



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**UÇUCU YAĞ İLAVE EDİLMİŞ BİTKİSEL İÇERİKLİ DİŞ
MACUNLARININ *Streptococcus mutans* ÜZERİNDEKİ
ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Diş Hek. ÖZGÜ İLKCAN KARADAĞLIOĞLU

DOKTORA TEZİ

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. NURAN ULUSOY

2019-LEFKOŞA



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**UÇUCU YAĞ İLAVE EDİLMİŞ BİTKİSEL İÇERİKLİ DİŞ
MACUNLARININ *Streptococcus mutans* ÜZERİNDEKİ
ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Diş Hek. ÖZGÜ İLKCAN KARADAĞLIOĞLU

DOKTORA TEZİ

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. NURAN ULUSOY

2019-LEFKOŞA

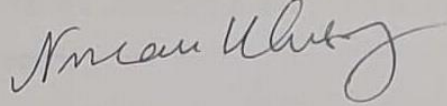
Tez Onayı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/ oy çokluğu ile doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

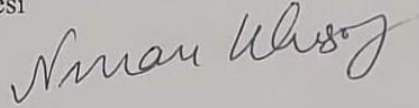
Tez Savunma Tarihi:

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Nuran ULUSOY



Yakın Doğu Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Nuran ULUSOY



Yakın Doğu Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Hikmet SOLAK



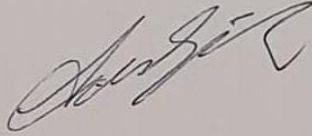
Yakın Doğu Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Funda YANIKOĞLU



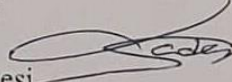
Marmara Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Şölen GÜNAL



Girne Üniversitesi

Üye: Yrd. Doç. Dr. Laden GÜLEÇ



Yakın Doğu Üniversitesi

Bu tez, Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeler tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. K. Hüsnü Can BAŞER

Enstitü Müdürü



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dt. Özgü İlkcan KARADAĞLIOĞLU

İmza

TEŞEKKÜR

Gerek lisans gerekse doktora eğitimim boyunca her an yanımda olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalanma olanağı bulduğum için kendimi her zaman şanslı hissettiğim ve öğrencisi olmaktan her zaman için gurur duyduğum çok kıymetli hocam Prof. Dr. Nuran ULUSOY'a saygılarımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans eğitimi sürecinde tez konum ile ilgili temel bilgileri edindiğim, doktora süreci boyunca da desteklerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Hikmet SOLAK'a teşekkür ederim.

Bitkilerin tedavi edici özellikleri ve diş hekimliğindeki kullanımları ile ilgili ufkumu açan sayın Prof. Dr. Funda YANIKOĞLU'na teşekkür ederim.

Tezimin planlanmasından yayınlanmasına her aşamada, zaman ve mekân fark etmeksizin desteklerini esirgemeyen çok kıymetli Sağlık Bilimleri Enstitüsü Başkanı Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER'e teşekkür ederim.

Gerçekleştirdiğim çalışma için, hiçbir karşılık talep etmeksizin tüm imkânlarını sonuna kadar kullanımına sunan Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Başkanı sayın Prof. Dr. Barış OTLU' ya, çalışmam boyunca her sorumu yanıtlayan ve bana yardımcı olan Mikrobiyoloji yüksek lisans öğrencisi arkadaşım İrem ŞIK'a ve tüm İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmamda kullandığım uçucu yağların elde edilmesi ve analizinde yardımcı olan Azmi HANOĞLU ve Duygu Yiğit HANOĞLU'na teşekkür ederim.

Kendime olan inancımı her kaybettiğimde beni kendime getiren, kahrımı çeken, yeni çözüm yolları sunan, beni motive eden, ast-üst ilişkisinden çok arkadaş, yeri geldiğinde abla-kardeş yaklaşımı ile yola devam etmemdeki en büyük destekçilerimden biri olan Yrd. Doç. Dr. Laden GÜLEÇ ALAGÖZ'e binlerce kez teşekkür ederim.

Lisans ve doktora eğitimimde deneyimlerini paylaşarak yol gösteren, fikir ve moral veren, çalışmamın istatistiksel analiz ve yorumlama kısmında önemli bir payı bulunan Yrd. Doç. Dr. İzgen KARAKAYA'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamın istatistiksel analiz ve yorumlamalarını gerçekleştiren sayın Dr. Eser ŞEKERCİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma sürecim boyunca bana destek olan, yükümü paylaşan, anlayış ve desteklerini benden esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dt. Şemsi ALP, Dt. Gözde AKSOY, Dt. Aziz ÇALIŞKAN ve Dt. Tağmaç ÖZBERK'e ve aynı odayı paylaştığım tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatta her zaman ne yapmak istersem yapayım arkamda olduğunu bilmenin verdiği güvenle korkusuzca adım attığım, tek başına iki evlat okutup yetiştirmenin zorlukları arasında bile desteğini ve sevgisini hiç eksiltmeyen, ona benzemekten gurur duyduğum biricik annem Ayşe Çiğdem ORÖZÜ'ye, aramızdan erken ayrılrsa bile bir yerlerde beni gördüğünü bildiğim için ona layık bir evlat olma çabasıyla yaşadığım canım babam Serdar ORÖZÜ'ye, ayrı şehirlerde yaşasak bile kalplerimizin hep bir olduğu ve onsuz bir hayatı asla düşünemediğim canımın en içi kardeşim Bengü Damla ORÖZÜ'ye, gerek doktora sürecinde gerekse özel hayatta maddi-manevi hiçbir desteğini benden esirgemeyen, öz evladından ayırmayan kıymetli annem Mamure KARADAĞLIOĞLU'na ve tanıma fırsatına erişemesem bile babamla beraber bizi izlediğine inandığım, hayatımda oldukça önemli bir yere sahip babam Yakup Teoman KARADAĞLIOĞLU'na sonsuz minnetlerimi sunarım.

Ve son olarak, öncelikle sınıf arkadaşım, sonra çalışma arkadaşım ve binlerce kez şükürler olsun ki hayat arkadaşım Dt. Berk KARADAĞLIOĞLU'na, birlikteliğimizin ilk gününden bugüne, anlayışı, sevgisi, desteği, verdiği huzuru için, doktora ilk başladığımızda yöneltilen bir soruya o gün verdiği cevaba sadık kalarak “elmayı benim yememe izin verdiği” için tüm kalbimle teşekkür ederim.

İçindekiler

	ŞEKİLLER	ix
	RESİMLER	x
	TABLOLAR	xii
	SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
	ÖZET	1
	ABSTRACT	3
1.	GİRİŞ	5
2.	GENEL BİLGİLER	8
2.1.	Diş Çürüğü	8
2.2.	Kritik pH	9
2.3.	Demineralizasyon	10
2.4.	Remineralizasyon	11
2.5.	Diş Çürüğünde Rol Alan Faktörler	11
2.5.1.	Karbonhidratlar	12
2.5.2.	Konak Faktörleri	14
2.5.3.	Zaman	15
2.5.4.	Mikroflora (Biyofilm ve Bakteriler)	16
2.6.	<i>S. mutans</i> 'ın Çürük Oluşumu Üzerine Etkisi	18
2.7.	Diş Hekimliğinde Antibakteriyel Ajanların Kullanımı	20
2.7.1.	Klorheksidin	20
2.7.2.	Antibiyotikler	21
2.7.3.	Gargaralar	22
2.7.4.	Diş Macunları	23
2.8.	Fitoterapi	24
2.8.1.	Diş Hekimliğinde Fitoterapi	25
2.9.	Uçucu Yağlar	27
2.9.1.	Uçucu Yağların Genel Özellikleri	28
2.9.2.	Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri	28
2.9.3.	Uçucu Yağların Kompozisyonlarının Belirlenme Yöntemleri	29
2.9.4.	Uçucu Yağların Tıbbi Kullanımı	30
2.10.	Çalışmada Kullanılan Bitkiler	30

2.10.1.	Kekik (<i>Origanum</i>) ve <i>Origanum dubium</i> Boiss	30
2.10.2.	Tarçın (<i>Cinnamomum</i>) ve <i>Cinnamomum cassia</i>	32
2.11.	Antimikrobiyal Aktivite Düzeyini Saptama Yöntemleri ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	33
2.11.1.	Difüzyon Testleri	34
2.11.2.	Dilüsyon Testleri	35
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER	37
3.1.	Kullanılacak Diş Macunlarının Seçilmesi	37
3.2.	Uçucu Yağların Elde Edilmesi	39
3.3.	Uçucu Yağların İçeriklerinin Belirlenmesi (GC/MS Analizleri)	41
3.4.	GC Analizleri	41
3.5.	Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkilerinin Tespit Edilmesi	42
3.6.	Uçucu Yağların Diş Macunlarına İlave Edilmesi	47
3.6.1.	Dimetilsülfoksit İle Seyreltme Yapılan Grup	47
3.6.2.	Tween İle Seyreltme Yapılan Grup	48
3.6.3.	Ethanol İle Seyreltme Yapılan Grup	48
3.7.	Çözücü ile Seyreltme Yapılmış Uçucu Yağ İlave Edilmiş Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin Tespit Edilmesi	49
3.8.	Saf Yağ İlave Edilmiş Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin Tespit Edilmesi	50
3.9.	İstatistiksel Analiz	50
3.9.1.	Uçucu Yağların ve Diş Macunlarının İstatistiksel Analizi	50
3.9.2.	Etki Değerinin İstatistiksel Analizi	51
4.	BULGULAR	52
4.1.	Çalışmada Kullanılan Uçucu Yağların GC/MS Analizi Aracılığıyla İçeriklerinin Belirlenmesi	52
4.2.	Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinliklerinin Tespit Edilmesi	55
4.2.1.	Çözücü Olarak Uçucu Yağa %10 DMSO İlave Edilerek Hazırlanan Grubun Sonuçları	56
4.2.2.	Çözücü Olarak Uçucu Yağa %20 Tween İlave Edilerek Hazırlanan Grubun Sonuçları	57
4.2.3.	Çözücü Olarak Uçucu Yağa %60 Etanol İlave Edilerek Hazırlanan Grubun Sonuçları	58
4.3.	Uçucu Yağ İlavesi Yapılmamış Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri	60

4.4.	Uçucu Yağ İlavesi Yapılmış Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri	60
4.4.1.	DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri	61
4.4.2.	Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri	62
4.4.3.	Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri	64
5.	TARTIŞMA	70
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	83
7.	KAYNAKLAR	85
8.	EKLER	103
9.	ÖZGEÇMİŞ	

Şekiller

Şekil 1 Diş çürüğünün oluşması için gereken faktörler	12
Şekil 2 Çözücü tipi ve dilüsyonlarına göre uçucu yağların inhibisyon zonu çapları	59
Şekil 3 Diş Macunlarına Herbir Çözücü ve Uçucu Yağ İlave Edildiğinde Ölçülen İnhibisyon Zonu (mm)	67

Resimler

Resim 1 Jack N' Jill Bitkisel İçerikli Florürsüz Diş Macunu	37
Resim 2 Splat Organic Bitkisel İçerikli Florürsüz Diş Macunu	38
Resim 3 Splat Biocalcium Florürsüz Diş Macunu	38
Resim 4 Colgate Total Florürlü Diş Macunu	38
Resim 5 Clevenger Aparatı	40
Resim 6 Uçucu Yağın Suyu Uzaklaştırılmadan Önceki Hali	40
Resim 7 Suyu uzaklaştırılarak saklanmaya hazır hale gelen yağlar	41
Resim 8 Inokulum salin solüsyonu	42
Resim 9 McFarland Ayarlamasının Yapılması	43
Resim 10 Dimetilsülfoksit (DMSO)	44
Resim 11 Tween 20	45
Resim 12 Etanol	45
Resim 13 Dilüsyon emdirilerek kurumaya bırakılmış antibiyotik diskler	46
Resim 14 Vortex mikseri	47
Resim 15 Sonifikatör	48
Resim 16 <i>O. dubium</i> uçucu yağ kontaminasyon testi	55
Resim 17 <i>C. cassia</i> uçucu yağın kontaminasyon testi	55
Resim 21 <i>C. cassia</i> -etanol	58
Resim 22 <i>O. dubium</i> -etanol	58
Resim 23 DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Organic zon çapları (A: Splat Organic + <i>O. dubium</i> + DMSO B: Splat Organic + <i>C. cassia</i> + DMSO C: Splat Organic + Distile su)	61
Resim 24 DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Biocalcium zon çapları (A: Splat Biocalcium + <i>O. dubium</i> + DMSO B: Splat Biocalcium + <i>C. cassia</i> + DMSO C: Splat Biocalcium + Distile su)	62
Resim 25 DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Jack N' Jill zon çapları (A: Jack N' Jill + <i>O. dubium</i> + DMSO B: Jack N' Jill + <i>C. cassia</i> + DMSO C: Jack N' Jill + Distile su)	62
Resim 26 Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Biocalcium zon çapları (A: Splat Biocalcium + <i>O. dubium</i> + Tween B: Splat Biocalcium + <i>C. cassia</i> + Tween C: Splat Biocalcium + Distile su)	63

Resim 27 Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Organic zon çapları (A: Splat Organic + <i>O. dubium</i> + Tween B: Splat Organic + <i>C. cassia</i> + Tween C: Splat Organic + Distile su)	63
Resim 28 Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Jack N' Jill zon çapları (A: Jack N' Jill + <i>O. dubium</i> + Tween B: Jack N' Jill + <i>C. cassia</i> + Tween C: Jack N' Jill + Distile su)	64
Resim 29 Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Organic zon çapları (A: Splat Organic + <i>O. dubium</i> + Etanol B: Splat Organic + <i>C. cassia</i> + Etanol C: Splat Organic + Distile su)	65
Resim 30 Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Biocalcium zon çapları (A: Splat Biocalcium + <i>O. dubium</i> + Etanol B: Splat Biocalcium + <i>C. cassia</i> + Etanol C: Splat Biocalcium + Distile su)	65
Resim 31 Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Jack N' Jill zon çapları (A: Jack N' Jill + <i>O. dubium</i> + Etanol B: Jack N' Jill + <i>C. cassia</i> + Etanol C: Jack N' Jill + Distile su)	66

Tablolar

Tablo 1 Çalışmada Kullanılan Diş Macunları ve İçerikleri	39
Tablo 2 Origanum dubium Uçucu Yağının İçeriği	53
Tablo 3 Cinnamomum cassia Uçucu Yağının İçeriği	54
Tablo 4. Çeşitli Dilüsyon Seviyelerinde İnhibisyon Zonu Çapları	59
Tablo 5 Uçucu Yağ İlave Edilmemiş Diş Macunlarının İnhibisyon Zon Çapı Değeri (mm)	60
Tablo 6 Her bir Çözücü ve Uçucu Yağ Varlığında Diş Macunlarının İnhibisyon Zonu Çapları (mm)	66
Tablo 7 Test of Between Subject Effects verileri	68
Tablo 8 ANOVA Sonuçlarına Göre Macunlar Arası Karşılaştırmalar	68
Tablo 9 ANOVA Sonuçlarına Göre Çözücüler Arası Karşılaştırmalar	69

SİMGELER VE KISALTMALAR

O. dubium: Origanum dubium

C. cassia: Cinnamomum cassia

HAP: Hidroksiapatit

COMA: Commitee on Medical and Nutritional Aspects of Food Policy

S. mutans: Streptococcus mutans

S. mitis: Streptococcus mitis

S. sobrinus: Streptococcus sobrinus

EPS: Ekstrasellüler polisakkarit

NH₄F: Amin florür

APF: Asitlendirilmiş Fosfat Florür

SnF₂: Kalay florür

NaF: Sodyum florür

SMFP: Sodyum monofluorofosfat

S. officinalis: Salvia officinalis

C. carvi: Carum carvi

M.chamomilla: Matricaria chamomilla

M. piperita: Mentha piperita

C.myrra: Commiphora mhyrra

E. caryophyllus: Eugenia caryophyllus

E. purpurea: Echinacea purpurea

M. officinalis: Melissa officinalis

GC/MS: Gas chromatography/mass spectrometry

GRAS: Generally recognized as safe

LD₅₀: Letal doz

C. verum: Cinnamomum verum

C. zeylanicum: Cinnamomum zeylanicum

C. aromaticum: Cinnamomum aromaticum

CLSI: The Clinical and Laboratory Standards Institute

EUCAST: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

MİK: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Na₂SO₄: Sodyum sülfat

GC/MSD: Gas chromatography/mass spectrometry detector

GC: Gas chromatography

FID: Flame Ionization Detector

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

β- NAD: β- nikotinamid adenin dinükleotid

DMSO: Dimetilsülfoksit

Ort: Ortalama

St. Sap: Standart Sapma

E. coli: Escherichia coli

S. aureus: Staphylococcus aureus

C. albicans: Candida albicans

P. mirabilis: Proteus mirabilis

S. enteridis: Salmonella enteridis

M. luteus: Micrococcus luteus

B. cereus: Bacillus cereus

A. viscosus: Actinomyces viscosus

A. actinomycetemcomitans: Aggregatibacter actinomycetemcomitans

S. gordonii: *Streptococcus gordonii*

C. officinalis: *Calendula officinalis*

ÖZET

Karadağlıoğlu, Ö.İ. Bitkisel Diş Macunlarına Katılan Uçucu Yağların *Streptococcus mutans* Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliklerinin İncelenmesi. Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Restoratif Diş Tedavisi Programı, Doktora Tezi. Lefkoşa, 2019.

