- Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia coli O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, 36(3), 162–167. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01285.x>
- Buzalaf, M. A. R., Pessan, J. P., Honório, H. M., & ten Cate, J. M. (2011). *Mechanisms of Action of Fluoride for Caries Control* (pp. 97–114). <https://doi.org/10.1159/000325151>
- Calò, R., Visone, C. M., & Marabini, L. (2015). Thymol and Thymus Vulgaris L. activity

- against UVA- and UVB-induced damage in NCTC 2544 cell line. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 791, 30–37.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.07.009>
- Caprioli, A. (2000). Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), 295–301. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00140-0](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00140-0)
- Chandler, H. (Ed.). (1999). *Hardness Testing, 2nd Edition* (2nd ed.). ASM International.
- Chatzigiannidou, I., Teughels, W., Van de Wiele, T., & Boon, N. (2020). Oral biofilms exposure to chlorhexidine results in altered microbial composition and metabolic profile. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 6(1), 1–8.
- Chen, Y., Lan, T., Duan, L., Wang, F., Zhao, B., Zhang, S., & Wei, W. (2015). Adsorptive Removal and Adsorption Kinetics of Fluoroquinolone by Nano-Hydroxyapatite. *PLOS ONE*, 10(12), e0145025. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145025>
- Cieplik, F., Jakubovics, N. S., Buchalla, W., Maisch, T., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2019). Resistance Toward Chlorhexidine in Oral Bacteria – Is There Cause for Concern? *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00587>
- Coelho, A. S., Laranjo, M., Gonçalves, A. C., Paula, A., Paulo, S., Abrantes, A. M., Caramelo, F., Ferreira, M. M., Silva, M. J., Carrilho, E., & Botelho, M. F. (2020). Cytotoxic effects of a chlorhexidine mouthwash and of an enzymatic mouthwash on human gingival fibroblasts. *Odontology*, 108(2), 260–270.
<https://doi.org/10.1007/s10266-019-00465-z>
- Comba, A., Scotti, N., Maravić, T., Mazzoni, A., Carossa, M., Breschi, L., & Cadenaro, M. (2020). Vickers Hardness and Shrinkage Stress Evaluation of Low and High Viscosity Bulk-Fill Resin Composite. *Polymers*, 12(7).

<https://doi.org/10.3390/polym12071477>

- Corbin, A., Pitts, B., Parker, A., & Stewart, P. S. (2011). Antimicrobial Penetration and Efficacy in an In Vitro Oral Biofilm Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(7), 3338–3344. <https://doi.org/10.1128/AAC.00206-11>
- Daugusch, A., Moraes, C. S., Fort, P., & Park, Y. K. (2008). Brazilian red propolis—chemical composition and botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5.
- Dayrit, F. M. (2015). The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2562-7>
- De Seta, F., Schmidt, M., Vu, B., Essmann, M., & Larsen, B. (2008). Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of Candida vaginitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(2), 325–336. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn486>
- De Seta, Francesco, Schmidt, M., Vu, B., Essmann, M., & Larsen, B. (2009). Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of Candida vaginitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(2), 325–336.
- DebMandal, M., & Mandal, S. (2011). Coconut (Cocos nucifera L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(3), 241–247. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60078-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60078-3)
- Değim, Z. (2004). Çözeltiler. In *Modern Farmasötik Teknoloji* (pp. 228–242).
- Deirdre L. Church , Elmer W. Koneman , Gail L. Woods , Gary W. Procop , Geraldine S. Hall , Paul C. Schreckenberger , William M. JandaDeirdre L. Church , Elmer W. Koneman , Gail L. Woods , Gary W. Procop , Geraldine S. Hall , Paul C. Schreckenberger, W. M. J. (Ed.). (n.d.). Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. In 1997 (5th ed., pp. 86–856). Wolters Kluwer.

- Demirci, S., Kaya, M. S., Doğan, A., Kalay, Ş., Altın, N. Ö., Yarat, A., Akyüz, S. H., & ŞAHİN, F. (2015). Antibacterial and cytotoxic properties of boron-containing dental composite. *Turkish Journal Of Biology*, 39, 417–426. <https://doi.org/10.3906/biy-1408-18>
- Demirer, S., Kara, M. I., Erciyas, K., Ozdemir, H., Ozer, H., & Ay, S. (2012). Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Archives of Oral Biology*, 57(1), 60–65.
- Demirez Bircan, Z. (2021). *Çeşitli bitki özütlerinin antimikrobiyal etkinliği ile diş minesi üzerine etkilerinin in vitro değerlendirmesi*. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi.
- Demirtaş, A. (2006). Bor Bileşikleri ve Tarımda Kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*.
- Deveci, C., & Çınar, Ç. (n.d.). Dental caries diagnosis, prevention and management. *Intech Open London*, 129–131.
- Dobrowolski, J. W., Vohora, S. B., Sharma, K., Shah, S. A., Naqvi, S. A. H., & Dandiya, P. C. (1991). Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(1), 77–82.
- Dodwad, V., & Kukreja, B. J. (2011). Propolis mouthwash: A new beginning. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(2), 121.
- Duarte, S., Koo, H., Bowen, W. H., Hayacibara, M. F., Cury, J. A., Ikegaki, M., & Rosalen, P. L. (2003). Effect of a Novel Type of Propolis and Its Chemical Fractions on Glucosyltransferases and on Growth and Adherence of Mutans Streptococci. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(4), 527–531. <https://doi.org/10.1248/bpb.26.527>
- Dunn, L. L., Davidson, P. M., & Critzer, F. J. (2016). Antimicrobial Efficacy of an Array

- of Essential Oils Against Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Science*, 81(2), M438–M444. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13181>
- Düzgün Ergün, D., & Soyocak, A. (2021). Borik Asidin Fibroblast Hücrelerinde Hücre Canlılığı/Sitotoksikite Etkinliğinin in vitro Olarak Değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 16(2), 390–396. <https://doi.org/10.29233/sdufeffd.915866>
- Džunková, M., Martinez-Martinez, D., Gardlík, R., Behuliak, M., Janšáková, K., Jiménez, N., Vázquez-Castellanos, J. F., Martí, J. M., D’Auria, G., Bandara, H. M. H. N., Latorre, A., Celec, P., & Moya, A. (2018). Oxidative stress in the oral cavity is driven by individual-specific bacterial communities. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 4(1), 29. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0072-3>
- Edlund, A., Yang, Y., Yooseph, S., Hall, A. P., Nguyen, D. D., Dorrestein, P. C., Nelson, K. E., He, X., Lux, R., Shi, W., & McLean, J. S. (2015). Meta-omics uncover temporal regulation of pathways across oral microbiome genera during in vitro sugar metabolism. *The ISME Journal*, 9(12), 2605–2619. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.72>
- Elbahnasawy, A. S., Valeeva, E. R., El-Sayed, E. M., & Rakhimov, I. I. (2019). The Impact of Thyme and Rosemary on Prevention of Osteoporosis in Rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2019, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/1431384>
- Elshafie, H., Armentano, M., Carmosino, M., Bufo, S., De Feo, V., & Camele, I. (2017). Cytotoxic Activity of Origanum Vulgare L. on Hepatocellular Carcinoma cell Line HepG2 and Evaluation of its Biological Activity. *Molecules*, 22(9), 1435. <https://doi.org/10.3390/molecules22091435>
- Eriksen, H. M., Nordbo, H., Kantanen, H., & Elungsen, J. E. (1985). Chemical plaque control and extrinsic tooth discoloration. A review of possible mechanisms. *Journal*

- of *Clinical Periodontology*, 12(5), 345–350. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1985.tb00924.x>
- Erkekoğlu, P., & Baydar, T. (2021). Güncel In Vitro Sitotoksikite Testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 41(1), 45–63.
- Fani, M., & Kohanteb, J. (2017). In Vitro Antimicrobial Activity of Thymus vulgaris Essential Oil Against Major Oral Pathogens. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(4), 660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
- Farci, F., & Soni, A. (2022). Histology, Tooth. In *StatPearls*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32087326>
- Faria, G., Cardoso, C. R. B., Larson, R. E., Silva, J. S., & Rossi, M. A. (2009). Chlorhexidine-induced apoptosis or necrosis in L929 fibroblasts: A role for endoplasmic reticulum stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234(2), 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.10.012>
- Favaro, J. C., Ribeiro, E., Guiraldo, R. D., Lopes, M. B., Aranha, A. M. F., & Berger, S. B. (2020). Effect of mouth rinses on tooth enamel surface. *Journal of Oral Science*, 62(1), 103–106. <https://doi.org/10.2334/josnusd.18-0370>
- Featherstone, J. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53(3), 286–291. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x>
- Featherstone, J. D. B. (2004). The Continuum of Dental Caries—Evidence for a Dynamic Disease Process. *Journal of Dental Research*, 83(1_suppl), 39–42. <https://doi.org/10.1177/154405910408301s08>
- Featherstone, J. D. B. (2000). The Science And Practice Of Caries Prevention. *The Journal of the American Dental Association*, 131(7), 887–899. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2000.0307>