Bu çalışmanın amacı; bitkisel diş macunlarının ve *Origanum dubium* ve *Cinnamomum cassia* bitkilerinden elde edilerek üç farklı çözücüde çözdürülmüş uçucu yağların *Streptococcus mutans* üzerindeki antibakteriyel etkinliklerini saptamak ve yağların macunlara ilave edildikten sonraki antibakteriyel aktiviteleri ile karşılaştırmaktır.

Çalışmada kullanılacak olan *O. dubium* uçucu yağının elde edilmesi için mevsiminde KKTC'deki Yeşilırmak bölgesinden toplanan kekiklere ve *C. cassia* uçucu yağının elde edilmesi için ticari olarak marketten temin edilen tarçın kabuklarına (Senfoni) hidrodistilasyon metodu uygulanmıştır. Elde edilen yağlar filtreden geçirilmiştir. Filtrelenen yağlar, inoküle edilmiş agar plaklar üzerine yayılarak kontaminasyon açısından değerlendirilmiş ve kontamine olmadığı tespit edildikten sonra kullanıma hazır hale gelmiştir. Yağlar zararlı etkilerinden korunmak ve daha homojen karışımlarını sağlamak amacıyla dimetilsülfoksit (DMSO), Tween ve etanol ile çözdürülerek 1/32 oranına kadar dilüsyonları hazırlanmıştır. Dilüsyonların antibakteriyel etkinlikleri disk agar difüzyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Uçucu yağ ilave edilmeden önce çalışmada kullanılacak bitkisel içerikli diş macunlarının (Splat Organic, Splat Biocalcium, Jack N' Jill) deney gruplarını, florür içerikli diş macununun (Colgate Total) pozitif kontrol grubunu ve distile suyun negatif kontrol grubunu oluşturduğu şekilde belirlenen deney gruplarının, kuyu agar difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir. Daha sonra, her iki yağın da çalışmada kullanılan üç çözücüde çözülerek elde edilmiş karışımları bitkisel içerikli diş macunlarına ilave edilerek oluşan karışımların antibakteriyel etkinlikleri kuyu agar difüzyon yöntemi ile değerlendirilerek inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. *C. cassia* uçucu yağı, her üç çözücüde de dilüe edilmiş formu için *O. dubium*'dan daha yüksek antibakteriyel etki göstermiştir. Bitkisel bir diş macunu olan Splat Organic, uçucu yağ ilave edilmeden önce, pozitif kontrol grubu olan Colgate Total

ile aynı inhibisyon zon çapı değerini göstermiştir. Jack N' Jill uçucu yağ ilavesinden önce hiçbir aktivite göstermemiştir. Uçucu yağ ilave edildikten sonra tüm diş macunlarının antibakteriyel aktivitesinde anlamlı bir artma gözlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek antibakteriyel aktivite yine *C. cassia* uçucu yağı ilave edilmiş gruplarda belirlenmiştir. DMSO ve etanol ile çözdürülmüş uçucu yağların ilave edildiği gruplarda en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösteren grup Jack N' Jill ve *C. cassia* kombinasyonları olurken, Tween ilave edilen grupta ise en yüksek aktivite Splat Biocalcium ve *C. cassia*'da kaydedilmiştir. Bu çalışmanın sınırları dahilinde, *O. dubium* ve *C. cassia* uçucu yağlarının *S. mutans* üzerinde antibakteriyel etkilerinin olduğu ve bitkisel içerikli diş macunlarına ilave edildiklerinde macunların antibakteriyel aktivitelerini de anlamlı derecede arttırdıkları söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, Diş Macunu, *S. mutans*, Uçucu Yağ, *O. dubium*, *C. cassia*

ABSTRACT

Karadağhoğlu, Ö.İ. Antibacterial Activities of Herbal Toothpastes Combined with Essential Oils against *Streptococcus mutans*. Near East University, Institute of Health Sciences, PhD Thesis in Restorative Dentistry. Lefkoşa, 2019.

The present study aimed to evaluate and compare the antibacterial activity of three herbal toothpastes against *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) before and after adding *Origanum dubium* (*O. dubium*) ve *Cinnamomum cassia* (*C. cassia*) essential oils obtained from oregano and cinnamon plants and dissolved in three different solvents.

The herbal parts of *O. dubium* were collected from Yeşilirmak region of TRNC in season and *C. cassia* bark (Senfoni) was purchased from a local market. Essential oils were obtained using the hydrodistillation method and filtered.

The filtered pure essential oils applied to inoculated agar plates to be sure that they were not contaminated. Dimethylsulphoxide (DMSO), Tween and ethanol were used to reduce the side effects and allow the oils to dissolve homogenously in the toothpaste. The solvents were diluted up to 1/32 concentration. Agar-disc diffusion method was used to determine the antibacterial activities of the dilutions.

Before essential oils addition, agar-well diffusion method was used determine the antibacterial activity of the herbal toothpastes (Splat Organic, Splat Biocalcium, Jack N' Jill) and the positive (Colgate Total) and negative (distilled water) control groups. Essential oils diluted in each of solvents were added in herbal toothpastes and inhibition zones of the mixtures were measured using the agar-well method.

C.cassia essential oil diluted in three of the solvents showed higher antibacterial activity than *O. dubium* essential oil. Splat Organic, the herbal toothpaste, without essential addition showed similar diameter inhibition zones to Colgate Total (positive control group). Jack N' Jill toothpaste did not exhibit any antibacterial activity before essential oil addition. There were statistically significant increase in the antibacterial activity of herbal toothpastes with essential oils ($p<0,05$) and the best antibacterial activity was observed in *C. cassia* oil added groups. Jack N' Jill- *C. cassia* essential oil combinations showed the highest antibacterial activity for essential oils dissolved

by DMSO and ethanol. The best antibacterial activity of Biocalcium-C. cassia combination was observed in Tween solution.

Within the limitations of this study; it can be concluded that the *O. dubium* and *C. cassia* essential oils have antibacterial activities on *S. mutans* and the addition of essential oils significantly increase the antibacterial activity of herbal toothpastes ($p < 0,05$).

Keywords: Antibacterial, Toothpastes, *S. mutans*, essential oils, *O. dubium*, *C. cassia*

1. GİRİŞ

Diş çürükleri, dünya çapında sık görülen, diş dokularında tahribata neden olan, estetik görünümün ve çiğneme fonksiyonlarının bozulmasına yol açan kronik hastalıklardan birisidir (Petersen, 2003). Diş çürüğü gelişiminde en önemli özellik, plak ya da fermente edilebilir karbonhidratın olmaması durumunda diş çürüğünün meydana gelmemesidir (Zero, 1999). Karyojenik mikroflora, fermente edilebilir karbonhidrat, plak ve süre gibi faktörler, çürük oluşumunun muhtemel kaynağı olarak gösterilebilir (Selwitz ve ark., 2007). Bu faktörlerin konakla etkileşimi sonucu meydana gelen diş çürüğünde, asidojenik bir bakteri sıklıkla sükrözü substrat olarak kullanır (Van Houte, 1994).

Diş çürüğünün epidemiyolojisi hakkında yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtların büyük bir kısmı, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)'ın başlangıç çürüklerinin oluşumunda en etkili karyojenik bakterilerden birisi olduğunu göstermektedir (Van Houte, 1994). Ritz'e göre, plak oluşumunu streptokokların domine ettiği öncü türler meydana getirmekte, onları aktinomiçesler izlemektedir (Ritz, 1967).

Dental enfeksiyonlara sebep olan bakteriler, penisilin türevleri, 1. kuşak sefalosporinler, klindamisin ve metronidazol gibi antibiyotiklerle tedavi edilebilir (Ellison, 2009; Chow, 2015; Kuriyama ve ark., 2000). Ancak biyofilm bakterilerinde antibiyotiklere karşı bir direnç gelişirse, patolojilerde de ilerleme meydana gelecektir (Gilbert ve ark., 1997). Bakterilerin antibiyotiklere ve geleneksel tedavi yöntemlerine bu direnç göstermesi nedeniyle, mikroorganizmalara karşı aktif anti-enfektif ajanların geliştirilmesi hedeflenmektedir (Projan ve ark., 2002).

Antibakteriyeller, biyofilmdeki bakteri canlılığını etkilemek için en yaygın olarak kullanılan ajanlardır (Mandel, 1988). Miller, diş çürüklerinin doğasını araştırırken, antiseptik maddelerin çürük önlenmesinde kullanılabileceğini belirtmiştir (Baehni ve ark., 2003). Florür içerikli diş macunları da sahip oldukları yüksek klinik etkinlikleri nedeniyle kullanılabilecek güçlü oral hijyen metotları arasında yer almaktadır (Marinho ve ark., 2003). Ancak florür içeren kimyasal ajanların kullanımı, intestinal ve oral florada değişikliklere, hatta diş lekelenmeleri,

kusma ve oral kanserlere bile neden olabilmektedir (Al-Quran, 2005). Klorheksidin, amin florürler, setilpiridinyum klorür ve bu gibi kimyasalları içeren ürünler gibi ağız hastalıklarının tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan diğer antimikrobiyal maddeler toksik etkilere ve diş lekelerine neden olur. Gargarada yaygın olarak kullanılan etanol, ağız kanserine neden olabilir (Palombo, 2011; McCullough ve Farah, 2008; Knoll- Köhler ve ark., 2002; Neumegen ve ark., 2005; Rodrigues ve ark., 2007). Çok sayıda bakteri türü, mikroorganizmaların sebep oldukları hastalıkların tedavilerinde kullanılan antibiyotik ve antibakteriyel kimyasallara karşı direnç meydana getirmiştir. Bu nedenle, araştırmacılar sentetik kimyasallara karşı alternatif bir ürün arayışına devam etmektedirler (Prabu ve ark., 2006). Geleneksel tıpta yer alan ve bitkilerden izole edilen fitokimyasallar, sentetik kimyasallara karşı iyi bir alternatif olarak görülmektedir (Chitme ve ark., 2004).

Bitkisel tedaviler, gelişmekte olan ülkelerin kırsal kesimlerinde sürdürülmekte olan tıbbi tedavilerin temel kaynağını oluşturmaktadır (Steinberg ve ark., 2004). Şifalı bitkilerden elde edilen doğal ürünler, ilaçlarda kullanılmak üzere yeni kimyasalların geliştirilmesine yol açabilecek çok sayıda aktif biyolojik bileşeni içermektedir. Bitkisel ürünler, antibakteriyel, antiviral ve anti-enflamatuar aktiviteleri sayesinde diş hekimliğinde de yer almıştır. Bazı çalışmalar, bitki özlerinin ve bitki ürünlerinin, spesifik oral patojenler üzerindeki etkilerini ve biyofilm oluşumunun inhibisyonuna olan etkisini inceleyerek, diş plağı oluşumundan sorumlu olan mikrobiyal adezyonun azaltılması üzerine yoğunlaşmışlardır (Balunas ve Kinghorn, 2005; Bornes ve Arnold, 2018). Bitki özleri, uçucu yağlar ve fitokimyasallar, bakteriyel adezyonu önleme veya iyileştirme yetenekleri açısından sıklıkla araştırmalara konu olmaktadır (Loesche, 1986). Uçucu yağlar, antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle *S. mutans*'ı da içeren çeşitli bakterilere karşı kullanılabilirler (Simões, 2011; Al- Mariri ve Safi, 2014; Botelho ve ark., 2007; Furletti ve ark., 2011). Esansiyel yağların bu bakterisit veya bakteriyostatik etkileri, düşük moleküler ağırlıklı ve aromatik ve alifatik bileşenlerle karakterize edilen terpen ve terpenoidler gibi bileşenleri ile açıklanabilir (Bakkali ve ark., 2008).

Literatürde, florür içerikli diş macunları ile bitkisel içerikli diş macunlarının karşılaştırıldığı bazı çalışmalar bulunmakta (Randall ve ark., 2015; Bhattacharjee ve ark., 2018) ayrıca uçucu yağ içeren ağız gargaralarının ve ağız yıkama sularının

farklı oral bakterilere karşı etkisine ilişkin de çalışmalar yer almaktadır (Fine ve ark., 2000; Gonçalves ve ark., 2012; Albuquerque ve ark., 2018). Bununla birlikte, literatür gözden geçirildiğinde; *Origanum dubium* (*O. dubium*) ve *Cinnamomum cassia* (*C. cassia*) yağlarının bitkisel diş macunlarının yapısına ilave edildiğinde antikaryojenik etkilerinin olup olmadığı konusunda bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Bu çalışmanın amacı; bitkisel diş macunlarının ve *Origanum dubium* ve *Cinnamomum cassia* bitkilerinden elde edilerek üç farklı çözücüde çözdürülmüş uçucu yağların insan dişi plağında en sık rastlanan bakteri olan *Streptococcus mutans* üzerindeki antibakteriyel etkinliklerini saptamak ve yağların macunlara ilave edildikten sonraki antibakteriyel aktiviteleri ile karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Çürüğü

Diş çürüklerine çok eski çağlarda da rastlanmıştır. Günümüzden 20.000 yıl öncesine dayanan yazıtlar ve mağara resimlerinde çürük ile ilgili problemler resmedilmiştir. Medeniyetin gelişmesi ile diş çürüklerinde de artış gözlenmiştir. 1. ve 2. Dünya savaşı gibi refahın azaldığı, yoksulluğun arttığı zamanlarda diş çürüğünün azalması, savaşın bitmesi ve refah düzeyinin yükselmesi ile birlikte çürük insidansındaki artış bunun göstergesidir (Ismail ve ark., 2001). Özellikle gelişmiş ülkelerde 1970'lerde başlayan flor kullanımı gibi profilaktik yöntemlerin uygulanmasına bağlı olarak diş çürüğünde ciddi bir azalma görülse de diş çürüğü hala her yaştan, her sosyokültürden insanı değişik şekillerde etkilemeye devam etmektedir (Petersen ve Lennon, 2004; Petersen ve ark., 2005).

Normal koşullarda, gün boyunca mine yüzeyi ile plak ve tükürük sıvısı arasında dinamik bir denge içerisinde devam eden sürekli bir iyon değişimi söz konusudur. Mine yüzeyi ve lokal çevre arasındaki bu denge demineralizasyon ve remineralizasyon döngüleri ile devam etmektedir (Axelsson, 2001).

Çürük; diş yüzeyi ile plak sıvısı arasındaki demineralizasyon- remineralizasyon döngüsünün; demineralizasyon lehinde bozulması sonucunda, diş yüzeyinden mineral kaybına neden olan dinamik bir olay olarak tanımlanmaktadır (Cole, 1988, Jansen Van Rensburg, 1995; Featherstone, 2004). Çürük oluşumunda ve şiddetinde mikrobiyal, genetik, immünolojik, davranış farklılıkları ve çevresel faktörler rol oynamaktadır (Murdoch-Kinch ve McLean, 2003).

Minede hücresel düzeyde tamir mekanizması bulunmadığından çürüğün başlama ve ilerlemesi; diş ve pelikül/plak arasındaki fizikokimyasal olaylarla şekillenmektedir. Minenin fizikokimyasal bütünlüğü, dışı çevreleyen tükürük ve plak sıvısının kompozisyonuna ve kimyasal içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Mine apatitinin kimyasal dengesini sağlayan en önemli faktörler ortamın pH'sı ve oral sıvılardaki serbest Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F^- iyonu konsantrasyonlarıdır (Axelsson, 2001).

Lezyon formasyonu için hem asitlerin mine içine difüzyonu hem de çözünmüş minerallerin mine dışına çıkması yani kristal düzeyinde bir çözünmenin gerçekleşmesi gerekmektedir. Minede kristal düzeyinde gerçekleşen demineralizasyonda, mine kristalinin çözünürlüğü kritik bir öneme sahiptir (Zero, 1999).

Çürük oluşum süreci, karbonhidratların bakteriyel fermentasyonu sonucunda organik asitlerin formasyonu ve ortamın pH'sının kritik pH olan 5.5'in altına düşmesi ile başlamaktadır (Axelsson, 2001). Plak bakterileri tarafından oluşturulan asitler plak sıvısı içerisine sızarak hidrojen iyon konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır. Bunu, mine yapısında bulunan difüzyon kanallarının açılması sonucunda, mine yüzeyinde çözünmenin başlaması takip etmektedir (Zero, 1999).

2.2. Kritik pH

Mineden mineral çözünmesinde plak pH'sı, tükürük pH'sından çok daha önemlidir. Teorik olarak, plak pH'sı düştüğünde mineden mineral çözünmesinin başlaması beklenmektedir. Ancak plak pH'sındaki her düşüşün minede her zaman çözünmeye neden olmadığı da bilinmektedir.

Mine yapısında çözülme olması için plak sıvısında bulunan asitlerin mineye diffüze olacak kadar yoğun konsantrasyonda olması gerekmektedir. pH nötr ya da buna yakın olduğu zaman plak sıvısı Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonlarına doymuştur. Bu nedenle çözünme ya da depolanma gözlenmemektedir. Ancak plak sıvısı Ca^{+2} ve PO_4^{-3} 'e doymamış hale gelirse bu durumda oluşan çözünmeye "kritik pH" denir (Fosdick ve Starke, 2000).

Plağın asidojenik potansiyeli ve çürük arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Stephan'ın farklı çürük aktiviteli kişilerin plak pH profillerini karşılaştırdığı ve bu değişimleri "Stephan eğrisi" ile gösterdiği belirtilmiştir (Zero, 1999). Çürüğe yatkın bireylerin plağında bulunan bakterilerin büyük bir kısmı ekstrasellüler polisakkaritlerin yanı sıra intrasellüler polisakkaritleri de sentez etme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, plakta mevcut olan intrasellüler polisakkaritler de asit

oluşumuna yol açarak, plak pH'sının sürekli olan düşük kalmasına neden olmaktadır (Zero, 1999).

Çürük oluşum süreci, organik asitlerin formasyonu ve ortamın pH'sının kritik değer olan 5.5'in altına düşmesiyle başlamaktadır (Axelsson, 2000). Ancak bu değer sabit olmayıp ortamdaki asit tipi, F^- konsantrasyonu, Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları gibi özelliklere göre değişebilmektedir (Zero, 1999).

2.3. Demineralizasyon

Çürük lezyonunun oluşumu esnasında diş yüzeyinin yüzlerce mikron altında aktif madde kaybı izlenmektedir. pH kritik değer altına düştükçe hidroksiapatit çözünerek demineralizasyon süreci başlamaktadır. Demineralizasyon; hidrojen (H^+) iyonlarının plaktan diş yüzeyine, mineden çözünen minerallerin ise plak içine geçişi olarak özetlenebilir (Chow ve Vogel, 2001). Bu reaksiyon diyetle birlikte alınan karbonhidratların aktif fermentasyonu sonucu dental plakta artan H^+ iyon konsantrasyonuna bağlı olarak gerçekleşmektedir (Garcia-Godoy ve Hicks, 2008).

Dental plağın Ca^{+2} ve PO_4^{-3} ile doymuş olmasına rağmen, ortamdaki H^+ konsantrasyonundaki hızlı artış (100-1000 kat), H^+ iyonlarının minenin yüzey ve yüzey altı bölgelerindeki hidroksiapatit (HAP) kristallerini çevreleyen porlardaki sıvıya doğru hızlı bir şekilde itilmesine ve porlara difüzyonuna sebep olmaktadır. Bu reaksiyon sonucunda yüzeyel minede mevcut olan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları da komşu film tabakasının içerisine doğru, konsantrasyon gradientlerinin ters yönündeki bir itiş gücüyle itilmektedir. Bu olay mine yüzeyinde demineralizasyon sürecinin başlangıcı olarak ifade edilmektedir (Garcia-Godoy ve Hicks, 2008). Dental plağın Ca^{+2} ve PO_4^{-3} ile doymuş olmasına rağmen, ortamdaki H^+ demineralizasyonla birlikte zamanla mine kristallerinin çapları azalmakta, prizma kınları çözünmekte ve mine daha pöröz bir yapıya dönüşmektedir (Margolis ve ark., 1999).

2.4. Remineralizasyon

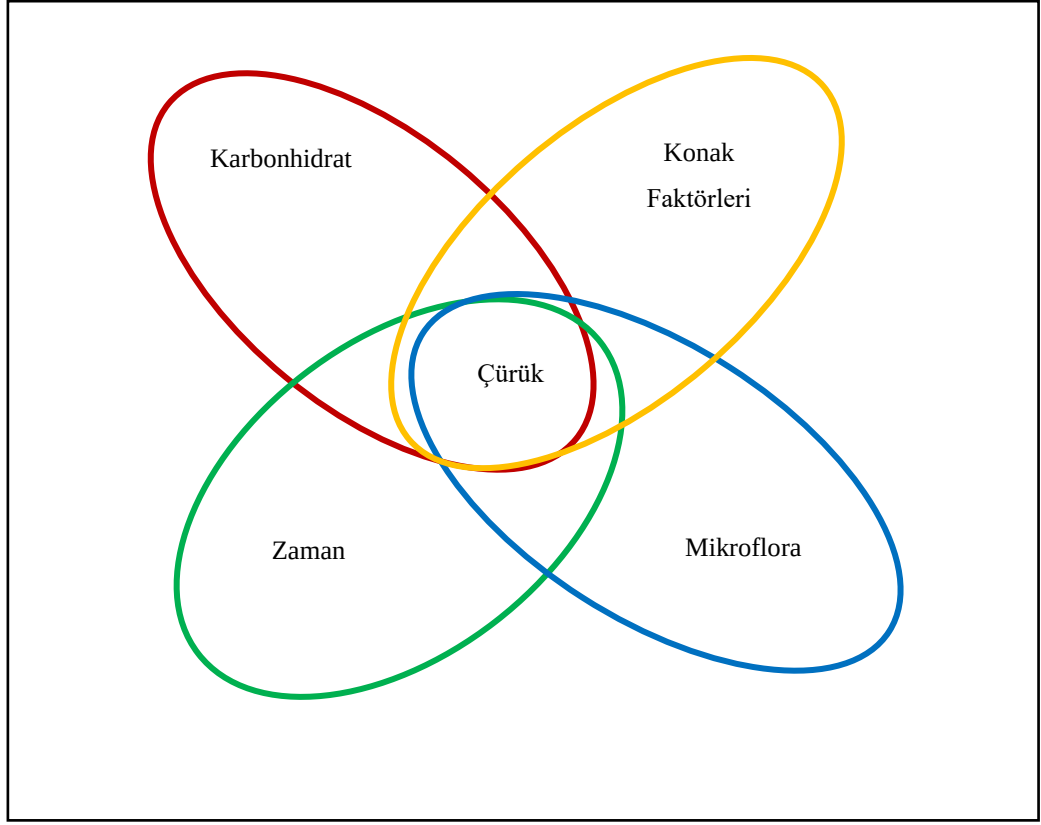
Plakta oluşan asitlerin zamanla tükürük tarafından tamponlanmasıyla pH yükselerek nötr hale gelmektedir. Nötr pH'da hidroksiapatit kristalleri doymamış hale geçmekte, çözünen mineraller tekrar çökmeye başlamakta ve remineralizasyon gerçekleşmektedir. Minenin remineralizasyonunda tükürük, biyofilm tabakası ve uygulanan kalsifiye edici ajanlarda bulunan Ca, PO₄ ve F⁻ konsantrasyonları ile minerallerin sıvıdaki çözünürlüğü önem taşımaktadır (Hicks ve ark., 2004).

Remineralizasyon esnasında, mine yapısından demineralizasyon sürecinde kaybedilen mineraller telafi edilmektedir. Daha önce hasara uğrayan kristallerin üzerinde tekrar mineral depolanarak lezyon tamir olmakta, yani iyileşmektedir. Yeni oluşan kristaller ortamda bulunan iyonların özellikleri ile ilişkili olarak gerçek kristal boyutundan küçük ya da daha büyük olabilmektedir. Böylece minenin asit ataklarına karşı geçirgenliği azalarak, çürüğe karşı direnci artmaktadır (Hicks ve ark., 2004).

Minede kavitasyon oluşmadan önce, başlangıç halindeki çürük lezyonlarında yüzeyel mine tabakasında çok az bir değişim görülmesine karşın, lezyon gövdesinde %20-50 mineral kaybı mevcuttur. Tükürük minerale doymun ise remineralizasyon gerçekleşeceğinden mineral kaybı kalıcı değildir. Bir sonraki çürük atağı esnasında demineralizasyon ve remineralizasyon siklusu tekrarlanmakta, eğer demineralizasyon aşamaları daha etkin ise çürük ilerlemektedir (Berkowitz ve ark., 2002).

2.5. Diş Çürüğünde Rol Alan Faktörler

Diş çürüğü pek çok faktörün bir araya gelmesi ile oluşan bir süreçtir. Çürük oluşumu için kariyojenik mikroflora, fermente olabilen karbonhidratlar, plak ve süre etmenlerinin bir araya gelmesi gerekmektedir (Wefel ve Donly, 1999; Selwitz ve ark., 2007). Çürük oluşması için gereken faktörler Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1 Diş çürüğünün oluşması için gereken faktörler

2.5.1. Karbonhidratlar

Günümüzde, özellikle gelişmekte olan veya gelişmiş toplumlarda yeme içme alışkanlıkları, kronik hastalıkların oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Dünya Sağlık Örgütü, 2003). Sosyoekonomik ve siyasal gelişmelere bağlı dünya çapında değişen beslenme sistemi, yüksek miktarda şeker ve doymuş yağ içeren, taze meyve-sebze ve lifli besinlerden fakir bir hal almıştır (Drewnowski ve Popkin, 1997). Beslenme ve diyet, dişleri, ağız içindeki yumuşak dokuları ve tükürük akışı gibi etkenleri lokal olarak etkilemektedir (Nun, 2001; Moynihan, 2005; Touger ve Decker, 1998; Boyd ve Iampì, 2001). Fermente edilebilen karbonhidratlar, anaerobik koşullarda metabolize edilmekte ve bu metabolizasyon işleminin sonucunda ürün olarak organik asit çıkarmaktadırlar. Ortaya çıkan bu asitler, diş mine ve dentin dokularında

gerçekleşen döngüyü demineralizasyon lehine çevirmekte ve çürük oluşumu için risk oluşturmaktadır (Featherstone, 2004; Lingstrom ve Moynihan, 2003).

Beslenmede yer alan gıdanın fiziksel ve kimyasal özellikleri, tüketilme miktar ve sıklıkları vb. faktörler çürük insidansının belirlenmesinde kullanılmaktadır (Scientific consensus conference on methods for assessment of the cariogenic potential of foods, 1985). Bir besinin diş çürüğü üzerindeki etkisi (karyojenitesi), karbonhidratın tipi ve çözünürlüğü gibi özellikleri, ağızda kalma süresi, asitlik özelliği ve tükürük akış hızı üzerine etkisi gibi etkenler tarafından belirlenmektedir. Buna göre, basit şeker içeren kahvaltılık gevrekler, ekmekler, krakerler, kuru meyveler, kek ve kurabiye vb. atıştırmalıklar gibi plak pH'sını 5.5'in altına düşüren yiyecekler yüksek kariyojenik gıdalar olarak, et, süt, peynir, yumurta, fıstık ve birtakım sebzeler gibi plak pH'sını 6'nın üzerine çıkararak tükürük salgılanımını uyaran gıdalar ise düşük kariyojeniteye sahip gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Saydam, 1998; Nizel ve Papas, 1989). Sebze ve meyvelerin içerisinde bulunan doğal şekerler, "çay şekeri" olarak bilinen sükrozun ilave edildiği yiyecek ve içeceklere oranla daha az çürük yapıcı etki gösterse de tüketim şekilleri ve sıklıklarına göre kariyojenik olabildikleri belirtilmiştir (Van Loveren, 2000).

Plak pH'sında yarattıkları değişimin yanı sıra, besinlerin ağızda kalma ve temizlenme süreleri de asidojenite ile alakalı bir faktör olarak çürük gelişme potansiyelini etkilemektedir. Sütlü çikolata vb. atıştırmalıklar tükürükte hızlı çözünemedikleri için diş yüzeyinden kolayca uzaklaşırken, tuzlu kraker ve cips gibi gıdalar kolayca çözünemediklerinden otürü diş yüzeyi ile daha uzun süre temas etmektedirler. Bu duruma göre, bu gıdaların daha fazla asit üretmeleri nedeniyle kariyojeniteleri de yüksek olmaktadır (Kashket ve ark., 1991). Committee on Medical and Nutritional Aspects of Food Policy (COMA) tarafından 1989'da düzenlenen panelde şekerler, sebze ve meyvelerin yapısında bulunan iç kaynaklı (intrinsik) şekerler ve gıdalara daha sonradan ilave edilen şekerler ve süt şekerlerinden oluşan dış kaynaklı (ekstrinsik) şekerler olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bu şekerlerin bir gün içerisinde dört defadan fazla tüketiminin çürük oluşturma riskinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Moynihan ve Petersen, 2004).

Şeker ve nişastanın kimyasal yapısı da çürük potansiyeli üzerinde etkili olmaktadır. Yüksek nişasta- düşük şeker içeren beslenme programını uygulayan bireyler, düşük nişasta- yüksek şeker programını uygulayan bireylere göre daha az risk altındadırlar. Saf nişasta çürük oluşumu üzerinde en az risk içeren grup olmakla birlikte, şekerle karıştırılmış nişasta ise en yüksek riske sahip olan gruptur (Moynihan, 2000; Van Loveren, 2000). Nişasta kolay nötralize edilebilmesine rağmen, ağız ortamında daha uzun süre kaldığı için çürük oluşturma potansiyelinin var olduğu unutulmamalıdır (Papas ve Nizel, 1989).

2.5.2. Konak Faktörleri

İrk, genetik ve yaşa bağlı olarak etkisi değişen faktörler ve kişinin içerisinde bulunduğu toplumda gözlendiği beslenme alışkanlıkları konak faktörleri olarak adlandırılmaktadır. Mine kristal yapısı, mine mineralleri, immün yanıt sistemi, konakçı davranışları, tükürük içeriği ve miktarı konak faktörlerini oluşturmaktadır (Yılmaz, 2012).

Mine, dentin ve sementin yapısında temel olarak kalsiyum ve fosfat bulunmaktadır. Bunun yanı sıra bikarbonat, magnezyum ve flor da bulunabilir. Remineralizasyon- demineralizasyon döngüsünde diş çözünürlüğünü arttıran bikarbonatların yerini florun alması ile çözünürlük azaltılmaya çalışılmaktadır. Uygun şekil ve dozlarda flor takviyesi alan bireylerde çürük oluşum riski azalmaktadır (Yılmaz, 2012).