- Fejerskov O, Kidd EAM, eds. (2003). *Dental caries: the disease and its clinical management*.
- Fejerskov, O. (1979). Human Dentition and Experimental Animals. *Journal of Dental Research*, 58(2_suppl), 725–734. <https://doi.org/10.1177/002203457905800224011>
- Fejerskov, O. (2004). Changing Paradigms in Concepts on Dental Caries: Consequences for Oral Health Care. *Caries Research*, 38(3), 182–191. <https://doi.org/10.1159/000077753>
- Ferracane, J. L. (2011). Resin composite—State of the art. *Dental Materials*, 27(1), 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.10.020>
- Filho, O. M., & Carvalho, A. C. P. de. (1990). Application of propolis to dental sockets and skin wounds. *The Journal of Nihon University School of Dentistry*, 32(1), 4–13. <https://doi.org/10.2334/josnugd1959.32.4>
- Firdaus, N. S., Fauziah, E., & 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.
- Forssten, S. D., Björklund, M., & Ouwehand, A. C. (2010). Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. *Nutrients*, 2(3), 290–298. <https://doi.org/10.3390/nu2030290>
- Frank, S., Capriotti, J., Brown, S. M., & Tessema, B. (2020). Povidone-Iodine Use in Sinonasal and Oral Cavities: A Review of Safety in the COVID-19 Era. *Ear, Nose & Throat Journal*, 99(9), 586–593. <https://doi.org/10.1177/0145561320932318>
- Fuentes, V., Toledano, M., Osorio, R., & Carvalho, R. M. (2003). Microhardness of superficial and deep sound human dentin. *Journal of Biomedical Materials Research*, 66A(4), 850–853. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10064>
- García, J. C., Sanz Lobera, A., Maresca, P., Pareja, T. F., & Wang, C. (2018). Some

- Considerations about the Use of Contact and Confocal Microscopy Methods in Surface Texture Measurement. *Materials*, 11(8), 1484.
<https://doi.org/10.3390/ma11081484>
- Ghorab, H., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2014). Comparative composition of essential oil of *Thymus* growing in various soil and climate of North Africa. *J Mater Environ Sci*, 5, 298–303.
- Giamalia, I., Steinberg, D., Grobler, S., & Gedalia, I. (1999). The effect of propolis exposure on microhardness of human enamel in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation*, 26(12), 941–943. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2842.1999.00472.x>
- Giannelli, M., Chellini, F., Margheri, M., Tonelli, P., & Tani, A. (2008). Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: A molecular and ultrastructural investigation. *Toxicology in Vitro*, 22(2), 308–317.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.09.012>
- Gilmore, O. J. (1977). A reappraisal of the use of antiseptics in surgical practice. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 59(2), 93–103.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/320934>
- Gjeramo, P., Rolla, G., & Arskaug, L. (1973). Effect on dental plaque formation and some in vitro properties of 12 bis-biguanides. *Journal of Periodontal Research*, 8(s12), 81–88. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1973.tb02169.x>
- Golus, J., Sawicki, R., Widelski, J., & Ginalska, G. (2016). The agar microdilution method - a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 121(5), 1291–1299.
<https://doi.org/10.1111/jam.13253>
- Goto, S., Yoshitomi, H., & FUJII, S. (1977). The Effect of Quaternary Ammonium Compounds on Stomach Emptying. *YAKUGAKU ZASSHI*, 97(7), 801–804.

https://doi.org/10.1248/yakushi1947.97.7_801

- Gray, P. E. A., Katelaris, C. H., & Lipson, D. (2013). Recurrent anaphylaxis caused by topical povidone-iodine (Betadine). *Journal of Paediatrics and Child Health*, 49(6), 506–507. <https://doi.org/10.1111/JPC.12232>
- Gross, E. L., Beall, C. J., Kutsch, S. R., Firestone, N. D., Leys, E. J., & Griffen, A. L. (2012). Beyond Streptococcus mutans: Dental Caries Onset Linked to Multiple Species by 16S rRNA Community Analysis. *PLoS ONE*, 7(10), e47722. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047722>
- Grossman, E., Meckel, A. H., Isaacs, R. L., Ferretti, G. A., Sturzenberger, O. P., Bollmer, B. W., Moore, D. J., Lijana, R. C., & Manhart, M. D. (1989). A Clinical Comparison of Antibacterial Mouthrinses: *Journal of Periodontology*, 60(8), 435–440. <https://doi.org/10.1902/jop.1989.60.8.435>
- Guo, L., Hu, W., He, X., Lux, R., McLean, J., & Shi, W. (2013). Investigating Acid Production by Streptococcus mutans with a Surface-Displayed pH-Sensitive Green Fluorescent Protein. *PLoS ONE*, 8(2), e57182. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057182>
- Gürel Ekici, M. A., Alkan, F., Deniz Arisu, H., & Helvacıoğlu Kıvanç, B. (2016). Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and fluoride on the microhardness of enamel treated with a bleaching agent: ex vivo. *Acta Odontologica Turcica*. <https://doi.org/10.17214/gaziaot.267232>
- Gürkan, S., Önen, A., & Köprülü, H. (1997). In Vitro Effects Of Alcohol-containing and alcohol-free mouthrinses on microhardness of some restorative materials. *Journal of Oral Rehabilitation*, 24(3), 244–246. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.1997.tb00321.x>
- Gurgan, S., & Yalcin Cakir, F. (2008). The effect of three different mouthrinses on the

- surface hardness, gloss and colour change of bleached nano composite resins. *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry*, 16(3), 104–108.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19051551>
- Hammad, M., Sallal, A.-K., & Darmani, H. (2007). Inhibition of *Streptococcus mutans* adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extract of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Dental Hygiene*, 5(4), 232–235.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2007.00266.x>
- Han, L., Yuan, B., Shimada, R., Hayashi, H., Si, N., Zhao, H.-Y., Bian, B., & Takagi, N. (2018). Cytocidal effects of arenobufagin and hellebrigenin, two active bufadienolide compounds, against human glioblastoma cell line U-87. *International Journal of Oncology*. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4567>
- Hannig, C., Hannig, M., & Attin, T. (2005). Enzymes in the acquired enamel pellicle. *European Journal of Oral Sciences*, 113(1), 2–13. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2004.00180.x>
- He, Y., & He, X. (2016). Molecular design and genetic optimization of antimicrobial peptides containing unnatural amino acids against antibiotic-resistant bacterial infections. *Biopolymers*, 106(5), 746–756. <https://doi.org/10.1002/bip.22885>
- Head, D., A. Devine, D., & Marsh, P. D. (2017). In silico modelling to differentiate the contribution of sugar frequency versus total amount in driving biofilm dysbiosis in dental caries. *Scientific Reports*, 7(1), 17413. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17660-z>
- Heidrich, D., Fortes, C. B. B., Mallmann, A. T., Vargas, C. M., Arndt, P. B., & Schroferneker, M. L. (2019). Rosemary, Castor Oils, and Propolis Extract: Activity Against *Candida Albicans* and Alterations on Properties of Dental Acrylic Resins. *Journal of Prosthodontics*, 28(2), e863–e868. <https://doi.org/10.1111/jopr.12746>

- Hervás-García, A., Martínez-Lozano, M. A., Cabanes-Vila, J., Barjau-Escribano, A., & Fos-Galve, P. (2006). Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 11(2), E215-20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16505805>
- Hickel, R., Dasch, W., Janda, R., Tyas, M., & Anusavice, K. (1998). New direct restorative materials. *International Dental Journal*, 48(1), 3–16. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.1998.tb00688.x>
- Hicks, J., Garcia-Godoy, F., & Flaitz, C. (2004). Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 28(1), 47–52. <https://doi.org/10.17796/jcpd.28.1.yg6m443046k50u20>
- Hiraishi, N., Sayed, M., Hill, R., Tagami, J., & Hayashi, F. (2021). Interactions of boron released from surface pre-reacted glass ionomer with enamel/dentin and its effect on pH. *Scientific Reports*, 11(1), 15734. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95279-x>
- Hossain, M. M., Scott, I. M., Berruti, F., & Briens, C. (2016). Application of 1D and 2D MFR reactor technology for the isolation of insecticidal and anti-microbial properties from pyrolysis bio-oils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(12), 860–867. <https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1211908>
- Huang, S., Zhang, C.-P., Wang, K., Li, G., & Hu, F.-L. (2014). Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules*, 19(12), 19610–19632. <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Hünler Dönmez, İ. (2021). *Doğal kaynaklı ürünlerin oral patojenler üzerinde antimikrobiyal etkinliklerinin in vitro değerlendirmesi.*
- Hwang, G., Liu, Y., Kim, D., Sun, V., Aviles-Reyes, A., Kajfasz, J. K., Lemos, J. A., & Koo, H. (2016). Simultaneous spatiotemporal mapping of in situ pH and bacterial

- activity within an intact 3D microcolony structure. *Scientific Reports*, 6(1), 32841. <https://doi.org/10.1038/srep32841>
- Ibrahim, A. H., Khan, M. S. S., Al-Rawi, S. S., Ahamed, M. B. K., Majid, A. S. B. A., Al-Suede, F. S. R., Ji, D., & Majid, A. M. S. A. (2016). Safety assessment of widely used fermented virgin coconut oil (*Cocos nucifera*) in Malaysia: Chronic toxicity studies and SAR analysis of the active components. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 81, 457–467. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.004>
- Ilie, N., Hilton, T. J., Heintze, S. D., Hickel, R., Watts, D. C., Silikas, N., Stansbury, J. W., Cadenaro, M., & Ferracane, J. L. (2017). Academy of Dental Materials guidance—Resin composites: Part I—Mechanical properties. *Dental Materials*, 33(8), 880–894. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.04.013>
- Indu S. R., A., Sargod, S. S., Bhat, S. S., Manikkoth, S., & Ramakrishnan, N. (2019). Effectiveness of chitosan mouthwash on plaque formation and levels of salivary *Streptococcus* and *Lactobacillus* count: an in vivo study. 2019, 8(11), 7. <https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20194777>
- iso. (2002). Metallic Materials: Instrumented Indentation Test for Hardness and Materials Parameters. Verification and Calibration of Testing Machines. *International Organization for Standardization*.
- Jakubovics, N. S., Yassin, S. A., & Rickard, A. H. (2014). *Community Interactions of Oral Streptococci* (pp. 43–110). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800261-2.00002-5>
- Jenkins, S., Addy, M., & Wade, W. (1988). The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *Journal of Clinical Periodontology*, 15(7), 415–424. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1988.tb01595.x>

- Jeong, K.-Y., Lee, H.-J., & Park, Y.-N. (2011). Erosive Effect and Color of Mouthrinsing Solutions on Enamel Surface. *Journal of Dental Hygiene Science*, 11(5), 397–404.
- Jones, C. S., Billington, R. W., & Pearson, G. J. (2004). The in vivo perception of roughness of restorations. *British Dental Journal*, 196(1), 42–45. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4810881>
- Jones, R. N., Stilwell, M. G., Wilson, M. L., & Mendes, R. E. (2013). Contemporary tetracycline susceptibility testing: doxycycline MIC methods and interpretive criteria (CLSI and EUCAST) performance when testing Gram-positive pathogens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 76(1), 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.01.023>
- Joniot, S., Salomon, J. P., Dejou, J., & Grégoire, G. (2006). Use of Two Surface Analyzers to Evaluate the Surface Roughness of Four Esthetic Restorative Materials After Polishing. *Operative Dentistry*, 31(1), 39–46. <https://doi.org/10.2341/04-166>
- K, D., B, M., M, M., & J, H. (2010). In-vitro anti fungal activity of Propolis alcoholic extract on Candida spp. and Aspergillus spp. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications*, 68.
- Kakaboura, A., Fragouli, M., Rahiotis, C., & Silikas, N. (2007). Evaluation of surface characteristics of dental composites using profilometry, scanning electron, atomic force microscopy and gloss-meter. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(1), 155–163. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0675-8>
- Kanth, M. R. (2016). Efficacy of Specific Plant Products on Dental Caries Causing Microorganisms. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19772.9025>
- Kaplan, M., Özgür, E., Ersoy, O., Kehribar, L., İdil, N., & Uzun, L. (2021). Borate mineral loading into acrylic bone cements to gain cost-effectivity, enhanced

- antibacterial resistivity, and better cellular integration properties. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 32(8), 980–993.
<https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1880169>
- Kaushik, M, Reddy, P., Sharma, R., Udameshi, P., Mehra, N., & Marwaha, A. (2016). The Effect of Coconut Oil pulling on Streptococcus mutans Count in Saliva in Comparison with Chlorhexidine Mouthwash. *J Contemp Dent Pract*, 17(1), 38–41.
<https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1800>
- Kaushik, Mamta, Reddy, P., Sharma, R., Udameshi, P., Mehra, N., & Marwaha, A. (2016). The effect of coconut oil pulling on Streptococcus mutans count in saliva in comparison with chlorhexidine mouthwash. *J Contemp Dent Pract*, 17(1), 38–41.
- Khalil, M. L. (n.d.). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 7(1), 22–31.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16629510>
- Khan, A. A. (2015). Evaluation of mouth rinses on degradation and hardness of dental nano-composite. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 31(6).
<https://doi.org/10.12669/pjms.316.7611>
- Kidd, E. A. M., & Fejerskov, O. (2004). What Constitutes Dental Caries? Histopathology of Carious Enamel and Dentin Related to the Action of Cariogenic Biofilms. *Journal of Dental Research*, 83(1_suppl), 35–38.
<https://doi.org/10.1177/154405910408301s07>
- Kıvanç, M, Barutca, B., Koparal, A. T., Göncü, Y., Bostancı, S. H., & Ay, N. (2018). Effects of hexagonal boron nitride nanoparticles on antimicrobial and antibiofilm activities, cell viability. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 91, 115–124.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.028>
- Kıvanç, Merih, Barutca, B., Koparal, A. T., Göncü, Y., Bostancı, S. H., & Ay, N. (2018).

- Effects of hexagonal boron nitride nanoparticles on antimicrobial and antibiofilm activities, cell viability. *Materials Science and Engineering: C*, 91, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.028>
- Kodaka, T., Kobori, M., Hirayama, A., & Abe, M. (1999). Abrasion of human enamel by brushing with a commercial dentifrice containing hydroxyapatite crystals in vitro. *Journal of Electron Microscopy*, 48(2), 167–172. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jmicro.a023663>
- Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Rickard, A. H., Jakubovics, N. S., Chalmers, N. I., & Diaz, P. I. (2006). Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology* 2000, 42(1), 47–79. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00187.x>
- Krzyściak, W., Jurczak, A., Kościelniak, D., Bystrowska, B., & Skalniak, A. (2014). The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33(4), 499–515.
- Kukreja, B., & Dodwad, V. (2011). Propolis mouthwash: A new beginning. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(2), 121. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.84379>
- Külekçi, G., Çintan, S., & Dülger, O. (1999). Diş Hekimliğinde Antimikrobiyal Ağız Gargaralarının Kullanılması. *ANKEM Derge*, 3, 208–213.
- Kutlu, S. S., Sacar, S., Cevahir, N., & Turgut, H. (2008). Community-acquired *Streptococcus mitis* meningitis: a case report. *International Journal of Infectious Diseases*, 12(6), e107–e109. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.01.003>
- Kwon, S. R., Kurti, S. R., Oyoyo, U., & Li, Y. (2015). Effect of various tooth whitening modalities on microhardness, surface roughness and surface morphology of the enamel. *Odontology*, 103(3), 274–279. <https://doi.org/10.1007/s10266-014-0163-4>

- Labella, R., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B., & Vanherle, G. (1999). Polymerization shrinkage and elasticity of flowable composites and filled adhesives. *Dental Materials*, 15(2), 128–137. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(99\)00022-6](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(99)00022-6)
- Lakade, L. S., Shah, P., & 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.
- Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745–759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>
- Laureles, L. R., Rodriguez, F. M., Reaño, C. E., Santos, G. A., Laurena, A. C., & Mendoza, E. M. T. (2002). Variability in Fatty Acid and Triacylglycerol Composition of the Oil of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Hybrids and Their Parentals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1581–1586. <https://doi.org/10.1021/jf010832w>
- Lemos, J. A., & Burne, R. A. (2008). A model of efficiency: stress tolerance by *Streptococcus mutans*. *Microbiology*, 154(11), 3247–3255. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/023770-0>
- Lewczuk, B., & Szyryńska, N. (2021). Field-Emission Scanning Electron Microscope as a Tool for Large-Area and Large-Volume Ultrastructural Studies. *Animals*, 11(12), 3390. <https://doi.org/10.3390/ani11123390>
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. (2017). Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, 22(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Liu, J. X., Werner, J., Kirsch, T., Zuckerman, J. D., & Virk, M. S. (2018). Cytotoxicity

- evaluation of chlorhexidine gluconate on human fibroblasts, myoblasts, and osteoblasts. *Journal of Bone and Joint Infection*, 3(4), 165–172.
<https://doi.org/10.7150/jbji.26355>
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Maisanaba, S., Puerto, M., Pichardo, S., Jos, A., Moyano, R., & Cameán, A. M. (2017). A subchronic 90-day oral toxicity study of *Origanum vulgare* essential oil in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 101, 36–47.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.01.001>
- Loe, H., & Rindom Schiott, C. (1970). The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *Journal of Periodontal Research*, 5(2), 79–83. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1970.tb00696.x>
- Loesche, W. J. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological Reviews*, 50(4), 353–380. <https://doi.org/10.1128/mr.50.4.353-380.1986>
- Luan, Q., Desta, T., Chehab, L., Sanders, V. J., Plattner, J., & Graves, D. T. (2008). Inhibition of Experimental Periodontitis by a Topical Boron-based Antimicrobial. *Journal of Dental Research*, 87(2), 148–152.
<https://doi.org/10.1177/154405910808700208>
- Mahmoud, A. S., Almas, K., & Dahlan, A. A. (1999). The effect of propolis on dentinal hypersensitivity and level of satisfaction among patients from a university hospital Riyadh, Saudi Arabia. *Indian Journal of Dental Research : Official Publication of Indian Society for Dental Research*, 10(4), 130–137.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10865396>
- Mahmoud, S. H., El-Embaby, A. E., AbdAllah, A. M., & Hamama, H. H. (2008). Two-year clinical evaluation of ormocer, nanohybrid and nanofill composite restorative