Dişler ağız içerisinde bulunan ve tükürük adı verilen bir sıvı ile düzenli olarak yıkanmaktadır. Tükürüğün sindirime yardımcı olması, çiğneme ve yutmayı sağlaması, konuşmanın kolaylaştırılması, savunma, adli tıp vb. alanlarda teşhis materyali olarak kullanılması, salgılama antiviral, antifungal ve antibakteriyel mekanizmalarda görev alması, ağız içerisindeki asitleri nötralize ederek tamponlama sağlaması, demineralizasyonu önlemek için iyon rezervuarı görevi görmesi, ağız ve çevresinin korunmasına yardımcı olması gibi temel fonksiyonları bulunmaktadır (Yılmaz, 2012).

Tükürük yapısında, oral mukozadaki enfeksiyon hastalıklarının gelişmesini ve bakterilerin çoğalmasını önlemeye yardımcı olan iyodit, peroksidaz, lizozim gibi çeşitli maddeler yer almaktadır Bunun yanı sıra bradikinin, IgA, IgG ve IgM gibi immünoglobulinler de konağın immün yanıtına katkıda bulunurlar (Aktaş ve ark., 2009).

Tükürüğün akış hızının yüksek olması, tamponlama kapasitesini arttırmaktadır. Plaktaki asitin tamponlanmasında ve içerdiği kalsiyum ve fosfat sayesinde remineralizasyonda tükürük önemli rol oynamaktadır. Demineralizasyon-remineralizasyon dengesini sağlanmasında tükürük akışı en önemli etkenlerden birisini oluşturmaktadır. Tükürük akış hızı düştüğünde, diş yüzeyine tutunan bakterilerin temizlenmesi zorlaşacak ve daha fazla asit üretmeleri nedeniyle diş yüzeyinde kayıplar meydana gelecektir. Özellikle ağız hareketleri ve tükürük akış hızının minimum seviyeye indiği gece saatlerinde, tükürük akış hızının 0.7 mL/dk altına indiği durumlarda ve radyoterapi veya tükürük akış hızını etkileyen hastalıklar nedeniyle tükürük akışının azaldığı durumlarda çürük riski artmaktadır. Bu nedenle tükürük çürük oluşumunda önemli bir role sahiptir (Yılmaz, 2012).

2.5.3. Zaman

Asitin mine kristallerinin çevresini kuşatması sonucu kaviteasyon gerçekleşmektedir. Bu aşama aylarca veya yıllarca sürebilmektedir. Minede demineralizasyon ve remineralizasyon olayları sürekli olarak devam etmektedir. Besin maddesi yokluğunda ağız ortamı tükürük tamponlama sistemi tarafından nötralize haldedir. Besinlerin sindirilmesi ile ağız içerisinde oluşan asitler, tükürük tarafından hemen tamponlanmazsa, komşu dişlerde mine kristalleri çözünmeye başlayacaktır. Beslenme sıklığına bağlı olarak asit oluşumundan dolayı ağız içerisinde pH sürekli düşük seviyede kalacak ve buna bağlı demineralizasyon-remineralizasyon döngüsünde demineralizasyonun etken olmasına neden olacaktır.

2.5.4. Mikroflora (Biyofilm ve Bakteriler)

Diş çürüğünün oluşmasında, bakteriler önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarla bakteriyel enfeksiyon bulunmayan canlılarda diş çürüğü oluşmadığı, oral bakterilerin *in-vitro* koşullarda bile çürük oluşumuna sebep olabildiği, farklı çürük lezyonlarından çeşitli bakteri türlerinin izole edilebildiği ve diş çürüklerinin tedavisinde antibiyotiklerin de etkili olabildiği sonuçlarına ulaşılmıştır (Newbrun, 1989; Roberson ve ark., 2010).

2.5.4.1. Biyofilm

Mikroplar, bakteri topluluklarının oluşumunda, proteinler, ekstrasellüler DNA ve polisakkaritlerden oluşan bir biyofilm matriksi üretirler (Limoli ve ark., 2015). Biyofilm, mikrobiyal yaşamın en temel formudur ve biyolojik olarak aktif hücre matrikslerinin ve ekstrasellüler maddelerin sert bir yüzeye ilişkide olmasıdır. (Bakke ve ark., 1984). Biyofilmler, substrata katılan ve bir organik polimer madde içerisine implante olmuş çok sayıda bakteriden meydana gelmiştir. Ekstrasellüler polisakkaritler, iyi organize olmuş ve yapılandırılmış bir matriks içerisinde, bakteri hücreleri tarafından salgılanan ve milyonlarca komşu hücreyi kaplayan, çözünmeyen ve mukoid sıvılardır. (Upadhyayula ve Gadhamshetty, 2010).

Matriksin polisakkarit komponenti, biyofilm içerisindeki hücelere, adezyonu, korumayı ve yapılanmayı içeren çok çeşitli yararlar sağlar. Agregatif polisakkaritler, bakteri hücrelerinin birbirlerine adezyonuna imkân veren bir moleküler yapıştırıcı görevi görür (Limoli ve ark., 2015).

2.5.4.2. Dental Plak Oluşumu

Dental plak, yapısal ve fonksiyonel olarak organize olmuş çok tür içeren bir mikrobiyal biyofilm olup ağız hastalıklarının etiyolojisinde primer rol oynamaktadır (Marsh, 2010; Flemmig ve Beikler, 2011). Bakteri plağı, diş yüzeyinde meydana gelen tükürük ve bakteri kaynaklı polimerler içine gömülü bir mikrobiyal birikim

olarak tanımlanabilir. Plak kompozisyonu ve lokalizasyonu farklı kişilerde değişiklik gösterebilir. Bir gram bakteri plağında yaklaşık olarak 2×10^{11} mikroorganizma bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar, intraselüler matriks içerisinde lökositler, makrofajlar ve epitelyum hücreleri ile birlikte yer almaktadır. Tükürükten gelen inorganik ve organik molekülleri de içeren ekstraselüler matriks, plak kütlesinin yaklaşık olarak %20-30'unu oluşturmaktadır. Organik yapısında polisakkarit, lipid, protein ve glikoprotein bulunan plağın inorganik bileşenleri ise kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum ve eser elementlerden oluşmaktadır (Yılmaz, 2012).

Diş yüzeyinin temizlenmesinden hemen sonra, tükürükten türetilen predominant moleküller, aynı zamanda bakteri hücrelerinden dökülen ve gingival krevikular sıvılardan gelen konak polimerleri de içeren materyal, mine ve sement yüzeyine adsorbe olmaktadır (Hannig ve ark., 2005). Başlangıçta yalnızca birkaç bakteri türü, bu plağa yapışır ve bu yapıya “kazanılmış plak” adı verilmektedir. Hücreler, zayıf, uzun menzilli fizikokimyasal kuvvetler tarafından yüzeye yakın olarak tutulur. Çoğunlukla *S. mutans* ve *S. mitis*'ten oluşan erken kolonize olan bakteriler üzerinde bulunan adezin moleküller, kazanılmış plak içerisinde bulunan tamamlayıcı reseptörlere irreversible olarak bağlanabilir (Whittaker ve ark., 1996).

Biyofilm geliştikçe, daha hassas olan zorunlu anaerob bakteriler gibi ikincil kolonizer bakterilerin hücre yüzeyinde bulunan adezinler, önceden atake olmuş bakterilerin reseptörlerine bağlanır. Bu sürece “koadezyon” ya da “koagresyon” adı verilmektedir (Kolenbrander ve ark., 2000).

Koagregasyon sürecinde plağa farklı bakteri türleri katıldıkça, yapı içerisindeki streptokok oranı giderek azalmaya başlar. Bu aşamada plak kalınlaşır. Tutulmuş bakterilerin bu ileri kolonizasyonları, stabil olgun bir bakteri plağı oluşturur. Bu oluşumun meydana geldiği sürece “bakteriyel dizilim” adı verilmektedir. Oluşan bu dizilim, beslenme, antibiyotiklere karşı direnç geliştirme ve çeşitli konak davranışları gibi mekanizmalar geliştirebilir (Yılmaz, 2012).

Kurulmuş olan mikrofloranın içeriği, habitatta belirgin bir değişiklik olmadığı sürece stabil yapıdadır ve sabit kalır. Mikrobiyal homeostazis olarak adlandırılan bu stabilite, yerleşik mikrofloradaki herhangi bir metabolik kayıtsızlıktan kaynaklanmamaktadır. Plaktaki stabil durumuna, birbirinden ayrı türlerin hem sinerji

hem de antagonizm gibi çok çeşitli etkileşimler ile dengede tutulduğu oldukça dinamik bir sürece neden olmaktadır (Marsh, 1989). Bu aşamada “zirve topluluk” (Climax community) oluşmuştur. Oluşma zamanının belirlenmesi imkânsız olmakla birlikte ortalama birkaç gün içerisinde meydana gelmektedir. Plâğın geliştiği farklı anatomik bölgelerde gözlenen farklı biyolojik ortam nedeniyle, süreç çok yavaş ilerlemektedir (Yılmaz, 2012).

2.5.4.3. Dental Plak Bakterileri

Dental bakteri plağı, aerob, anaerob ve fakültatif anaerob gram negatif ve gram pozitif bakterileri kapsayan geniş bir mikrofloradan oluşmaktadır. Plak bileşimi, içerdiği mikroorganizmalar ve bulunduğu yere bağlı olarak değişebilmektedir. Temel olarak plakta yer alan bakteriler, gram pozitif koklar (streptococcus ve peptostreptococcus) ve çubuklar (actinomyces, bifidobacterium, corynebacterium, eubacterium, lactobacillus, propionibacterium, rothia), gram negatif koklar (Neisseria, veillonella) ve çubuklar (Bacteroides, campylobacter, eikenella, fusobacterium, haemophilus, leptotrichia, prevotella, porphyromonas, selenomonas ve treponema) olarak sınıflandırılabilir (Yılmaz, 2012).

Pelikül oluşumun gözlemlendiği ilk 2- 4 saatlik erken dönemde gram pozitif koklar görülür. 1- 2 gün içerisinde gram-pozitif basil ve filamentlere rastlanmaktadır. Zaman içerisinde plakta aktinomiçes sayısı artmaktadır (Yılmaz, 2012).

2.6. *S. mutans*’ın Çürük Oluşumu Üzerine Etkisi

19. yy’ın sonlarına doğru, Miller tarafından oral mikroorganizmaların, diyet karbonhidratlarını, mineyi demineralize edecek asitlere parçaladığı öne sürülen “şimiko- paraziter teori” ortaya konmuştur. Ancak mikrobiyoloji ile ilgili gelişmelerin henüz çok yeni olması nedeniyle hangi bakteri/bakterilerin sorumlu olduğu belirlenememiştir. 1924 yılında Clarke, insan çürük lezyonundan streptokok izole etmiş ve *S. mutans* ismini vermiştir. Buna rağmen, 1960’lı yıllarda gnotobiyotik hayvan çalışmaları ile diş çürüğünün bulaşıcı olabileceği, fermente edilebilir

karbonhidrat tüketiminin çürük gelişiminde önemli bir rol oynadığı, insanlardaki streptokok türlerinin yüksek şekerle beslenen kemirgenlerde de çürük oluşumuna sebep olabileceği ve bu bakterileri hedef alan antibiyotiklerin çürük oluşmasını önleyebildiği kanıtlanıncaya kadar bu olay göz ardı edilmiştir. Hayvan çalışmaları göz önünde bulundurulduğunda en kariyojenik olarak belirlenen türler *S. sobrinus* ve *S. mutans* olarak belirtilmiştir (Marsh, 2010).

Mikrobiyolojinin bir disiplin haline geldiği günlerden beri, dental plak biyofilminin farklı bir mikrofloraya sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle “spesifik plak hipotezi”nin ileri sürülmesiyle büyük bir ilerleme meydana gelmiştir (Loesche, 1976; Loesche, 1979). Bu hipoteze göre, dental plak biyofilminde bulunan çok sayıda bakteri türü arasından yalnızca birkaç tür bakteri aktif olarak hastalığa yol açmaktadır. Bu nedenle, hastalık etkeni olan bu spesifik bakterilere karşı önlem alındığı takdirde, çürük ile mücadele edilebileceği düşünülmüştür.

Streptococcus mutans (*S. mutans*), ismini “mutans streptococci” olarak birbiriyle yakın ilişkili olan yedi türe vermektedir. Temel habitatı ağız, farenks ve intestinal sistemdir (Loesche, 1986). Asidik metabolitlerin ürünleri, mine yüzeyine adezyon, glikojen rezervi oluşturma ve ekstraselüler polisakkarit sentezleme yeteneği gibi çeşitli faktörler diş çürüğü oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Loesche, 1986; Trahan, 1995). *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*, mine pelikülüne ve diğer plak bakterilerine adezyon yetenekleri nedeniyle diş çürüğü etiolojisinde primer rol oynamaktadır (Desoet ve ark., 1990; Lamont ve ark., 1991; Marsh, 2003).

Streptococcus mutans ve *laktobasiller* güçlü asit üretici bakterilerdir ve oluşturdıkları bu asidik çevre nedeniyle kavite oluşumu için risk faktörü yaratmaktadırlar (Tanner ve ark., 2001). Genel olarak, ağız ortamında *S. mutans* görülmesini takiben 6- 24 ay içerisinde çürük oluşumu gözlenmektedir (Mayooran ve ark., 2000).

Asidojenik bakteriler olan *S. mutans* ve *S. sobrinus*, sükroz varlığında ekstraselüler polisakkaritler oluşturabilirler. Bunun yanı sıra fruktoz ve glikozu da kullanabilirler (Zero, 2004; Wiaters ve ark., 1999). Ekstraselüler polisakkaritler, uzun zincirli ve yüksek molekül kütlesine sahip polimerlerdir (Zissu ve Shah, 2003). Glikoz ve fruktoz kısımları arasındaki enerji bakımından zengin glikozidik bağ,

ekstrasellüler polisakkarit (EPS) sentezi için gerekli olan serbest enerjiyi sağlar. Glikoz homopolisakkaritleri “glukan” olarak adlandırılırken, fruktoz homopolisakkaritleri ise “fruktan” olarak adlandırılmaktadır (Trahan ve ark., 1985; Monsan ve ark., 2001). Glukanlar glikoziltransferaz ürünleriyken, fruktanlar frukoziltransferaz ürünleridir (Toda ve ark., 1987). Sükrozdan büyük miktarlarda üretilmekte olan ekstrasellüler polisakkaritler, *S. mutans*’ın karyojenitesi için önemli bir faktördür (Shellis ve Dibdin, 1988).

2.7. Diş Hekimliğinde Antibakteriyel Ajanların Kullanımı

Diş çürüğü ile mücadele yöntemleri, topikal olarak uygulanan antibakteriyel ajanlar aracılığıyla kariyojenik bakterilerin kolonizasyonunu engellemek ya da azaltmaya yönelik girişimleri engellemek, bakterilerin diş yüzeyine yapışmasını sağlayacak ürünleri inhibe edecek ve bu ürünleri sindirecek metabolik düzenleyicileri kullanmak gibi kapsamlı bir program içermelidir (Keyes, 1969; Loe, 1969; Burnett ve Schuster, 1978). *Streptococcus mutans* ile mücadelede antibakteriyel ajanlar, önemli bir rol üstlenmektedir (Rask ve ark., 1988; Tenovuo ve ark., 1992). Antibakteriyel ajanların, düzenli olarak gıdalar ve su aracılığıyla oral yolla uygulanmasının, sıçan ve hamsterlarda diş çürüğü oluşumunu %90 oranında azalttığı gözlenmiştir (McClure ve Hewitt, 1946).

2.7.1. Klorheksidin

Klorheksidin, diş hekimliğinde sıklıkla tercih edilen, geniş spektrumlu ve düşük toksik özellik gösteren antibakteriyel bir ajandır (Denton, 1991). Oral mukozada primer ve sekonder olmak üzere iki tip aktivite göstermektedir. Primer aktivitesi, hücre membranını parçalamak, kullanıldığı konsantrasyona bağlı olarak büyümeyi durdurmak ya da hücrelerin ölümünü sağlamak; sekonder aktivitesi ise glikositik ve proteolitik enzimlerin inhibisyonunu gerçekleştirmektir (Hugo ve Longworth, 1966). Klorheksidin, gram pozitif bakterilere karşı daha etkin olması ile beraber, gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki göstermektedir (Aktaş ve Giray, 2010). 2 hafta boyunca günde iki kere klorheksidin kullanımının, yıllık

çürük oluşum potansiyelini üç ile dört kat azalttığı tespit edilmiştir (Zickert ve ark., 1982; Lindqvist ve ark., 1989).