- systems in posterior teeth. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 10(4), 315–322.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18792703>
- Mai, S., Mauger, M. T., Niu, L., Barnes, J. B., Kao, S., Bergeron, B. E., Ling, J., & Tay, F. R. (2017). Potential applications of antimicrobial peptides and their mimics in combating caries and pulpal infections. *Acta Biomaterialia*, 49, 16–35.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.026>
- Manso, S., Becerril, R., Nerín, C., & Gómez-Lus, R. (2015). Influence of pH and temperature variations on vapor phase action of an antifungal food packaging against five mold strains. *Food Control*, 47, 20–26.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.014>
- Marinho, V. C., Chong, L.-Y., Worthington, H. V, & Walsh, T. (2016). Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(2).
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD002284.pub2>
- Marinone, M. G., & Savoldi, E. (2000). Chlorhexidine and taste. Influence of mouthwashes concentration and of rinsing time. *Minerva Stomatologica*, 49(5), 221–226. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11068420>
- Millones-Gómez, P. A., De la Garza-Ramos, M. A., Urrutia-Baca, V. H., Hernandez-Martinez, H. C., Hernández Marín, D. A., & Minchón Medina, C. A. (2022). Cytotoxicity of Peruvian propolis and Psidium guajava on human gingival fibroblasts, PBMCs and HeLa cells. *F1000Research*, 11, 430.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.110352.2>
- Miranda, D. de A., Bertoldo, C. E. dos S., Aguiar, F. H. B., Lima, D. A. N. L., & Lovadino, J. R. (2011). Effects of mouthwashes on Knoop hardness and surface roughness of dental composites after different immersion times. *Brazilian Oral*

- Research*, 25(2), 168–173. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242011000200012>
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., & Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152(3), 239–246. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80034-1](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80034-1)
- Muñoz, M. A., Arana-Gordillo, L. A., Gomes, G. M., Gomes, O. M., Bombarda, N. H. C., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2013). Alternative Esthetic Management of Fluorosis and Hypoplasia Stains: Blending Effect Obtained with Resin Infiltration Techniques. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 25(1), 32–39. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.2012.00527.x>
- Muriel-Galet, V., Cran, M. J., Bigger, S. W., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components. *Journal of Food Engineering*, 149, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.10.007>
- Nabavi, S. M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., & Nabavi, S. F. (2015). Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy. *Food Chemistry*, 173, 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.042>
- Nagatake, T., Ahmed, K., & Oishi, K. (2002). Prevention of Respiratory Infections by Povidone-Iodine Gargle. *Dermatology*, 204(Suppl. 1), 32–36. <https://doi.org/10.1159/000057722>
- Naghdi Badi, H., Yazdani, D., Ali, S. M., & Nazari, F. (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 19(3), 231–236.

- <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.10.005>
- Nam, S.-H. (2015). Antimicrobial Activity of Propolis on Different Oral Bacteria. *Indian Journal of Science and Technology*, 8(1), 1–4.
<https://doi.org/10.17485/ijst/2016/v9i15/89174>
- Nasidze, I., Li, J., Quinque, D., Tang, K., & Stoneking, M. (2009). Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Research*, 19(4), 636–643.
<https://doi.org/10.1101/gr.084616.108>
- Neves, B. G., Stipp, R. N., da Silva Bezerra, D., de Figueiredo Guedes, S. F., & Rodrigues, L. K. A. (2017). Molecular detection of bacteria associated to caries activity in dentinal lesions. *Clinical Oral Investigations*, 21(6), 2053–2061.
<https://doi.org/10.1007/s00784-016-1995-9>
- Nikoleousakos, N., Dalezis, P., Polonifi, A., Geromichalou, E. G., Sagredou, S., Alifieris, C. E., Deligiorgi, M. V., Sarli, V., & Trafalis, D. T. (2021). Cytocidal Antitumor Effects against Human Ovarian Cancer Cells Induced by B-Lactam Steroid Alkylators with Targeted Activity against Poly (ADP-Ribose) Polymerase (PARP) Enzymes in a Cell-Free Assay. *Biomedicines*, 9(8), 1028.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9081028>
- Oliveira, J. R. de, de Jesus Viegas, D., Martins, A. P. R., Carvalho, C. A. T., Soares, C. P., Camargo, S. E. A., Jorge, A. O. C., & de Oliveira, L. D. (2017). Thymus vulgaris L. extract has antimicrobial and anti-inflammatory effects in the absence of cytotoxicity and genotoxicity. *Archives of Oral Biology*, 82, 271–279.
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.06.031>
- Ölmez, A., & Kisbet, S. (2013). . Kompozit rezin restorasyonlarda bitirme ve polisaj işlemlerindeki yeni gelişmeler. *Acta Odontologica TurcicaTurc*, 30(2), 115–122.
- Omolo, C. A., Kalhapure, R. S., Agrawal, N., Rambharose, S., Mocktar, C., & Govender,

- T. (2018). Formulation and Molecular Dynamics Simulations of a Fusidic Acid Nanosuspension for Simultaneously Enhancing Solubility and Antibacterial Activity. *Molecular Pharmaceutics*, 15(8), 3512–3526. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00505>
- Özan, F., Sümer, Z., Polat, Z. A., Er, K., Özan, Ü., & Değer, O. (2007). Effect of Mouthrinse Containing Propolis on Oral Microorganisms and Human Gingival Fibroblasts. *European Journal of Dentistry*, 1(4), 195. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1698339>
- Özgün; ÇOMOĞLU, S. (2016). Nanotaşıyıcı sistemlerde hedeflendirme. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(3), 62–79. https://doi.org/10.1501/Eczfak_00000000589
- Ozturk, I., Yurtman, A. N., Erac, B., Gul-Yurtsever, S., Ermertcan, S., & Hosgor-Limoncu, M. (2014). In vitro effect of moxifloxacin and rifampicin on biofilm formation by clinical MRSA isolates. *Bratislava Medical Journal*, 115(08), 483–486. https://doi.org/10.4149/BLL_2014_093
- P, M., & Martin, M. (1999). *Oral Microbiology*. (4th ed.).
- Palaniappan, S., Bharadwaj, D., Mattar, D. L., Peumans, M., Van Meerbeek, B., & Lambrechts, P. (2009). Three-year randomized clinical trial to evaluate the clinical performance and wear of a nanocomposite versus a hybrid composite. *Dental Materials*, 25(11), 1302–1314. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.06.001>
- Park, Y. K., Koo, M. H., Abreu, J. A. S., Ikegaki, M., Cury, J. A., & Rosalen, P. L. (1998). Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Current Microbiology*, 36(1), 24–28.
- Patel, J. B., Tenover, F. C., Turnidge, J. D., & Jorgensen, J. H. (2011). Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. In *Manual of Clinical Microbiology*

- (pp. 1122–1143). Wiley. <https://doi.org/10.1128/9781555816728.ch68>
- Pearson, R. M. (1986). In-vitro techniques: can they replace animal testing?*. *Human Reproduction*, 1(8), 559–560. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a136473>
- Peedikayil, F. C., Remy, V., John, S., Chandru, T. P., Sreenivasan, P., & Bijapur, G. A. (2016). Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on *Streptococcus mutans*: An in vivo study. *J Int Soc Prev Community Dent*, 6(5), 447–452. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.192934>
- Poskus, L. (2004). Influence of placement techniques on Vickers and Knoop hardness of class II composite resin restorations. *Dental Materials*, 20(8), 726–732. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2003.10.006>
- Priyadarsini, S., Mukherjee, S., & Mishra, M. (2018). Nanoparticles used in dentistry: A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 8(1), 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.12.004>
- Puig Silla, M., Montiel Company, J. M., & Almerich Silla, J. M. (2008). Use of chlorhexidine varnishes in preventing and treating periodontal disease. A review of the literature. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 13(4), E257-60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18379452>
- Qayyum, S., & Khan, A. U. (2016). Nanoparticles vs. biofilms: a battle against another paradigm of antibiotic resistance. *MedChemComm*, 7(8), 1479–1498. <https://doi.org/10.1039/C6MD00124F>
- Qin, G., Zong, Y., Chen, Q., Hua, D., & Tian, S. (2010). Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of action. *International Journal of Food Microbiology*, 138(1–2), 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.018>

- Qiu, W., Zhou, Y., Li, Z., Huang, T., Xiao, Y., Cheng, L., Peng, X., Zhang, L., & Ren, B. (2020). Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries. *BioMed Research International*, 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/5658212>
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*, 7(4), 493–512. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.6>
- Rampersad, S. N. (2012). Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. *Sensors*, 12(9), 12347–12360. <https://doi.org/10.3390/s120912347>
- Rasel, M. A. I., Li, T., Nguyen, T. D., Singh, S., Zhou, Y., Xiao, Y., & Gu, Y. (2015). Biophysical response of living cells to boron nitride nanoparticles: uptake mechanism and bio-mechanical characterization. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(11), 441. <https://doi.org/10.1007/s11051-015-3248-2>
- Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Infectious Diseases*, 10(3), 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2005.05.006>
- Rather, M. A., Gupta, K., & Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(4), 1701–1718. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x>
- Raval, A., S. Yadav, N., Narwani, S., Somkuwar, K., Verma, V., Almubarak, H., Alqahtani, S. M., Tasleem, R., Luke, A. M., Kuriadom, S. T., & Karobari, M. I. (2023). Antibacterial Efficacy and Surface Characteristics of Boron Nitride Coated Dental Implant: An In-Vitro Study. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(4), 201. <https://doi.org/10.3390/jfb14040201>
- Rema, T., Medihala, P., Lawrence, J. R., Vidovic, S., Leppard, G. G., Reid, M., & Korber,

- D. R. (2016). Proteomic Analyses of Chlorhexidine Tolerance Mechanisms in Delftia acidovorans Biofilms. *MSphere*, 1(1). <https://doi.org/10.1128/mSphere.00017-15>
- Rensberger, J. M. (1997). Mechanical adaptation in enamel. In *Tooth Enamel Microstructure* (1st ed., p. 21). CRC Press.
- Rošin-Grget, K. (2013). The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Medica Academica*, 42(2), 179–188. <https://doi.org/10.5644/ama2006-124.85>
- Rukmini, J., Manasa, S., Rohini, C., Sireesha, L., Ritu, S., & Umashankar, G. (2017). Antibacterial efficacy of tender coconut water (Cocos nucifera L) on Streptococcus mutans: An in-vitro study. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 7(2), 130. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_275_16
- Ruse, N. D. (1999). What is a “compomer”? *Journal (Canadian Dental Association)*, 65(9), 500–504. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10560212>
- Sağlam, M., Arslan, U., Buket Bozkurt, Ş., & Hakki, S. S. (2013). Boric acid irrigation as an adjunct to mechanical periodontal therapy in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*, 84(9), 1297–1308.
- Salehi, B., Mishra, A. P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. D. M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasrabadi, N. N., Kobarfard, F., & Sharifi-Rad, J. (2018). Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research : PTR*, 32(9), 1688–1706. <https://doi.org/10.1002/ptr.6109>
- Schelz, Z., Molnar, J., & Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*, 77(4), 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.03.013>
- Schillaci, D., Cusimano, M. G., Russo, D., & Arizza, V. (2014). Antimicrobial peptides

- from echinoderms as antibiofilm agents: a natural strategy to combat bacterial infections. *Italian Journal of Zoology*, 81(3), 312–321.
<https://doi.org/10.1080/11250003.2014.922128>
- Schmidt, J., Zyba, V., Jung, K., Rinke, S., Haak, R., Mausberg, R. F., & Ziebolz, D. (2016). Cytotoxic effects of octenidine mouth rinse on human fibroblasts and epithelial cells – an in vitro study. *Drug and Chemical Toxicology*, 39(3), 322–330.
<https://doi.org/10.3109/01480545.2015.1121274>
- Schött, G., Liesegang, S., Gaunitz, F., Gleß, A., Basche, S., Hannig, C., & Speer, K. (2017). The chemical composition of the pharmacologically active Thymus species, its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and the antiadherent effects of *T. vulgaris* on the bacterial colonization of the in situ pellicle. *Fitoterapia*, 121, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.07.005>
- Schuster, G. S., Dirksen, T. R., Ciarlone, A. E., Burnett, G. W., Reynolds, M. T., & Lankford, M. T. (1980). Anticaries and antiplaque potential of free-fatty acids in vitro and in vivo. *Pharmacology and Therapeutics in Dentistry*, 5(1–2), 25–33.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6932048>
- Schwendicke, F., Dörfer, C. E., Schlattmann, P., Page, L. F., Thomson, W. M., & Paris, S. (2015). Socioeconomic Inequality and Caries. *Journal of Dental Research*, 94(1), 10–18. <https://doi.org/10.1177/0022034514557546>
- Schwendicke, F., Frencken, J. E., Bjørndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., Van Landuyt, K., Banerjee, A., Campus, G., Doméjean, S., Fontana, M., Leal, S., Lo, E., Machiulskiene, V., Schulte, A., Splieth, C., Zandona, A. F., & Innes, N. P. T. (2016). Managing Carious Lesions. *Advances in Dental Research*, 28(2), 58–67.
<https://doi.org/10.1177/0022034516639271>
- Selwitz, R. H., Ismail, A. I., & Pitts, N. B. (2007a). Dental caries. *The Lancet*, 369(9555),

51–59.

Selwitz, R. H., Ismail, A. I., & Pitts, N. B. (2007b). Dental caries. *The Lancet*, 369(9555), 51–59. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60031-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60031-2)

Shalehin, N., Hosoya, A., Takebe, H., Hasan, M. R., & Irie, K. (2020). Boric acid inhibits alveolar bone loss in rat experimental periodontitis through diminished bone resorption and enhanced osteoblast formation. *Journal of Dental Sciences*, 15(4), 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2019.09.009>

Shino, B., Peedikayil, F. C., Jaiprakash, S. R., Ahmed Bijapur, G., Kottayi, S., & Jose, D. (2016). Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on *Candida albicans* Isolated in Children with Early Childhood Caries: An In Vitro Study. *Scientifica*, 2016, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2016/7061587>

Shirato, M., Nakamura, K., Kanno, T., Lingström, P., Niwano, Y., & Örtengren, U. (2017). Time-kill kinetic analysis of antimicrobial chemotherapy based on hydrogen peroxide photolysis against *Streptococcus mutans* biofilm. *J Photochem Photobiol B*, 173, 434–440. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.06.023>

Signoretto, C., Burlacchini, G., Faccioni, F., Zanderigo, M., Bozzola, N., & Canepari, P. (2009). Support for the role of *Candida* spp. in extensive caries lesions of children. *The New Microbiologica*, 32(1), 101.

Silva, W. J. da, Rached, R. N., Rosalen, P. L., & Del Bel Cury, A. A. (2008). Effects of nystatin, fluconazole and propolis on poly(methyl methacrylate) resin surface. *Brazilian Dental Journal*, 19(3), 190–196. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402008000300003>

Silva, M. F. de A., Davies, R. M., Stewart, B., DeVizio, W., Tonholo, J., Júnior, J. G. da S., & Pretty, I. A. (2006). Effect of whitening gels on the surface roughness of

- restorative materials in situ. *Dental Materials*, 22(10), 919–924.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.11.029>
- Simón-Soro, A., & Mira, A. (2015). Solving the etiology of dental caries. *Trends in Microbiology*, 23(2), 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.10.010>
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K., & Chourasia, M. K. (2017). Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, 252, 28–49. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.008>
- Singla, R., Singla, N., Acharya, S., & Martena, S. (2014). Effect of oil gum massage therapy on common pathogenic oral microorganisms - A randomized controlled trial. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 18(4), 441. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.138681>
- Slade, G. D., Bailie, R. S., Roberts-Thomson, K., Leach, A. J., Raye, I., Endean, C., Simmons, B., & Morris, P. (2011). Effect of health promotion and fluoride varnish on dental caries among Australian Aboriginal children: results from a community-randomized controlled trial. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 39(1), 29–43. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2010.00561.x>
- Smith-Palmer, Stewart, & Fyfe. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 26(2), 118–122. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1998.00303.x>
- Sreenivasan, P. K., Haraszthy, V. I., & Zambon, J. J. (2013). Antimicrobial efficacy of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthrinses. *Letters in Applied Microbiology*, 56(1), 14–20. <https://doi.org/10.1111/lam.12008>
- Steinberg, D., Kaine, G., & Gedalia, I. (1996). Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria. *American Journal of Dentistry*, 9(6), 236–239.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9545875>
- Struzycka, I. (2014). The oral microbiome in dental caries. *Polish Journal of Microbiology*, 63(2), 127–135. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25115106>
- Sudjalim, T., Woods, M., & Manton, D. (2006). Prevention of white spot lesions in orthodontic practice: a contemporary review. *Australian Dental Journal*, 51(4), 284–289. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2006.tb00445.x>
- Sukumaran, S., Vadakkekuttikal, R., & Kanakath, H. (2020). Comparative evaluation of the effect of curcumin and chlorhexidine on human fibroblast viability and migration: An in vitro study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 24(2), 109. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_173_19
- Summitt, J. B. (Ed. . (2006). Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach. *Quintessence Publishing Company*.
- Süntar, I., Oyardı, O., Akkol, E. K., & Özçelik, B. (2016). Antimicrobial effect of the extracts from *Hypericum perforatum* against oral bacteria and biofilm formation. *Pharmaceutical Biology*, 54(6), 1065–1070. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1102948>
- Süsgün Yıldırım, zehra, Bakır, E. P., Bakır, Ş., & Aydın, M. S. (2017). Dişhekimliğinde Biyouyumluluk Ve Değerlendirme Yöntemleri. *Selcuk Dental Journal*. <https://doi.org/10.15311/selcukdentj.302915>
- T Celik, A. C., Coban, E., & Ulker, H. E. (2021). Effects of mouthwashes on color stability and surface roughness of three different resin-based composites. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 24(4), 555–560. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_303_20
- Tabor, D. (1970). The hardness of solids. *Reviews of Physics in Technology*, 1(3), 145–179. <https://doi.org/10.1088/0034-6683/1/3/I01>