2.7.2. Antibiyotikler

Antibiyotikler, günümüzde diş hekimliği de dahil olmak üzere geniş bir kullanım alanına sahip olup, en çok tüketilen ilaçların başında gelmektedir (Kandemir ve Ergül, 2000; Karabay ve Hoşoğlu, 2008; Versporten ve ark., 2014) Diş hekimliğinde antibiyotik kullanımına sebep olan enfeksiyonlar genellikle gram pozitif, zorunlu anaerop, fakültatif ve aerop bakteriler nedeniyle, polimikrobiyal olarak meydana gelmektedir (Aydın ve ark., 2015). Diş hekimliğinde kullanılabilen antibiyotiklerin sayısı sınırlıdır (Chow, 2015; Ellison, 2009; Kuriyama ve ark., 2000) Bu antibiyotikler:

Penisilin: Düşük toksik özellik gösteren, dar spektrumlu olmasının yanında yüksek etkinliğe sahip, zorunlu anareobik bakterilere, fakültatif bakterilere ve streptokoklara karşı etki gösteren bir antibiyotik çeşitidir. Dental enfeksiyon varlığında tercih edilen antibiyotik tiplerinin başında gelmektedir (Aydın ve ark., 2015).

Penisilin + Beta-Laktamaz İnhibitörleri: Klavulanik asit ve sulbaktam, beta laktamaz inhibitörleridir ve klavulanik asit + amoksisilin veya sulbaktam + ampisilin gibi kombinasyonlar, ağız florasında aktif halde bulunan beta laktamaz üreten bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etki göstermektedir. Özellikle kök kanal enfeksiyonlarında bu tip bakterilerin bulunması sebebiyle tercih edilmesi gereken antibiyotiklerdir (Aydın ve ark., 2015).

Klindamisin: Kemik dokulara dağılımı iyi olan, gram-negatif anaeroplara, gram pozitif aerop ve anaeroplara karşı etkililiği yüksek bir antibiyotik çeşididir ve penisiline karşı alerjisi olan hastalarda kullanılır (Aydın ve ark., 2015).

Amoksisilin: Penisilin ile kıyaslandığında, gram negatif bakterilere karşı daha geniş bir spektruma sahip olan, hızlı emilebilen, güvenilirliği yüksek ve etkili bir antibiyotiktir (Aydın ve ark., 2015).

Tetrasiklin: Doğrudan antimikrobiyal özellik gösteren, antiinflamatuvar özelliğe sahip, gram-negatif ve aerop gram-pozitif bakterilere karşı bakteriyostatik etkiye sahip bir antibiyotiktir. Bakterilerin, bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirme olanağı yüksektir. Tetrasiklin, dişlerde renklenmeye ve hipoplaziye sebep olabilir. Ayrıca, teratojen bir ilaçtır, bu sebeple gebelerde kullanılmaması gerekmektedir (Aydın ve ark., 2015).

Metronidazol: Zorunlu anaerop bakteriler üzerinde yüksek etkinlik göstermesine rağmen, aerop ve fakültatif aeroplara karşı sınırlı ve yetersiz aktiviteye sahip bir antibiyotiktir (Aydın ve ark., 2015).

2.7.3. Gargaralar

Ağız gargaraları, dental uygulamalarda, koruma ve tedavi etme amacıyla, farklı şekil ve içeriklere sahip ajanlardır. Sahip oldukları antibakteriyel etkileri sayesinde, çürük oluşumu ve periodontal hastalıklardan korunmak için ağız florasını düzenlemeye, ağız kokularını azaltmaya, cerrahi girişimlerin oral mukozaya olan olumsuz etkilerini minimize etmeye yardımcı olmaktadır. Bunun yanı sıra, florürlü gargaralar da dental hassasiyeti azaltmak ve diş çürüğünü önlemek amacıyla tercih edilmektedir (Holyroyd, 1980; Blechman ve ark., 1973).

Diş hekimi rehberliğinde kullanılan antimikrobiyal ağız gargaraları, implant ve sabit protez uygulamaları sonrasında, ortodontik tedavi süresince, cerrahi işlemler sonrasında, ağız kuruluğu, mantar enfeksiyonları, hiperplazi varlığında, oral enfeksiyon ve bakteriyemi riski bulunan hastalara tavsiye edilmektedir (Jennings, 1972; Eley, 1999). Ercan ve ark., 2004 yılında yapmış oldukları bir çalışmada beş farklı ağız gargarasının *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus acidophilus* bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, klorheksidin içeren gargaranın tüm bakteriler üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir (Ercan ve ark., 2004). 2018 yılında yapılan bir çalışmaya göre, alkol içeren antimikrobiyal gargaraların *Streptococcus mutans*, biyofilm ve mine çürük lezyonlarından korunmadaki etkisi incelenmiş, test edilen tüm gargaraların mineral

kaybını azalttığı gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm gargaraların biyofilmde bakteri sayısında azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (Braga ve ark., 2018).

2.7.4. Diş Macunları

Günümüzde çürük ile mücadelede en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi de diş fırçalamadır. Diş fırçalama yöntemi; periodontal hastalıklarının, diş eti inflamasyonunun ve diş çürüklerinin gelişme kapasitesini azaltmaktadır. Ancak tüm bu bilgilere rağmen, dünya çapındaki ağız hastalıkları görülme oranındaki artış yorumlandığında, diş çürüklerinin önlenmesi için diş fırçalama tek başına yeterli olmamaktadır. Bu nedenle diş fırçalama sürecine kimyasal tedavi ajanları ilave edilebilir (Morris ve ark., 1998).

Diş macunları, genel olarak, diş fırçası yardımıyla, dişlerin erişilebilir bölgelerinin temizlenmesine yardımcı olan madde olarak tanımlanabilir (Fischman ve Yankell, 2004). Diş macunları, yüzyıllardır diş yapısının güçlendirilmesi, ağızda oluşan kötü kokuların giderilmesi, diş hassasiyetinin önlenmesi ya da diş çürüklerinden korunma amacıyla kullanılmaktadır (Fischmann, 2000).

Genel olarak diş macunlarının yapısında belirli sınırlar dahilinde aşındırıcılar, tatlandırıcılar, köpürtücü ajanlar, su, nemlendiriciler ve kıvam vericiler bulunmaktadır. Bazı diş macunları düşük miktarlarda koruyucu maddeler de içermektedirler (Fischman ve Yankell, 2004). Bunun yanı sıra, kullanım amaçlarına göre diş macunlarının içerisine çeşitli terapötik ajanlar ilave edilerek; “diş beyazlatmaya yönelik”, “bakteri üremesi ve plak oluşumunun önlenmesine yönelik”, “diştaşı oluşumunu engellemeye yönelik”, “dentin hassasiyetini gidermeye yönelik” ve “çürük oluşumunu önlemeye yönelik” olmak üzere 5 grupta incelenmiştir (Forward ve ark., 1997).

Çürüğün önlenmesinde kullanılan diş macunlarının içerisinde en sıklıkla kullanılan madde florürdür (Fischmann ve Yankell, 2004). Diş macunlarının içerisine katılmış olan florür, Amin Florür (NH₄F), Asitlendirilmiş Fosfat Florür (APF), Kalay Florür (SnF₂), Sodyum Florür (NaF) ve Sodyum Monofluorofosfat (SMFP) formunda bulunmaktadır ve diş macunu kutularının üzerinde florürlerin % veya ppm

konsantrasyonu belirtilmektedir (Can, 1999). Piyasada satılan diş macunlarının florür içerikleri 1,000- 1,110 ppm ile sınırlıdır. Güvenlik kapağı içermesi gereken tüpler içerisinde kullanıma sunulması gereken ürünlerde, tek bir tüpte 120 mg'dan fazla florür bulunamaz (Can, 1999; Fischmann ve Yankell, 2004). Florür içerikli bu macunların *in-vivo* koşullardaki bakteri canlılığını, diş eti ve plak indeks skorlarını azalttığı gösterilmiştir (Singh ve ark., 2010). Ancak florürlü diş macunlarının bu yararlarına rağmen, bu tip kimyasalların aşırı kullanımı kötü sonuçlar meydana getirebilir. Bu nedenle, sert kimyasalların kullanımı yerine bitkisel diş macunları tercih edilebilir.

2.8. Fitoterapi

“Bitkilerle tedavi” anlamına gelen fitoterapi; tamamlayıcı bir tedavi, bir alternatif tıp yöntemidir. Fitoterapide kullanılan bitkinin orijinal kompozisyonu korunmak suretiyle bu bitkilerin tümü ya da istenilen oranda bir miktarı karıştırılarak, tıbbi amaçlar için kullanılır (Falzon ve Balabanova, 2017). Allopatik tıp, naturopatik tıp, geleneksel Çin tıbbı, Ayurvedik tıp ve antroposofik tıp da dahil olmak üzere çeşitli tıbbi gelenekler tarafından bitkilerle tedavi metodları kullanılmaktadır (Falzon ve Balabanova, 2017). Bunun yanı sıra, geleneksel tıp yöntemlerine destek olarak Kuzey Amerika, Avrupa ve diğer endüstrileşen bölgelerde yaşayan kesimin %50'sinden fazlası, en az bir alternatif tıp metodu kullanmaktadır (Carnelio ve ark., 2008). Hekimler, tamamlayıcı özelliklere sahip olduğu düşünülen tek bir tür ya da birden çok bitkiyi ya da bu bitkilerin vitamin ya da mineral gibi bitkisel olmayan bileşenlerle karışımlarını kullanmaktadırlar. Geleneksel tıpta bitki, çay gibi bütün formuyla kullanılırken, Batı tıbbında daha çok bitkinin standardize edilmiş bir komponenti kullanılır. Bitkilerden elde edilen farmasötik ilaçlar; endüstriyel ayrılma metodu ile tipik olarak bitkilerden izole edilen tek bileşenler ve bu bileşenlerin ekstraksiyonlarının terapötik özelliklerine göre tanımlanmasıdır (Carnelio ve ark., 2008).

Antibiyotiklerin gereksiz ve yanlış kullanımı sonucunda, pek çok bakteri türünün direnç geliştirmesi ve bu ilaçların sebep oldukları yan etkilerden ötürü,

bitkisel tedavilere yönelik araştırmalar oldukça önem kazanmıştır (Pannuti ve Grinbaum, 1995; Guzmán-Blanco ve ark., 2000).

Plak ya da diş çürüğünü önlemek amacıyla, gargara ve diş macunlarına antimikrobiyal ajanlar ve bitkisel ürünler katılmaya başlanmıştır (Pannuti ve ark., 2003; Pistorius ve ark., 2003).

2.8.1. Diş Hekimliğinde Fitoterapi

Fitoterapi; antimikrobiyal, antiinflamatuvar, analjezik, sedatif özelliklere sahip bitkiler aracılığıyla diş hekimliğinde de kullanım alanı bulmuştur (Groppo ve ark., 2008).

2.8.1.1. Antimikrobiyal Kullanım:

Bugün piyasada var olan diş macunları arasında yer alan bitkisel içerikli Paradontax, florüre ek olarak immün yanıt sistemini uyaran *Echinacea purpurea* (ekinezya), antihemorajik özelliğı bulunan *Salvia officinalis* (*S. officinalis*) (adaçayı), gingival inflamasyonu azaltan *Matricaria chamomilla* (*M. chamomilla*) (papatya), antiseptik özelliğı sahip olan *Commiphora myrrha* (*C. myrrha*) (mür bitkisi) ve antiseptik, analjezik ve antiinflamatuvar özelliğı sahip olan *Mentha piperita* (*M. piperita*) (nane) bitkilerini de içermektedir. Pannuti ve ark., Paradontax'ın gingivitis oluşumunu azalttığını ancak dental plak üzerinde etki göstermediklerini rapor etmişlerdir (Pannuti ve ark., 2003).

2003 yılında yapılmış bir çalışmada *S. officinalis*, mentol, *Carum carvi* (*C. Carvi*), *M. chamomilla*, *M. piperita*, *C. myrrha*, *Eugenia caryophyllus* (*E. Caryophyllus*) ve *Echinacea purpurea* (*E. Purpurea*) içeren bir bitkisel bazlı gargaranın gingival indexi büyük ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Pistorius ve ark., 2003).

Bunun yanı sıra yapılmış farklı çalışmalarda *Azadirachta indica*, *Mikania laevigata*, *Mikania glomerata*, *Camellia sinensis* gibi bitkilerin, başta *S. mutans*

olmak üzere çeşitli oral patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdikleri kanıtlanmıştır (Zhang ve Kashket, 1998; Yatsuda ve ark., 2005).

2.8.1.2. Antiinflamatuvar Kullanım:

Konu hakkında yeterli sayıda çalışma bulunmasa da yapılmış olan insan ve hayvan çalışmalarına göre bazı bitkilerin antiinflamatuvar etkileri olduğu bilinmektedir.

İnsanlar üzerinde gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada, çay yaprağı yağının topikal uygulamaları sonucunda histamine oranla daha az olmakla birlikte ödemi azalttığı, ancak inflamasyonun bir diğer bulgusu olan ateş üzerinde etki göstermediği belirtilmiştir. Aynı yağ fareler üzerinde çalışıldığında ise, farelerin damar geçirgenliklerinin ve ödemlerinin azaldığı gözlenmiştir (Koh ve ark., 2002; Esteves ve ark., 2005).

Terpenler, terpenoidler, flavonlar, flavonoidler, alifatik asit ve esterleri, aromatik asit ve esterleri, aminoasitler, alkoller, aldehytler, hidrokarbonlar, kalkonlar ve ketonlardan oluşan propolis, arıların bitki filiz ve tomurcuklarından topladığı, kovan giriş deliğini, çatlak ve kırıkları kapattığı, yapışkan ve reçinemsi özelliğe sahip bir malzemedir. Pulpa üzerine yapılan bazı çalışmalarda, propolisin kanal içi tedavi için alternatif bir materyal olarak kullanılabileceği (Silva ve ark., 2004) ve propolis ile kaplanmış pulpada pulpitis gelişme riskinin azaldığı ve tamir dentini oluşumunun stimüle edildiği belirtilmiştir (Sabir ve ark., 2005).

2.8.1.3. Analjezik ve Sedatif Kullanım:

Diş hekimliğinde, özellikle çocuk hastalarda yüksek kaygı düzeyi nedeniyle değişik sedasyon teknikleri kullanılmaktadır. İnhalasyon yoluyla alınan sedatif ajanlardan en sık kullanılanları benzodiazepin ve nitröz oksit-oksijendir (Ganzberg ve ark., 2002).

Sedatif etkili bitkilerin olduğu bilinmesine rağmen konu ile ilgili çalışma sayısı henüz yetersizdir. *Piper methysticum*, *Melissa officinalis* (*M. officinalis*) (oğul otu),

Valeriana officinalis (kedi otu), *Passiflora incarnata* (çarkıfelek çiçeği) gibi pek çok bitkisel madde sakinleştirici olarak tanımlanmaktadır (Groppo ve ark., 2008). Kedi otu bitkisinin kök kısımlarında valepotriate asit, valerenik ve izo-valerenik bulunmaktadır. Bu maddeler sakinleştirici özelliğe sahiptir (Houghton, 1996; Wheatley, 2005). Ancak bu bitkilerin olumlu özelliklerinin yanında bazı negatif etkileri de gözlenmiştir. *M. officinalis* (oğul otu) bitkisinin kuru yapraklarından elde edilen ekstrenin sakinleştirici, kaygı azaltıcı ve hipnotik etkilerinin yanı sıra tiroid fonksiyonlarında bozulmalara neden olduğu gözlenmiştir (Saraçoğlu ve Ergun, 2006; Kennedy ve ark., 2004).

2.9. Uçucu Yağlar

Aromatik bitkilerden çeşitli yöntemlerle elde edilen, kendilerine özgü görünüm, renk, tat ve kokuları olan, oda sıcaklığında, ağızları kapalı bir şekilde muhafaza edildikleri takdirde sıvı olan ancak hava ile temas ettiklerinde buharlaşabilecek yapıda bulunan aromatik sıvı yağlara “uçucu yağlar” denilmektedir (Şengezer ve Güngör, 2008).

Uçucu yağ teriminin ilk kez kullanılması, 16. yy’a dayanmaktadır. Paracelsus von Hohenheim tarafından ilaçların içerisinde bulunan etken maddelerin isimlendirilmesi ile (Quinta essentia) bu terim literatüre kazandırılmıştır (Dirmenci, 2003; Çelen, 2006). Tarih öncesinden bu yana, bitkilerle tedavi yöntemleri oldukça ilgi görmektedir. Bu konu ile ilgilenen bilim insanları, bitkilere kokularını veren organik bileşiklerin tamamının uçucu olduklarını keşfetmişlerdir. Bu sebeple bu yağlara “uçucu yağlar” denmektedir (Acar, 1987).

Uçucu yağların antibakteriyel özelliklerinin var olduğuna dair bilgi elde edilen ilk çalışmalar, 1881 yılında Dela Croix tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, daha sonraki yüzyıllarda uçucu yağların tıp alanında kullanıldığı diğer çalışmalara öncülük etmiştir (Çelen, 2006).

2.9.1. Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Uçucu yağlar, terpenik hidrokarbonlar ve bu bileşiklerin oksijen içeren türevlerinden meydana gelmektedir. Ayrıca, alkoller, organik asitler, fenoller ve ketonları da ihtiva edebilmektedirler (Baytop, 1983; Evans, 1989; Tanker ve Tanker, 1976). Oksijenli türevler, terpenlerin oksitlenmesiyle meydana gelirler ve uçucu yağın kendine has terapötik özelliğini, kokusunu ve tadını verirler. Farmakognotik olarak anlamlı olan kısımlar, oksitlenmiş bileşiklerdir. Genel olarak özkütlesi sudan hafiftir, ancak az da olsa bir bölümünün özkütlesinin sudan ağır olduğu söylenebilmektedir (Tanker ve Tanker, 1990).

Sabit yağlardan farklı olarak, kâğıda damlatıldıklarında iz bırakmazlar. Uzun süre saklanırlarsa ya da ışığa maruz kalırlarsa yapıları reçineleşebilir. Suda çözünürlükleri oldukça az olmasına rağmen, lipofilik çözücüler yardımı ile çok iyi çözünebilirler. Uçucu yağların önemli özelliklerden birisi de optik aktiviteleridir. Aynı bitkiden farklı zamanlarda elde edilen yağlarda bile spesifik kırılma dereceleri farklı olabilmektedir. Ayrıca, uçucu yağlar, 150-300°C gibi oldukça yüksek kaynama noktalarına sahiptirler (Ceylan, 1997).

2.9.2. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Uçucu yağların elde edilmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler; kaynama noktaları arasındaki farklılıklardan yararlanılarak bileşenlerin ayrılması esasına dayanan “distilasyon (damıtma)”, bir çözücü yardımıyla yağların çözülerek alınması esasına dayanan “ekstraksiyon” ve yağ elde edilecek bitkilerin bez torbaya konulup hidrolik presleme yapılması esasına dayanan “presleme” metodları olarak sınıflandırılabilir. Damıtma metodu; su buharı distilasyonu, hidrodistilasyon ve vakum altında distilasyon olarak 3 alt başlığa ayrılabilir. Ekstraksiyon metodu; süperkritik sıvı ekstraksiyonu, çözücü ekstraksiyonu, sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu, mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon, çok yönlü ekstraksiyon ve katı faz mikro ekstraksiyon olmak üzere 6 bölümde incelenebilir (Kılıç, 2008; Sankarikutty ve Narayanan, 1993).

Yağ içerikli bitki bölümlerinden uçucu yağın elde edilmesi için genellikle distilasyon yöntemi kullanılır (Gammal, 1991). Distilasyon yöntemlerinden en yaygın olarak kullanılanı ise hidrodistilasyon yöntemidir. Bu yöntem diğerlerinden daha eski, ancak daha kolaydır (Meyer-Warnod, 1984). Temelini, izotropik distilasyon oluşturmaktadır. Distilasyon süresi, yağ elde edilecek bitkiye göre değişiklik göstermektedir. Az miktarda yağ elde edilebilmesine karşın, istenmeyen bileşikler kolaylıkla uçucu yağdan ayrılabilir (Rassem ve Nour, 2016). Bu nedenle avantajlı bir yöntem olduğu söylenebilir. Yine de elde edilecek yağların kullanım amaçlarına bağlı olarak, seçilen yöntem de değişmektedir (Bakkali ve ark., 2008).

2.9.3. Uçucu Yağların Kompozisyonlarının Belirlenme Yöntemleri

Uçucu yağlar, farklı kimyasallar içerirler. İçerdiği bu bileşenler, elde edildikleri bitkinin cinsine, bitkinin üretim şekline, üretildiği bölgenin iklimine, bölgenin coğrafi yapısına ve bitkinin hangi kısmının kullanıldığına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Baydar, 2005; Özgüven ve Kırıcı, 1999; Couladis ve ark., 2002; Masoti ve ark., 2003; Angioni ve ark., 2006). İçerdikleri bu kimyasal bileşiklerin etki mekanizmaları nedeniyle farklı antimikrobiyal özelliklere sahip olabilirler (Calsamiglia ve ark., 2007). Gaz kromatografi-kütle spektrometri (GC/MS) analizi, uçucu yağların bileşenlerinin tanımlanması için gerekli bir yöntemdir. Gaz kromatografisi, yağın içerisindeki bileşenleri ayrıştırarak tanımlarken, spektrometre ise yüksek duyarlılık ve hızlı tarama özellikleri sayesinde eser miktarda olsa dahi bulunan bileşenlerin tespitini sağlar.

Spektrometrik analizler sinyal olarak yansımaktadır. Sinyallerin ekranda yapmış oldukları pikler, cihaza daha önce yüklenmiş bilgi bankası içeren programlarla karşılaştırılarak yağların tanımlanması tamamlanır (Esen, 2005; Çelen, 2006).

2.9.4. Uçucu Yağların Tıbbi Kullanımı

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından belirlenen bazı uçucu yağlar, genel olarak güvenilir/ zararsız (Generally recognized as safe/ GRAS) gıda katkıları veya tat-koku katkıları olarak tanımlanmıştır (Burt, 2004). Uçucu yağların; iritan (uyarıcı), antitussif (öksürüğü kesen), rubefiyen (deriyi kızartan), nervinatik (sinir yatıştırıcı), karminatif (gaz giderici), emmenagog (adet sökücü), diüretik (idrar sökücü), antihelmintik (solucan düşürücü), koleretik (safra sökücü), antiromatizmal, stomasik (midevi), antiseptik, antienflamatuar, antifungal, antibiyotik ve antioksidan etkileri bulunmaktadır (Faleiro ve ark., 2003; Bounatirou ve ark., 2007). Uçucu yağlar, *S. mutans*'ı (Al-Mariri ve Safi, 2014) da içeren çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Simões, 2011; Botelho ve ark., 2007; Furletti ve ark., 2011). Son yıllarda gerçekleştirilen bazı çalışmalarda, uçucu yağlarda bulunan bileşiklerin antibiyotik direnci geliştirmiş mikroorganizma türlerine karşı potansiyel etkileri üzerinde durulmuştur (Essawi ve Srouf, 2000). Ayrıca bazı araştırmacılar, bu ürünlerin oral patojenler üzerindeki etkilerini incelerken, diğer araştırmacılar ise dental plak formasyonunun temelinde yer alan mikrobiyal adezyonu ve biyofilm oluşumunu inhibe etme yeteneklerine odaklanmıştır (Balunas ve Kinghorn, 2005; Barnes ve Arnold, 2018). Elde edilen bilginin geniş kapsamlı olması ve mekanizmanın tam anlaşılmasına rağmen, yağların göstermiş oldukları antibakteriyel etkinin, kimyasal yapılarından ve lipofilik özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Farag ve ark., 1989).

2.10. Çalışmada Kullanılan Bitkiler

2.10.1. Kekik (*Origanum*) ve *Origanum dubium* Boiss

Kekik; ana bileşen olarak *Carvacrol* (karvakrol) içeren türlerin genel adıdır (Başer, 2002). Bir karvakrol izomeri olan timol da az miktarda bulunmaktadır (Başer, 2002). *Origanum* türleri, dünya çapında kekik adı altında anılan tüm türlerin

en geniş kısmını oluşturmaktadır (Olivier, 1997). *Origanum* kelimesinin kökeni; Yunancada bulunan Origanon kelimesinin latinceleştirilmiş şeklinde dayanmaktadır. Kelime anlamı olarak “Oros” (dağ) ve “ganos” (süs), yani *Origanum* “dağların süsü” demektir. Bazı araştırmacılar, *Origanum* un göz hastalıkları tedavisinde de kullanılması sebebi ile “horan” (görmek) ve “gano” (parlak) kelimelerine dayandığını da düşünmektedirler (Sadıkoğlu, 2005).

Kekik yağının ana bileşenleri; karvakrol, timol ve monoterpenoik fenollerdir. Bu moleküller γ -terpinen (Davis ve ark., 1988) ve p-cymen’den sentezlenirler (Güner ve ark., 2000). Bu nedenle, kekik yağında daima karvakrol ve timol bulunmaktadır. Bu iki madde, literatürde sıklıkla fenollerin tanımlanması için kullanılmaktadır. Ancak fenolden biyosentetik olarak türetilmeleri mümkün olmadığı için bu tanım doğru değildir. Fenol yalnızca fosil yakıtlarda bulunan ölü bir moleküldür (Azcan ve ark., 2000). Ancak karvakrol ve timol, fenol halkası üzerinde birbirlerine para pozisyonunda bulunan metil ve izopropil fonksiyonları içeren monoterpenik yapıya sahiptirler. Bu uçucu bileşikler, aromatik bitkilerde ve uçucu yağlarda bulunurlar. Formüllerindeki tek fark, hidroksil grubunun pozisyonudur. Ancak, karvakrol her zaman sıvı halde iken, timol ve fenol kristalik yapıya sahiptir. Ortalama letal dozu gösteren letal doz (LD₅₀) değerleri, karvakrol ve timolün fenolden daha güvenilir olduğunu belirtmektedir (Budavari ve ark., 1997).

Origanum türü, 10 alt bölüme bağlı 43 türden meydana gelmektedir (Başer, 2002). Bu türlerin %75’i Akdenizde, özellikle de Doğu Akdeniz’de dağılım göstermektedir (Temel ve Tokur, 2010; Chishti ve ark., 2013). Bu türlerden bir tanesi de bu tez çalışmasında kullanılan *Origanum dubium* Boiss’tir.

Origanum dubium Boiss (*O. dubium*), Akdeniz’de endemik olarak yetişen 30-100 cm yüksekliğinde bir çalıdır. Kıbrıs’ta “rigani” olarak bilinmektedir ve kendine özgü aroması nedeniyle lezzet vermesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Temel olarak Baf ormanlarında yetişmekle birlikte, Türkiye’nin güneyinde ve Yunanistan’da da yetişmektedir. Kıbrıs’ta 600 metre yükseklikten itibaren yabancı olarak yetişmeye başlamaktadır, kuru, kayalık alanlarda ve magmatik kayaların üzerinde 1200 metreye kadar da yetişebilmektedir. Bu bitki, çok uzun yıllardan beri önemli bir yağ kaynağı olarak kullanılmaktadır.

Origanum türleri ile ilgili yapılmış fitokimyasal ve biyolojik çalışmalar, bitkinin zengin aktif maddeler içermesi nedeniyle, antibakteriyel, antifungal, pestisid ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Burt, 2004; Aslım ve Yücel, 2008; Öke ve Aslım, 2010; Koukoulitsa ve ark., 2006^a; Koukoulitsa ve ark., 2006^b; Koukoulitsa ve ark., 2007). Geleneksel Kıbrıs Tıbbı'nda, *O. dubium*'dan elde edilen uçucu yağ, harici olarak antiromatik amaçlı kullanılmaktadır. Bitkinin yaprakları, çiçekleri ve çiçek sapları ise gaz giderici özelliği ve sindirime yardımcı olması amacıyla tüketilmektedir (Arnold ve ark., 1993). Kıbrıs'tan toplanmış olan *O. dubium*'un önemli bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, daha önce yapılmış çalışmalarla kanıtlanmıştır (Arnold ve ark., 1993; Karioti ve ark., 2006).

2.10.2. Tarçın (*Cinnamomum*) ve *Cinnamomum cassia*

Cinnamomum, *Lauraceae* familyasına ait bir bitkidir. Bilimsel cins adı *Cinnamomum* olan bu bitki, yıl boyunca yeşil kalabilen, 300'den fazla ağaç ve çalıyı içermektedir (Ranasinghe ve ark., 2012). "*Cortex Cinnamomi*" terimi, tıbbi olarak kullanılan tarçın türlerinin genel adıdır. Bu türlerden *Cinnamomum verum* J.S. Presl. (*C. verum*) ve *Cinnamomum cassia* Blume (*C. cassia*) oldukça önemlidir. *C. zeylanicum* (*C. zeylanicum*) Nees ya da *Laurus cinnamomum* L olarak da bilinen *C. verum*, Hindistan ve Sri Lanka'da yetişir. *C. aromaticum* Nees olarak bilinen *C. cassia* ise Çin, Endonezya, Laos ve Vietnam'da yetişmektedir. (Ooi ve ark., 2006).

Boyu 12 metreye kadar çıkabilen bu ağaçlar, pürüklü ve kokulu, kırmızımsı kalın kabuklara sahiptir. Yaprakları oval ve uzun, altı kahverengi, üstü yeşildir. Mavimsi bir meyvesi vardır, çiçekleri sarı ya da beyaz olabilmektedir (Swerdlow, 2007).

Tarçın yağı aromatik bir tada sahiptir. Bu tadın ve yağın kokusunun kaynağı *cinnamaldehyde* (sinemik aldehit)tir. Yağın içerisinde bulunan diğer bileşenler ise etil sinnamat, sinnamik aldehit, beta karyofilen, mavi kavikol ve öjenol olarak sayılabilir (Atlas, 2009). *C. verum*'un temel uçucu bileşeni %65 – %80 oranında bulunan sinemik aldehittir. Bu bileşiği, öjenol ve %5 – %10 trans-sinemik asit izlemektedir (Wichl, 2001). *C. cassia* %1– %2 oranında uçucu yağ içermektedir. Bu

yağın %60– %80’lik kısmının temel olarak sinemik asit olduğu belirtilmektedir (Ooi ve ark., 2006). Tür içerisinde az miktarda öjenole rastlanabilir ya da hiç bulunmayabilir. Bunun yanı sıra *C. verum*’da bulunmayan kumarin, %0.45 gibi çok az bir miktarda *C. cassia* içerisinde bulunmaktadır (Archer, 1988).

C. cassia kabukları, ağaçlardan sürgün veren filizlerin kurutulmasıyla elde edilir. Bu kabuklar; kısa, kısmen ya da tamamen mantar tabakası ile örtülü olabilen, dışı tarçın renginde, içi sarımsı ya da açık kahverengi olabilen, 1-3 mm kalınlıkta oluklu bir yapıya sahiplerdir (Tanker ve Tanker, 1990). Yağı koyu renklidir, hava ile uzun süre temas etmesi durumunda kırmızıya dönebilir. Özkütlesinin 1.045 ile 1.063 aralığında olması sebebiyle sudan ağır olan yağlar sınıfında yer almaktadır (Tanker ve Tanker, 1990).

Tarçın, tıbbi olarak tarih boyunca çok farklı amaçlarla kullanılmıştır. Çin Tıbbi’nda doktorlar tarçın kabuğunun, karın ağrısı gibi ağrıları hafifletmek, özellikle alt ekstremitelerde kan dolaşımını arttırmak amacıyla kaynatılmasını tavsiye etmişlerdir. Bazı durumlarda, mikrobiyal kaynaklı diyare ve sindirim sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde de kullanımının önerildiği belirtilmiştir. Ancak ateşli iç kanama ve gebelik süresince kullanımının kontrendike olduğu da belirtilmektedir (Ooi ve ark., 2006). Yapılan bazı çalışmalarda tarçının içerdiği sinemik aldehit nedeniyle ileum ve trake düz kasları üzerindeki antispazmodik ve gaz giderici etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır (Reiter ve Brandt, 1985, Harries ve ark., 1978;). Çeşitli araştırmacılar, tarçının antimikrobiyal etkinliği üzerine de yoğunlaşmışlar ve bu konularda çalışmalar yapmışlardır (Singh ve ark., 1995; Hili ve ark., 1997; Smith-Palmer ve ark., 1998).