- Taheri, J. B., Azimi, S., Rafieian, N., & Akhavan Zanjani, H. (2011). Herbs in dentistry. *International Dental Journal*, 61(6), 287–296. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2011.00064.x>
- Takahashi, D., Shukla, S. K., Prakash, O., & Zhang, G. (2010). Structural determinants of host defense peptides for antimicrobial activity and target cell selectivity. *Biochimie*, 92(9), 1236–1241. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.02.023>
- Tänzer, J. M., & Livingston, J. (2001). The microbiology of primary dental caries. *Dental Caries Consensus Development Conference. Bethesda, MD*.
- Tardugno, R., Pellati, F., Iseppi, R., Bondi, M., Bruzzesi, G., & Benvenuti, S. (2018). Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria. *Natural Product Research*, 32(5), 544–551. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1329730>
- Taşkor Önel, G., & Yaman Akbay, H. G. (2022). Essential and Fixed Oils: Evaluation of Chemical Structure-Activity Relationship. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. <https://doi.org/10.55117/bufbd.1021436>
- Taşlı, P. N., Doğan, A., Demirci, S., & Şahin, F. (2013). Boron Enhances Odontogenic and Osteogenic Differentiation of Human Tooth Germ Stem Cells (hTGSCs) In Vitro. *Biological Trace Element Research*, 153(1–3), 419–427. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9657-0>
- ten Cate, J. M., & Zaura, E. (2012). The Numerous Microbial Species in Oral Biofilms. *Advances in Dental Research*, 24(2), 108–111. <https://doi.org/10.1177/0022034512450028>
- The Surface Science Society of Japa (Ed.). (2018). *Compendium of Surface and Interface Analysis*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6156-1>
- Thomas, A., Thakur, S., & Shetty, S. (2016). Anti-microbial efficacy of green tea and

- chlorhexidine mouth rinses against *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* spp. and *Candida albicans* in children with severe early childhood caries: A randomized clinical study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 34(1), 65. <https://doi.org/10.4103/0970-4388.175518>
- Toker, H., Ozdemir, H., Balci Yuce, H., & Goze, F. (2016). The effect of boron on alveolar bone loss in osteoporotic rats. *Journal of Dental Sciences*, 11(3), 331–337. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2016.03.011>
- Tokur, O., & Aksoy, A. (2017a). İn vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112–118.
- Tokur, O., & Aksoy, A. (2017b). İn vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 6(1), 112–118.
- Tong, Z., Zhou, L., Jiang, W., Kuang, R., Li, J., Tao, R., & Ni, L. (2011). An in vitro synergetic evaluation of the use of nisin and sodium fluoride or chlorhexidine against *Streptococcus mutans*. *Peptides*, 32(10), 2021–2026. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.09.002>
- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., & Bruni, A. (1996). Antimicrobial Activity of Some Commercial Extracts of Propolis Prepared with Different Solvents. *Phytotherapy Research*, 10(4), 335–336. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199606\)10:4<335::AID-PTR828>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199606)10:4<335::AID-PTR828>3.0.CO;2-7)
- Tsiper, S., Dicker, O., Kaizerman, I., Zohar, Z., Segev, M., & Eldar, Y. C. (2017). Sparsity-Based Super Resolution for SEM Images. *Nano Letters*, 17(9), 5437–5445. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.7b02091>
- Tuncer, S., & DEMİRCİ, M. (2011). Dental Materyallerde Biyouyumluluk Değerlendirmeleri. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, 21(2), 141–149.
- Valgas, C., Souza, S. M. de, Smânia, E. F. A., & Smânia Jr., A. (2007). Screening

- methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369–380. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034>
- Van Noort, R., & Barbour, M. (2014). Roulet, J. F. (1987). Degradation of dental polymers (Vol. 12, p. 228). Basel: Karger. In *Introduction to dental materials-e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Varma, S. R., Sivaprakasam, T. O., Arumugam, I., Dilip, N., Raghuraman, M., Pavan, K. B., Rafiq, M., & Paramesh, R. (2019). In vitro anti-inflammatory and skin protective properties of Virgin coconut oil. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 9(1), 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.06.012>
- Varoni, E., Tarce, M., Lodi, G., & Carrassi, A. (2012). Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatologica*, 61(9), 399–419. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22976567>
- Verallo-Rowell, V. M., Dillague, K. M., & Syah-Tjundawan, B. S. (2008). Novel antibacterial and emollient effects of coconut and virgin olive oils in adult atopic dermatitis. *Dermatitis*, 19(6), 308–315.
- Wataha, J. C., Craig, R. G., & Hanks, C. T. (1992). Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dental Materials*, 8(1), 65–70. [https://doi.org/10.1016/0109-5641\(92\)90056-I](https://doi.org/10.1016/0109-5641(92)90056-I)
- White, S. N., Luo, W., Paine, M. L., Fong, H., Sarikaya, M., & Snead, M. L. (2001). Biological Organization of Hydroxyapatite Crystallites into a Fibrous Continuum Toughens and Controls Anisotropy in Human Enamel. *Journal of Dental Research*, 80(1), 321–326. <https://doi.org/10.1177/00220345010800010501>
- WHITEHEAD, S. A., SHEARER, A. C., WATTS, D. C., & WILSON, N. H. F. (1995). Comparison of methods for measuring surface roughness of ceramic. *Journal of Oral Rehabilitation*, 22(6), 421–427. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

- Whittaker, C. J., Klier, C. M., & Kolenbrander, P. E. (1996). MECHANISMS OF Adhesion By Oral Bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 50(1), 513–552. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.50.1.513>
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- Wilson, K. S., Zhang, K., & Antonucci, J. M. (2005). Systematic variation of interfacial phase reactivity in dental nanocomposites. *Biomaterials*, 26(25), 5095–5103. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.01.008>
- Wilson, W. R., Gewitz, M., Lockhart, P. B., Bolger, A. F., DeSimone, D. C., Kazi, D. S., Couper, D. J., Beaton, A., Kilmartin, C., Miro, J. M., Sable, C., Jackson, M. A., Baddour, L. M., & American Heart Association Young Hearts Rheumatic Fever, E. and K. D. C. of the C. on L. C. H. D. and H. H. in the Y. C. on C. and S. N. and the C. on Q. of C. and O. R. (2021). Prevention of Viridans Group Streptococcal Infective Endocarditis: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, 143(20), e963–e978. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000969>
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative? *Molecules*, 24(11), 2130. <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
- Witt, J. J., Walters, P., Bsoul, S., Gibb, R., Dunavent, J., & Putt, M. (2005). Comparative clinical trial of two antigingivitis mouthrinses. *American Journal of Dentistry*, 18 Spec No, 15A-17A. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16178131>

- Woods, W. G. (1994). An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. *Environmental Health Perspectives*, 102 Suppl, 5–11. <https://doi.org/10.1289/ehp.94102s75>
- Woolley, J., Gibbons, T., Patel, K., & Sacco, R. (2020a). The effect of oil pulling with coconut oil to improve dental hygiene and oral health: A systematic review. *Heliyon*, 6(8), e04789. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04789>
- Woolley, J., Gibbons, T., Patel, K., & Sacco, R. (2020b). The effect of oil pulling with coconut oil to improve dental hygiene and oral health: A systematic review. *Heliyon*, 6(8), e04789. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04789>
- Yajko, D. M., Madej, J. J., Lancaster, M. V, Sanders, C. A., Cawthon, V. L., Gee, B., Babst, A., & Hadley, W. K. (1995). Colorimetric method for determining MICs of antimicrobial agents for *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(9), 2324–2327. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.9.2324-2327.1995>
- Yazdani, M., Motallaei, M. N., Tahmasebi, E., Tebyaniyan, H., Alam, M., Abbasi, K., Seifalian, A., Ranjbar, R., Yazdani, A., Hosseini, H. M., & Moghaddam, M. M. (2022). Chemical Characterization and Cytotoxic/Antibacterial Effects of Nine Iranian Propolis Extracts on Human Fibroblast Cells and Oral Bacteria. *BioMed Research International*, 2022, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2022/6574997>
- Yıldız, E., Sırın Karaarslan, E., Sımsek, M., Ozsevık, A. S., & USUMEZ, A. (2015). Color stability and surface roughness of polished anterior restorative materials. *Dental Materials Journal*, 34(5), 629–639. <https://doi.org/10.4012/dmj.2014-344>
- YILMAZ, M. T. (2012). Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. *Turkish Journal of Medical Sciences*. <https://doi.org/10.3906/sag-1205-83>
- Yılmaz Sariatın, S., Üstündağ, A., Mhlanga Chinheya, R., İpek, S., & Duydu, Y. (2022).

- Cytotoxicity, genotoxicity, oxidative stress, apoptosis, and cell cycle arrest in human Sertoli cells exposed to boric acid. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 70, 126913. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126913>
- Yuan, B., Imai, M., Kikuchi, H., Fukushima, S., Hazama, S., Akaike, T., Yoshino, Y., Ohyama, K., Hu, X., Pei, X., & Toyo, H. (2012). Cytocidal Effects of Polyphenolic Compounds, Alone or in Combination with, Anticancer Drugs Against Cancer Cells: Potential Future Application of the Combinatory Therapy. In *Apoptosis and Medicine*. InTech. <https://doi.org/10.5772/50218>
- Yuan, J., Yuan, W., Guo, Y., Wu, Q., Wang, F., & Xuan, H. (2022). Anti-Biofilm Activities of Chinese Poplar Propolis Essential Oil against *Streptococcus mutans*. *Nutrients*, 14(16), 3290. <https://doi.org/10.3390/nu14163290>
- Zan, R., Hubbezoglu, I., Ozdemir, A. K., Tunc, T., Sumer, Z., & Oğuzhan, A. (2013). Antibacterial Effect of Different Concentration of Boric acid against *Enterococcus Faecalis* Biofilms in Root Canal. *Marmara Dental Journal*, 2(76–80). <https://doi.org/10.12990/MDJ.201317716>
- Zanolla, J., Marques, A., da Costa, D., de Souza, A., & Coutinho, M. (2017). Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Australian Dental Journal*, 62(3), 276–282. <https://doi.org/10.1111/adj.12494>
- Zeng, L., & Burne, R. A. (2016). Sucrose- and Fructose-Specific Effects on the Transcriptome of *Streptococcus mutans*, as Determined by RNA Sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(1), 146–156. <https://doi.org/10.1128/AEM.02681-15>
- Zer, Y., Karabacak, F. N., & Büyükbaş Manav, A. (2022). Borik asitin dezenfektan etkinliğinin araştırılması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 79(1), 145–152.

<https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2022.54251>

Zhang, K., Cheng, L., Weir, M. D., Bai, Y.-X., & Xu, H. H. (2016). Effects of quaternary ammonium chain length on the antibacterial and remineralizing effects of a calcium phosphate nanocomposite. *International Journal of Oral Science*, 8(1), 45–53.
<https://doi.org/10.1038/ijos.2015.33>



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	İklima GÜNDOĞDU
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Faks:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Samsun Mithat Paşa Lisesi (2011)
Lisans:	Akdeniz Üniversitesi (2017)
Uzmanlık:	Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Kitap okumak, kayak yapmak	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK KURULU

Sayı : 22

16.03.2021

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

11.03.2021 tarih ve 05 sayılı yazınız ekinde gönderilen Doç. Dr. Nurcan ÖZAKAR İLDAY tarafından yürütülecek olan ve Arş. Gör. Dt. İklima GÜNDOĞDU'nun birlikte hazırladıkları "*Doğal Maddeler Kullanılarak Hazırlanan Oral Çalkalama Solüsyonlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin, Sitotoksitelerinin, Diş ve Dental Restoratif Materyallerin Yüzey Özelliklerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi*" başlıklı Bireysel Klinik Araştırmasına ait etik kurul başvurusu kurulumuz tarafından incelenmiş olup, konu ile ilgili alınan karar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi arz ve rica ederim.

Prof. Dr. Abdülvahit ERDEM
Etik Kurul Başkanı

Eki: Etik Kurul Kararı

Adres: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı ERZURUM
Tel : (442) 2360942

EK-3. PROJE ÖZET RAPORU

	T.C.ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi PROJE ÖZET RAPORU		
Proje Yürütücüsü	Prof.Dr. Nurcan ÖZAKAR		
Proje Kodu	TKP-2021-9225		
Proje Başlığı	Doğal Maddeler Kullanılarak Hazırlanan Oral Çalkalama Solüsyonlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin, Sitotoksitelerinin, Diş ve Dental Restoratif Materyallerin Yüzey Özelliklerine Olan Etkilerinin Değerlendirmesi		
Proje Türü	Çok Disiplinli Araştırma Projesi		
Proje Grubu	Tıp Sağlık		
Süresi (Ay)	24		
Proje Durumu	Yürüyen Proje		
Başvuru Tarihi	2.4.2021	Muhtemel Bitiş Tarihi	20.5.2023
Başlangıç Tarihi	20.5.2021	Bitiş Tarihi	
Ek Süre 1 (Ay)	3	Ek Süre 2 (Ay)	
Onaylanan Bütçesi	79.073,98 ₺		
Ek Ödenek 1	10.124,62 ₺		
Ek Ödenek 2	9.558,00 ₺		
Ek Ödenek 3	0,00 ₺		
Toplam Bütçe	98.756,60 ₺	Gerçekleşen Harcama	86.264,67 ₺

Proje Özeti

Diş çürükleri, mikrobiyal dental plaktaki asidojenik bakterilerin (Streptococcus mutans, Streptococcus salivarius, Streptococcus mitis, Laktobacillus türleri vb.) neden olduğu ve dişin demineralizasyonu ile sonuçlanan bakteriyel bir hastalıktır. Çürük, mikroorganizmaların diş yüzeyinde kolonize olma ve diş plağı oluşturma yetenekleriyle doğrudan bağlantılıdır. Bu nedenle plak kontrolü, diş çürüklerinin kontrolünde büyük önem taşımaktadır. Plak kontrolü mekanik ve kimyasal olarak sağlanır. Kimyasal plak kontrolü çeşitli antimikrobiyal ajanların topikal olarak kullanılması ile yapılır. Kimyasal plak kontrolünde, oral çalkalama solüsyonları kullanım kolaylıkları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Oral çalkalama solüsyonları, bakteriyel kolonizasyonu, büyümeyi, bağlanmayı ve metabolik aktiviteyi inhibe ederek enfeksiyonu hafifletmek ve diş çürüklerini önlemek için ağız çalkamasında kullanılan antimikrobiyal ajanlar içeren solüsyonlardır. Bu antimikrobiyal ajanlar arasında en sık kullanılan klorheksidindir (CHX). Klorheksidin, bakterisidal ve bakteriyostatik etkiye sahiptir; klorheksidin etkinliği kanıtlanmış olması nedeniyle "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Bu avantajlarının yanı sıra dişlerde ve dilde renk değişikliği, tat duyusunda değişiklik, oral mikroflorayı bozma ve uzun süre kullanıldıktan sonra diş taşı oluşumunda artış gibi yan etkilerinden dolayı klorheksidin gargara ile benzer veya daha fazla etkinliği olan ve bu yan etkileri barındırmayan yeni alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla son yıllarda kitosan, bor türevleri, propolis, hindistan cevizi yağı, susam yağı gibi doğal bileşenler kullanılmaya ve bunların S. mutans ve diğer mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Çalışmamızda; antimikrobiyal etkinliği bilinen kitosan, bor türevleri, propolis, hindistan cevizi yağı ve susam yağı içeren oral çalkalama solüsyonlarının hazırlanması, elde edilecek olan bu çalkalama solüsyonlarının S. mutans, S. salivarius, S. mitis, L. acidophilus, L. casei ve L. fermentum üzerindeki antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi, diş fibroblast hücre hatlarında toksisite değerlerinin belirlenmesi, diş sert dokusu ve dental restoratif materyallerin yüzey özelliklerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Proje Ekibi

Arş. Gör. İklima GÜNDOĞDU, Arş. Gör. , Dr.Öğr.Üyesi Emrah ÖZAKAR, Dr.Öğr.Üyesi Rukiye SEVİNÇ ÖZAKAR, Prof.Dr. ARZU GÖRMEZ

Araştırma Alanları

Klinik Bilimler

Anahtar Kelimeler

S.mutans, S.salivarius, S.mitis, L.acidophilus, L.casei, L.fermentum, Çürük, Mikrobiyal Dental Plak, Oral Çalkalama Solüsyonu, Kitosan, Propolis, Bor, Hindistan Cevizi Yağı, Susam Yağı, Antibakteriyel Etki,

Rapor Takvimi (Projenin onaylanan rapor planı)

Sıra	Başlık	Beklenen Tarih	Ekleme Tarihi	Onay Tarihi
1	Ara Rapor	22.11.2021	17.12.2021	23.12.2021
2	Ara Rapor	20.05.2022	22.06.2022	01.07.2022
3	Ara Rapor	21.11.2022	16.11.2022	22.11.2022
4	Ara Rapor	22.05.2023		
5	Sonuç Raporu	20.08.2023		