2.11. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyini Saptama Yöntemleri ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, antimikrobiyal ajanların belirli bir bakteri türü üzerindeki etkinliklerinin *in vitro* koşullarda değerlendirildiği testlerdir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından yapılan bu duyarlılık testleri, seçilen ampirik antimikrobiyal ajana karşı etkinliği belirlemek ya da kişisel izolatlarda direnç gelişim

durumunu tespit etmek açısından faydalıdır. Ampirik tedavide kullanılan bazı ajanlara karşı bakteriler henüz direnç geliştirmedikleri için tedaviye yanıt alınabilir, ancak direnç gelişme riski bulunan durumlarda bireysel izolat duyarlılık testlerinin uygulanması oldukça önemlidir (Reller ve ark., 2009).

2.11.1. Difüzyon Testleri

2.11.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları duyarlılığın tespiti için, çok çeşitli laboratuvar yöntemleri uygulanabilir. Kısmen güç üreyebilen bakteriler için klinik laboratuvarlarda en sık uygulanan yöntem, kolay uygulanabilmesi sebebiyle agar disk difüzyon yöntemidir. Antimikrobiyal duyarlılık testleri arasındaki en eski yaklaşım türlerinden biri olan bu yöntem, özel ekipman gerektirmeyerek kolaylıkla uygulanabilmesinin yanı sıra, hem güç üreyen hem de sıklıkla karşılaşılan bakteri türleri için uygun olması, ayrıca pek çok bakteri türünün aynı anda test edilebilmesine imkan vermesi sebebiyle klinik laboratuvar uygulamalarında rutin olarak kullanılmaktadır (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, 2014 [https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Sarbonun_Mikrobiyolojik_Tanisi\(UMS\).pdf](https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Sarbonun_Mikrobiyolojik_Tanisi(UMS).pdf) Erişim Tarihi: 14.02.2019). Testin doğru sonuç verebilmesi için belirli standartlara uygun olarak yapılması gerekmektedir. Türkiye’de ve dünya çapında standardizasyonu sağlamaya yönelik pek çok ulusal ve uluslararası kuruluş mevcuttur. Bu kuruluşlar arasında en yaygın olarak tercih edilen kuruluşlar Amerika Birleşik Devletleri “Clinical Laboratory Standarts Institute” (CLSI) ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testi ile ilgili Avrupa Komitesi (EUCAST/ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)’dır (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, 2014 [https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Sarbonun_Mikrobiyolojik_Tanisi\(UMS\).pdf](https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Sarbonun_Mikrobiyolojik_Tanisi(UMS).pdf) Erişim Tarihi: 14.02.2019).

Bu yöntemde, agar plaklar belirtilen standartlara göre inoküle edilir. İstenilen konsantrasyonda test materyali emdirilmiş 6 mm çapındaki diskler, inokule edilmiş olan bu plakların üzerine yerleştirilir. Plaklar, uygun şartlarda inkübe edilir. Bu süreç

içerisinde, antimikrobiyal ajanın agar plak üzerine yayılması ve test edilen mikroorganizmanın büyümesini inhibe etmesi beklenir (Balouiri ve ark., 2015).

2.11.1.2. Antimikrobiyal Gradyent Yöntemi (E-test)

Bu yöntem, minimum inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi için difüzyon ve dilüsyon yöntemlerinin beraber kullanılması esasına dayanır. Yöntemin prensibi, agar plak üzerinde, test edilen materyalin konsantrasyon eğiminin oluşturulmasına dayanmaktadır. Konsantrasyonu bir uçtan diğerine doğru gitgide artacak şekilde emdirilmiş materyal içeren bir şerit, daha önce inoküle edilmiş agar plak üzerine yerleştirilir (Balouiri ve ark., 2015).

2.11.1.3. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem, özellikle bitkilerin veya mikrobiyal ekstraktların antibakteriyel özelliklerinin tespiti için kullanılmaktadır (Magaldi ve ark., 2004; Valgas ve ark., 2007). Disk difüzyon metodunda kullanılan prosedürle aynı şekilde uygulanan bu yöntemde, agar yüzeyi test edilecek mikroorganizma ile inokule edilir. Daha sonrasında 6-8 mm çapında steril bir delici aracılığı ile agar plak üzerinde delikler açılarak, bu deliklere (kuyulara) 20-100 ml sıvı ilave edilir. Hazırlanan bu plaklar, uygun koşullarda gereken süre boyunca inkübe edilir. Bu süreçte antimikrobiyal ajan plak üzerine yayılarak, test edilen mikroorganizmanın büyümesini inhibe eder (Balouiri ve ark., 2015).

2.11.2. Dilüsyon Testleri

Dilüsyon testleri, antimikrobiyal ajanların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)'nu tespit etmek amacı ile kullanılan testlerdir. MİK; “belirli bir zaman içerisinde, bir mikroorganizmanın gözle görülebilecek şekilde üremesini inhibe edebilecek en düşük antibiyotik konsantrasyonu” olarak tanımlanabilir. Bu değer, “mg/L” cinsinden ifade edilir.

Dilüsyon testlerinde, antibiyotiklerin seri sulandırımının bulunduğu bir agar plak üzerinde (agar dilüsyon) ya da buyyon içerisinde (sıvı dilüsyon) mikroorganizmaların, gözle görülebilecek bir üreme meydana getirip getirmediği test edilir.

2.11.2.1.Agar Dilüsyon Yöntemi

Duyarlılığın tespit edilmesinde oldukça yaygın olarak kullanılan bu yöntemde farklı konsantrasyondaki antibiyotik, agar besiyerlerinde karıştırılır. Böylece birbirinden farklı derişime sahip plaklar elde edilir. Hazırlanan inokulümlar her plağa olabildiğince hızlı ve aynı anda olacak şekilde aktarılır (Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar, 2016).

2.11.2.2.Sıvı Dilüsyon Yöntemi

Sıvı dilüsyon yöntemi, eşit hacimlerde antibiyotik ve besi yeri (Buyyon) ihtiva eden plaklara, artan geometrik konsantrasyonlarda mikroorganizma inokulasyonunun yapıldığı bir tekniktir.

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi, sıvı dilüsyon testinin bir varyasyonu olup sıvı dilüsyon testinin mikrodilüsyon plaklarında yapıldığı versiyonudur Besi yerlerinin küçük hacimlere sahip konik tabanlı ya da yuvarlak kuyulara sahip mikrodilüsyon plaklarına dağıtılması nedeniyle bu yönteme “mikrodilüsyon” adı verilmektedir. Standart olarak her kuyucuk 0.1 mL sıvı içermelidir (Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada kullanılan uçucu yağlar, Yakın Doğu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda elde edilmiştir. Antibakteriyel etkinliğin tespit edilmesi amacı ile yapılan mikrobiyoloji çalışmaları, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın kullanmakta olduğu Turgut Özal Tıp Merkezi Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Kullanılacak Diş Macunlarının Seçilmesi

Çalışmada bir adet florürlü diş macunu (Colgate Total, Colgate-Palmolive, New York, ABD) pozitif kontrol grubu olarak, üç adet bitkisel içerikli florürsüz diş macunu (Jack N' Jill Flavour Free Natural Diş Macunu, Melbourne, Avustralya; Splat Biocalcium, Splat, Rusya ve Splat Organic, Splat, Rusya) ise deney grubu olarak kullanıldı. Distile su ise çalışmanın negatif kontrol grubunu oluşturdu.



Resim 1 Jack N' Jill Bitkisel İçerikli Florürsüz Diş Macunu



Resim 2 Splat Organic Bitkisel İçerikli Florürsüz Diş Macunu



Resim 3 Splat Biocalcium Florürsüz Diş Macunu



Resim 4 Colgate Total Florürlü Diş Macunu

Çalışmada kullanılan diş macunlarının içeriği Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1 Çalışmada Kullanılan Diş Macunları ve İçerikleri

Diş Macunu	İçindekiler
Colgate Total	Sodyum Florid (0,24% (0,14 % w/v Florid İyon), Triklosan (0,30 %), Su Hidrate Silika, Gliserin, Sorbitol, PVM/MA Kopolimer, Sodyum Lauril Sülfat
Splat Organic	Selüloz Gam, Tat Verici, Sodyum Hidroksit, Karragenan, Propilen Glikol, Sodyum Sakarin, Titanyum Dioksit, Hidrojene Nişasta Hidrolizatu, Su, Hidrate Silika, PEG-8, Sodyum Lauril Sülfat, Aroma, Gliserin, Kalsiyum Laktat, Aloe barbadensis Yaprığı ekstraktı, Ksantan gam, Melaleuca alternifolia Yaprığı yağı, Sodyum Metilparaben, o-Cymen-5-ol, Papain, Sitrik Asit, Sodyum Benzoat, CI 19140, CI 42090, Limonen.
Splat Biocalcium	Kalsiyum Laktat, Sodyum Bikarbonat, Hidroksiapatit, PVP, Balık yağı, Papain.
Jack N' Jill	Ksilitol, Saf su, Gliserin, Silika, Ksantan gam, Organik Calendula officinalis ekstraktı, Potasyum sorbat, Sitrik asit

3.2. Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, Yeşilırmak Bölgesi'nden toplanan *Origanum dubium* yaprakları, serin ve direkt güneş ışığı almayan bir bölgede kurutuldu. Saplarından ayrılan ve kuru ağırlığı 350 gram olan yapraklar, Clevenger aparatı (İldan, Ankara, Türkiye) kullanılarak 3 saat boyunca su distilasyonu metoduna tabi tutuldu (Resim 5 ve Resim 6).

Yerel marketten temin edilen 700 gram ağırlığındaki *Cinnamomum cassia* kabuklarından yağ elde etmek amacı ile (Senfoni, Lefkoşa, KKTC), *Origanum dubium* bitkisi için uygulanan yöntem kullanıldı (Resim 5 ve Resim 6).



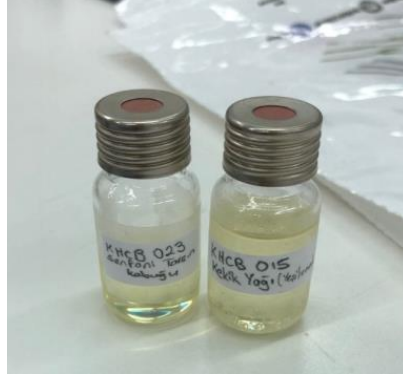
Resim 5 Clevenger Aparatı



Resim 6 Uçucu Yağın Suyu Uzaklaştırılmadan Önceki Hali

Anhidröz sodyum sülfat (Na_2SO_4) kullanılarak suyu uzaklaştırılan ve $0.45\ \mu\text{m}$ steril filtreden (Miller- HV, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) geçirilen uçucu

yağlar kullanılıncaya kadar +4 °C de hava almayan şişelerde, ışık almayacak şekilde saklandı (Resim 7).



Resim 7 Suyu uzaklaştırılarak saklanmaya hazır hale gelen yağlar

3.3. Uçucu Yağların İçeriklerinin Belirlenmesi (GC/MS Analizleri)

GC/MS (Gaz kromatografi/ kütle spektrometre) analizleri Agilent 5975 GC-MSD sistemi ile gerçekleştirildi. 60 m × 0.25 mm ebatlarında ve 0.25 mm film inceliğine sahip bir Innowax FSC sütunu kullanılarak gerçekleştirilen analizde taşıyıcı gaz olarak helyum (0.8 mL/dk) kullanıldı. GC fırını 10 dakika boyunca 60°C’de kalacak şekilde ısıtıldı ve 4°C/dk hızında 220°C’ye kadar çıkacak şekilde programlandı. Bu sıcaklıkta 10 dakika daha sabit tutulan fırın, daha sonra 1°C/dk hızında 240°C’ye çıkacak şekilde ayarlandı. Bölme oranları 40:1’e ayarlandı, enjektör sıcaklığı 250°C’ye sabitlendi. Kütle spektrumları 70 eV olarak kaydedildi. Kütle aralığı 35-450 m/z arasında belirlendi

3.4. GC Analizleri

Gaz kromatografi (GC) Analizleri Agilent 6890 N GC sistemi kullanılarak yapılmıştır. Alev İyonizasyon Dedektörü (FID/ Flame Ionization Detector) sıcaklığı 300 °C’ye ayarlandı. GC-MS ile aynı elüsyon sırasını elde etmek için, aynı çalışma koşullarını uygulayan sütunun bir kopyası üzerinde eşzamanlı otomatik enjeksiyon

yapıldı. Ayrılmış bileşiklerin görelî yüzde miktarları FID kromatogramlarından hesaplandı.

3.5. Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkilerinin Tespit Edilmesi

Uçucu yağlar, saf halde iken, kontaminasyon şüphesini elimine etmek amacı ile agar difüzyon yöntemi ile test edildi. Bunun için, *S. mutans* ATCC 35668 (ATCC, Manassas, ABD) suşu kullanıldı. Bakteriler, %5 koyun kanı içeren Columbia agar (bioMérieux SA, Marcy-l'Étolle, Fransa) üzerine ekildi ve 37°C'de 24 saat boyunca anaerobik koşullara sahip bir etüvde (EC 160 CO₂ Incubator, Nuve, Ankara, Turkey) kültür elde etmek amacıyla bekletildi. Elde edilen kültürlerden steril eküvyon çubuğu aracılığı ile alınan birkaç koloni, inokulum salin solüsyonuna (MicroScan Inokulum Salin, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, ABD) aktararak (Resim 8), inokulum solüsyonunun yoğunluğu bulanıklık ölçüm aparatı (MicroScan Turbidity Meter, Siemens, Deerfield, IL, ABD) ile ölçülerek, cihazda 0.15'e denk gelen 0.5 McFarland'a ayarlandı (Resim 9). Colombia agarda bulunan kültürden daha sonra kullanılmak üzere pasaj alınarak etüvde kullanılıncaya kadar bekletildi.



Resim 8 Inokulum salin solüsyonu

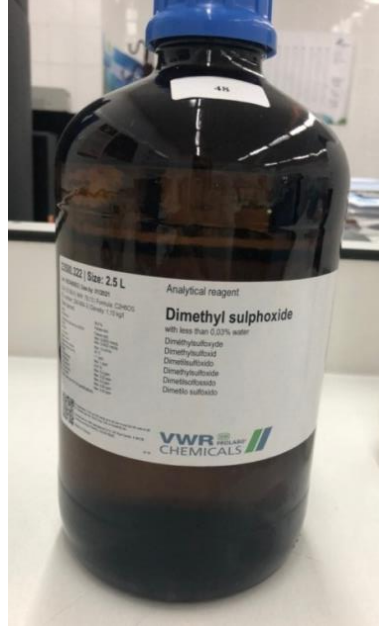


Resim 9 McFarland Ayarlamasının Yapılması

Origanum dubium ve *Cinnamomum cassia* uçucu yağları, 5% defibrine at kanı ve 20 mg/L β -nikotinamidadenodinükleotid (β -NAD) içeren (bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, Fransa) agar plaklar üzerine steril bir öze yardımı ile yayıldı. İnokulum solüsyonundan steril eküvyon çubuğu aracılığı ile alınan 0.1 ml'lik bakteri çözeltisi, uçucu yağların yayılmış olduğu agarlar üzerine, steril eküvyon çubukları ile yayılarak 37°C'de 24 saat boyunca anaerobik koşullara sahip bir etüvde bekletildi. 24 saat sonunda agar plaklar kontaminasyon açısından değerlendirildi.