Proje Bütçesi

Bütçe Türü	Tanımı / Adı	Miktar	K.Miktar	Birimi	Birim Fiyatı	KDV	Tutar (KDV'li)	Durumu
Demirbaş	DETERIUM (UV)LAMBA	1	0	Adet	11.392,00 ₺	18	13.442,56 ₺	Onaylanan
Demirbaş	ISOMET BIÇAĞI	1	0	Adet	5.200,00 ₺	18	6.136,00 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	COCONUT OIL, PURE, REFINED	100	0	Gram	2,31 ₺	18	272,58 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SESAME OIL	250	0	Gram	1,24 ₺	18	365,80 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	CHITOSAN	250	0	Gram	12,22 ₺	18	3.604,90 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	BORIC ACID GR	1	0	Kilogram	325,00 ₺	18	383,50 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SODIUM BORATE DECAHYDRATE ACS REAGENT	500	0	Gram	0,86 ₺	18	505,04 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	BORON NITRIDE, POWDER, CA. 1 MICRON, 98%	50	0	Gram	38,20 ₺	18	2.253,80 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	KOLLIPHOR® P 188	1	0	Kilogram	1.125,00 ₺	18	1.327,50 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SPAN 20	1	0	Kilogram	897,00 ₺	18	1.058,46 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SPAN (R) 80 HLB-VALUE 4.3	1	0	Litre	1.334,00 ₺	18	1.574,12 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	KOLLIPHOR RH 40	1	0	Kilogram	1.255,00 ₺	18	1.480,90 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PENICILLIN - STREPTOMYCIN SOLUTION STABILIZED	100	0	Gram	1,73 ₺	18	204,14 ₺	Onaylanan

Tüketim Malzemesi (Genel)	PHOSPHATE BUFFERED SALINE (1X), PH:7.4 , STERİLE	500	0	Gram	0,24 ₺	18	141,60 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	NUCLEASE FREE WATER (10X50ML)	1	0	Adet	1.390,00 ₺	8	1.501,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	DODECYL SULFATE, SODIUM SALT, 85%, PURE	100	0	Gram	1,95 ₺	18	230,10 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	FETAL BOVINE SERUM, SOUTH AMERICA, HEAT INACTIVATED	100	0	Gram	17,43 ₺	8	1.882,44 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	L(+)-GLUTAMINE, SPECIFIED ACCORDİNG TO THE REQUIREMENTS	50	0	Gram	5,80 ₺	18	342,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	DMEM HIGH W/O L-GLUT & SOD PYRUVATE	500	0	Gram	0,17 ₺	18	100,30 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	TRYPSİN/EDTA SOLUTION (TE)	100	0	Gram	4,75 ₺	18	560,50 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	DIMETHYL SULFOXIDE EXTRA PURE	5	0	Litre	122,00 ₺	18	719,80 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	LDH CYTOTOXICITY ASSAY	1000	0	Test	5,74 ₺	18	6.773,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	MUELLER HINTON AGAR	500	0	Gram	1,10 ₺	8	594,00 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	MULLER HINTON BROTH	500	0	Gram	3,21 ₺	8	1.735,56 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	THIAZOLYL BLUE TETRAZOLIUM BROMIDE, 98%	250	0	Gram	1,04 ₺	18	306,80 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PRIMARY GİNGİVAL FİBROBLAST; NORMAL, HUMAN, ADULT (HGF (1)	1	0	Paket	13.078,00 ₺	18	15.432,04 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	RPMI-1640 MEDIUM, WITH L-GLUTAMINE AND SODIUM	1	0	Litre	200,00 ₺	8	216,00 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	TRYPAN BLUE SOLUTION CELL CULTURE*TESTED	20	0	Gram	7,35 ₺	18	173,46 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	CRYSTAL VIOLET INDICATOR FOR MICROSCOPY	25	0	Gram	16,92 ₺	18	499,14 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	ETHANOL ABSOLUTE 99.9%, ACS,ISO,REAGENT PH. EUR	5	0	Litre	74,00 ₺	18	436,60 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PHOSPHATE BUFFERED SALINE (1X), PH:7.4 , STERİLE	500	0	Gram	0,15 ₺	18	88,50 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PENICILLIN G 10 UNITS (5x50 DISK)	1	0	Kutu	113,00 ₺	8	122,04 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	METRONIDAZOLE	1	0	Adet	113,00 ₺	18	133,34 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	FİLTRE KAĞIDI GRADE:41 110 MM	1	0	Adet	168,00 ₺	18	198,24 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SEROLOJİK PİPET, PLASTİK, TEK KULLANIMLIK,PYROGEN FREE 10 ML	1	0	Adet	140,00 ₺	18	165,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SEROLOJİK PİPET-TEK KULLANIMLIK-25 ML-PYROGEN FREE	1	0	Adet	170,00 ₺	18	200,60 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	ELDİVEN NONSTERİL PUDRASIZ NİTRİL MEDIUM	1	0	Adet	110,00 ₺	8	118,80 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	ŞİŞE - HÜCRE KÜLTÜRÜ - GEÇİRGEN KAPAKLI - 25 CM2 - 7 ML	1	0	Adet	1.318,00 ₺	18	1.555,24 ₺	Onaylanan

Tüketim Malzemesi (Genel)	ŞİŞE - HÜCRE KÜLTÜRÜ - GEÇİRGEN KAPAKLI - 75 CM2 - 25 ML (75 CM2 - 25 ML)	1	0	Paket	1.226,00 ₺	18	1.446,68 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PIPET UCU - MAVİ - NON STERİL - 1000 UL (1000 UL)	1	0	Paket	46,00 ₺	18	54,28 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PIPET UCU - SARI - NON STERİL - 200 UL	1	0	Adet	36,00 ₺	18	42,48 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PIPET UCU - ŞEFFAF - NON STERİL - 10 UL (10 UL)	1	0	Paket	24,00 ₺	18	28,32 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	MİLLEX-GP ENJEKTÖR FİLTRE 33MM PES 22UM STERİLE	1	0	Adet	627,00 ₺	18	739,86 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	TÜP - MIKROSANTRFÜJ - P.P - 0,5 ML (0,5 ML)	1	0	Paket	40,00 ₺	18	47,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	TÜP - MIKROSANTRFÜJ - P.P - 1,5 ML (1,5 ML)	1	0	Paket	43,00 ₺	18	50,74 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	TÜP - MIKROSANTRFÜJ - P.P - 2,0 ML	1	0	Adet	57,00 ₺	18	67,26 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	MULTIPLE WELL CLUSTER PLATE, 96 WELL, STERİLE (96 WELL, STERİLE)	1	0	Paket	930,00 ₺	18	1.097,40 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	U PLATE 96 KUYULU	1	0	Adet	37,00 ₺	18	43,66 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	PETRİ KUTUSU - P.S - 90X17 MM (90X17 MM)	1	0	Paket	430,00 ₺	18	507,40 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SOĞUK AKRİLİK LİKİT 250 ML	250	0	Gram	0,18 ₺	18	53,10 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	SOĞUK AKRİLİK TOZ 500 GR	500	0	Gram	0,38 ₺	18	224,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	Tüketim Malzemesi (Genel) İçin Mevcut Bütçe Kalemi Güncellemesi	1	1	Adet	153,62 ₺	0	153,62 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	RESAZURİN, SODIUM SALT, PURE, HIGH PURITY BIOLOGICAL STAIN	1	0	Gram	675,00 ₺	18	796,50 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	DMEM NUTRICULTURE, HIGH GLUCOSE	500	0	MI	0,35 ₺	18	206,50 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	FBS- SA-SOURCED HI	500	0	MI	9,20 ₺	18	5.428,00 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	U PLATE 96 KUYULU (8'lik paket)	13	0	Paket	117,00 ₺	18	1.794,78 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	PIPET STERİL 5 ML (25'lik paket)	1	0	Paket	115,00 ₺	18	135,70 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	TÜP - MIKROSANTRFÜJ - P.P - 2,0 ML (500'lük paket)	1	0	Paket	170,00 ₺	18	200,60 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	PIPET UCU - MAVİ - NON STERİL - 1000 UL (500'lük paket)	1	0	Paket	145,00 ₺	18	171,10 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	TÜP - MIKROSANTRFÜJ - P.P - 1,5 ML (500'lük paket)	1	0	Paket	130,00 ₺	18	153,40 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	PIPET UCU - MAVİ - NON STERİL - 1000 UL (500 lük paket)	3	0	Paket	135,00 ₺	18	477,90 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	DMEM HIGH GLUCOSE WITH L- GLUTAMINE,SODIUM PYRUVATE	1500	0	MI	0,22 ₺	18	382,32 ₺	Eklenen
Tüketim Malzemesi (Genel)	SEROLOJİK PİPET-TEK KULLANIMLIK-5 ML- PYROGEN FREE (50 lik paket)	1	0	Paket	245,00 ₺	18	289,10 ₺	Eklenen

Tüketim Malzemesi (Genel)	96-WELL CLEAR FLAT BOTTOM POLYSTYRENE TC-TREATED MICROPLATES, INDIVIDUALLY WRAPPED, STERİLE (50 lik paket)	1	0	Paket	1.110,00 ₺	18	1.309,80 ₺	Eklenen
Hizmet Alımı	DAYTAM-Profilometre	65	0	Saat	80,00 ₺	18	6.136,00 ₺	Onaylanan
Hizmet Alımı	DAYTAM-SEM	12	0	Saat	120,00 ₺	18	1.699,20 ₺	Onaylanan

Bütçe Özeti

Bütçe Türü	Tutar	Yüzde (%)
Demirbaş	19.578,56 ₺	21,61
Tüketim Malzemesi (Genel)	63.159,54 ₺	69,73
Hizmet Alımı	7.835,20 ₺	8,65

Kullanılabilir Bütçe Özeti

	Toplam	Harcama	Avans	Sipariş	Kalan