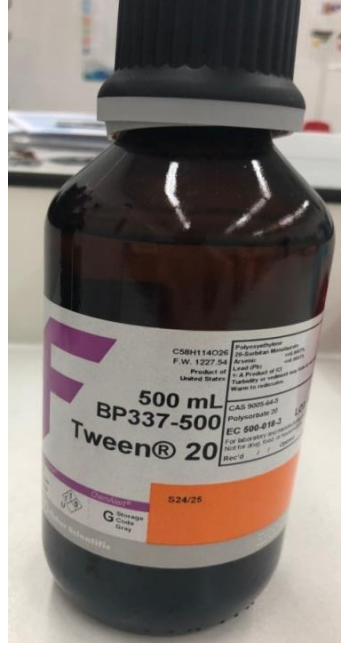
Homojen bir şekilde karışmalarını sağlamak amacı ile uçucu yağlar, toplam karışıma %10 dimetilsulfoksit (DMSO) (VWR Chemical, Paris, Fransa) (Resim 10), %25 Tween (Tween 20, Fischer Scientific, Amerika) (Resim 11) ve %60 etanol (Ethanol absolute for analysis, Emsure, Darmstadt, Almanya) (Resim 12) ilave edilerek seyreltildi.

DMSO ile seyreltme yapılan grup için steril mikropipetler aracılığı ile çekilen (Eppendorf® Research® Plus Pipette, Eppendorf, Hamburg, Almanya) 40 μ l uçucu yağ içerisine 4 μ l DMSO ilavesi yapılmış, karışım içerisine 56 μ l distile su eklenerek toplam karışım hacmi 100 μ l'ye tamamlandı.



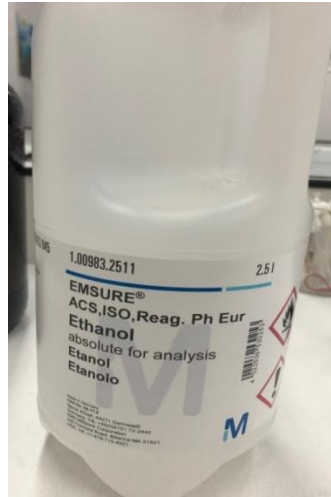
Resim 10 Dimetilsülfoksit (DMSO)

Tween ile seyreltme yapılan grup için 40 μ l uçucu yağ içerisine 20 μ l Tween ilave edilmiş, 40 μ l distile su karıştırılarak toplam karışım hacmi 100 μ l'ye tamamlandı.



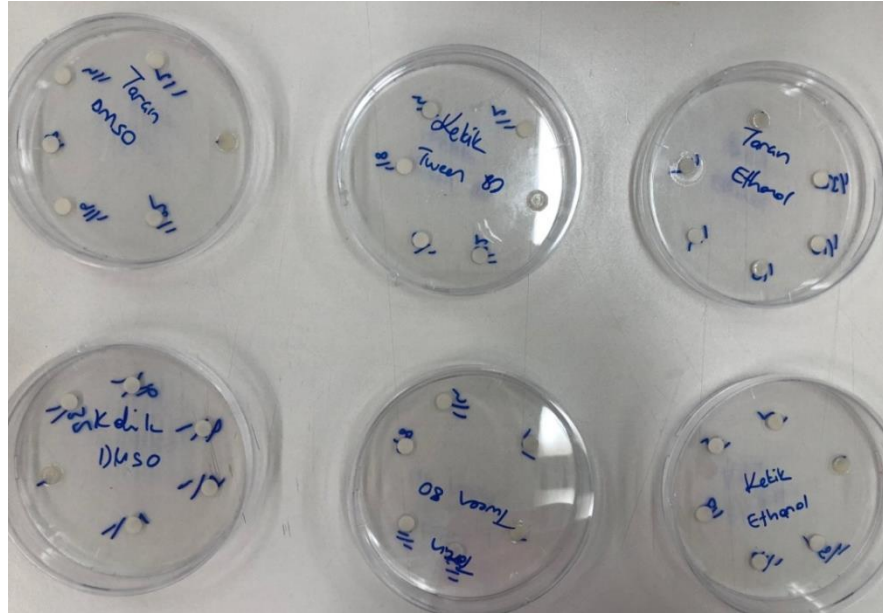
Resim 11 Tween 20

Etanol ile seyreltme yapılan grup için 40 µl uçucu yağ içerisine 60 µl etanol ilave edilerek toplam karışım 100 µl'ye tamamlandı.



Resim 12 Etanol

Hazırlanan karışımların antibakteriyel etkinliklerinin tespiti için, disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Her bir çözücü ve her bir yağ karışımı için ayrı ayrı uygulanan bu işlemlere göre, karışımlar, 1/1(saf yağ), 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarını sağlayacak şekilde distile su yardımı ile dilüe edildi. Bunun için her bir karışımdan 50 µl alınarak 50 µl distile su ilave edilerek karıştırıldı. Elde edilen dilüsyonlardan, her bir grup için 20 µl olacak şekilde, tek kullanımlık mikropipetler yardımıyla çekilen karışımlar, steril boş antibiyogram disklerine (Antimicrobial Susceptibility Test Disc, Bioanalyse, Düsseldorf, Almanya) emdirilerek kurumaya bırakıldı (Resim 13).



Resim 13 Dilüsyon emdirilerek kurumaya bırakılmış antibiyotik diskler

Daha önce belirtildiği gibi pasaj alınmış olan *S. mutans* ATCC 35668 (ATCC, Manassas, ABD) suşu kullanılarak, yağ kontaminasyonu testinde de anlatıldığı gibi yeni bir bakteri süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanmış olan bu bakteri süspansiyonları, steril eküvyon çubuk yardımı ile %5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β-NAD içeren (bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa) agar plaklar üzerine yayıldı. Tamamen kurumuş olan dilüsyon emdirilmiş diskler, birbirlerine temas etmeyecek şekilde, aralarında gösterebilecekleri etki sonucu gözlenebilecek zon çaplarının ölçülmesine imkân verecek güvenli bir mesafe bırakılarak yerleştirildi. Her bir grup

için 3 kere deney tekrarlandı. Agar plaklar, 37°C’de 24 saat boyunca anaerobik koşullara sahip bir etüvde bekletildi.

3.6. Uçucu Yağların Diş Macunlarına İlave Edilmesi

Çalışmada üç adet bitkisel içerikli diş macunu (Splat Organic, Splat, Moskova, Rusya; Splat Biocalcium, Moskova Rusya ve Jack N’ Jill, Melbourne, Avustralya) test materyali olarak kullanıldı. Bir adet florürlü diş macunu (Colgate Total, Colgate-Palmolive, ABD) pozitif kontrol grubu olarak kullanılırken, distile su negatif kontrol grubu olarak kullanıldı.

3.6.1. Dimetilsülfoksit İle Seyreltme Yapılan Grup

Her bir diş macunundan 45 miligram alındı. Diş macunlarına homojen bir şekilde karışmalarını sağlamak amacı ile uçucu yağlar, %10 dimetilsülfoksit (DMSO) (VWR Chemical, Paris, Fransa) ile seyreltildi. Seyreltilmiş olan yağlardan 45µl alınarak diş macunlarına ilave edildi. Diş macunu-yağ karışımlarına 100µl distile su eklendi. Elde edilen bu karışım, bir vortex mikseri (Combi-Spin, bioSan, Riga, Litvanya) yardımı ile 3 dakika boyunca merkezi çevresinde döndürüldü (Resim 14).



Resim 14 Vortex mikseri

Çözünmenin tamamlanması için karışım, 5 dakika boyunca sonifikatör cihazına (Gen-probe, Virginia, ABD) tabi tutuldu (Resim 15).



Resim 15 Sonifikatör

3.6.2. Tween İle Seyreltme Yapılan Grup

Her bir diş macunundan 45 miligram alındı. Diş macunlarına homojen bir şekilde karışmalarını sağlamak amacı ile uçucu yağlar, %20 Tween (Tween 20, Fischer Scientific, Amerika) ile seyreltildi. Seyreltilmiş olan yağlardan 45µl alınarak diş macunlarına ilave edildi. Diş macunu-yağ karışımlarına 100µl distile su eklendi. Elde edilen bu karışım, bir vortex mikseri (Combi-Spin, bioSan, Riga, Litvanya) yardımı ile 3 dakika boyunca merkezi çevresinde döndürüldü.

3.6.3. Ethanol İle Seyreltme Yapılan Grup

Her bir diş macunundan 45 miligram alındı. Diş macunlarına homojen bir şekilde karışmalarını sağlamak amacı ile uçucu yağlar, %60 etanol (Ethanol absolute for analysis, Emsure, Darmstadt, Almanya) ile seyreltildi. Seyreltilmiş olan yağlardan 45µl alınarak diş macunlarına ilave edildi. Diş macunu-yağ karışımlarına 100µl distile su eklendi. Elde edilen bu karışım, bir vortex mikseri (Combi-Spin, bioSan, Riga, Litvanya) yardımı ile 3 dakika boyunca merkezi çevresinde döndürüldü.

3.7. Çözücü ile Seyreltme Yapılmış Uçucu Yağ İlave Edilmiş Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin Tespit Edilmesi

Çalışmada üç adet bitkisel içerikli diş macunu (Splat Organic, Splat, Moskova, Rusya; Splat Biocalcium, Moskova Rusya ve Jack N' Jill, Melbourne, Avustralya) test materyali olarak kullanıldı. Bir adet florürlü diş macunu (Colgate Total, Colgate-Palmolive, ABD) pozitif kontrol grubu olarak kullanılırken, distile su negatif kontrol grubu olarak kullanıldı. Her bir diş macunundan 50 mg alınarak hassas terazi yardımıyla tartıldı. Macunlara 50 µL distile su ilave edilerek karıştırıldı. Elde edilen bu karışımlar, bir vortex mikseri (Combi-Spin, bioSan, Riga, Litvanya) yardımı ile 3 dakika boyunca merkezi çevresinde döndürüldü. Çözünmenin tamamlanması için karışımlar, 5 dakika boyunca sonifikatör cihazına (Gen-probe, Virginia, ABD) tabi tutuldu. Negatif kontrol grubu olarak 100 µL distile su kullanıldı.

Her bir diş macunu için DMSO ile hazırlanmış karışımlar deney grupları olarak kullanıldı. Florür içerikli bir diş macunu (Colgate Total, Colgate-Palmolive, New York, ABD) pozitif kontrol grubu olarak kullanılırken, distile su ise negatif kontrol grubu olarak kullanıldı.

Deney grupları ve kontrol gruplarının antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi için agar-kuyu difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla, yağların antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemle aynı şekilde inokulum solüsyonu hazırlanarak %5 koyun kanı ve 20 mg/L β-NAD (bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, Fransa) içeren 90 mm çapına sahip Mueller-Hinton Agar plaklar üzerine yayıldı. Her bir agar plak üzerine 6 mm çapındaki steril paslanmaz çelik biyopsi delicileri yardımı ile 3'er adet delik açıldı. Her plakta yer alan bu üç kuyunun birine 100 µL diş macunu-tarçın yağı karışımı, bir diğerine 100 µL diş macunu-kekik yağı karışımı ve açılan üçüncü deliğe ise kontrol amaçlı 100 µL diş macunu-distile su karışımı ilave edildi. Pozitif kontrol grubunun test edilmesi için ise bir plak üzerine üç adet delik açılarak bu deliklere 100 µL florürlü diş macunu-distile su karışımı ilave edildi. Negatif kontrol grubunun testi için de aynı işlem uygulanarak

deliklere 100 µL distile su ilave edildi. Böylece deney ve kontrol grupları için işlemler üçer kez tekrarlanmış oldu. Hazırlanan bu plaklar, daha önce de belirtildiği gibi 37°C’de 24 saat boyunca anaerobik koşullara sahip bir etüvde bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra her materyal için zon çapları ölçülerek değerlendirildi.

3.8. Saf Yağ İlave Edilmiş Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin Tespit Edilmesi

Her bir diş macunundan 50 mg alınarak 50 µL uçucu yağ ilavesi yapıldı. Antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi için agar-kuyu difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla, yağların ve macunların çözücü ilave edilmiş yağlarla oluşturdukları karışımın antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemle aynı şekilde inokulum solüsyonu hazırlanarak %5 koyun kanı ve 20 mg/L β-NAD (bioMérieux SA, Marcy-l’Etolle, Fransa) içeren 90 mm çapına sahip Mueller-Hinton Agar plaklar üzerine yayıldı. Her bir agar plak üzerine 6 mm çapındaki steril paslanmaz çelik biyopsi delicileri yardımı ile 3’er adet delik açıldı. Her plakta yer alan bu üç kuyunun birine diş macunu-tarçın yağı karışımı, bir diğerine diş macunu-kekik yağı karışımı ve açılan üçüncü deliğe ise kontrol amaçlı 50 mg diş macunu-50 µL distile su karışımı ilave edildi. Hazırlanan bu plaklar üçer kez tekrarlanarak daha önce de belirtildiği gibi 37°C’de 24 saat boyunca anaerobik koşullara sahip bir etüvde bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra her materyal için zon çapları ölçülerek değerlendirildi.

3.9. İstatistiksel Analiz

3.9.1. Uçucu Yağların ve Diş Macunlarının İstatistiksel Analizi

İlk olarak her gruba ait tanımlayıcı istatistikler ve diş macunlarının uçucu yağ içeren ve içermeyen formlarının dağılım özellikleri ile ilgili testler (Shapiro-Wilk) yapıldı. Esansiyel yağların dahil edilmesine ve antibakteriyel aktivitelerin değerlendirilmesinde kullanılan farklı test yöntemlerine göre tüm gruplar arasındaki

istatistiksel farkı belirlemek için üç yönlü varyans analizi ANOVA testi uygulandı. Diş gruplarının, esansiyel yağların ve diş macunu esansiyel yağların etkileşimini kontrol gruplarını göz ardı ederek analiz etmek için ayrılmış üç yönlü varyans analizi ANOVA gerçekleştirildi. LSD ve Tukey testi, %95 güven aralığı ile ikili karşılaştırma için uygulandı; $p < 0,05$ (Bonferroni ayarlı alfa = 0,05) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS Version 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) yazılımı kullanılarak uygulandı.

3.9.2. Etki Değerinin İstatistiksel Analizi

Hangi faktörlerin ve etkileşimlerin (malzeme tipi ve esansiyel yağ tipinin kısmi etakare değerleri) sonuçları etkilediğini ve ANOVA testlerinin etki büyüklüğünü (R^2) bulmak için denekler arası etki testleri yapıldı. $P < 0.001$ 'in ile ifade edilen değerler, ilgili parametrenin deneyden elde edilen sonuç üzerindeki etkisinin yüksek olduğunu gösterdi. $R^2 \geq 80$ değeri, ölçümde yer alan parametrelerin toplam etkisinin yaklaşık %80 olduğunu ve istatistiksel analizin ve sonuçların güvenilirliğinin çok yüksek olduğunu belirtti.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmada Kullanılan Uçucu Yağların GC/MS Analizi Aracılığıyla İçeriklerinin Belirlenmesi

GC/MS (Gas chromatography/ mass spectrometry) analizlerinden elde edilen verilere göre, *Origanum dubium* Boiss. (Lamiaceae) (*O. dubium*) ve *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl. (Lauraceae) (*C. cassia*) uçucu yağlarının bileşenleri ve yüzdeleri Tablo 2 ve Tablo 3'te gösterildi. *O. dubium* ve *C. cassia* yağlarının temel bileşenleri, sırasıyla Carvacrol (karvakrol) (%88,3) ve Cinnamaldehyde (sinemik aldehit) (%91,8) olarak belirlendi.

Tablo 2 Origanum dubium Uçucu Yağının İçeriği

RRI	İçerik İsmi	Relative percentage amounts (%) A%
1020	α -Pinene	0.3
1024	α -Thujene	0.5
1172	Myrcene	0.4
1177	α --Phellandrene	0.2
1192	α --Terpinene	0.9
1211	Limonene	0.1
1223	β -Phellandrene	0.1
1260	γ -Terpinene	2.7
1288	<i>p</i> -Cymene	3.8
1299	Terpinolene	0.1
1478	trans- sabinene hydrate	0.4
1556	Linalool	0.1
1565	cis-sabinene hydrate	0.1
1625	Terpinene-4-ol	0.7
1629	β -Caryophyllene	0.1
1639	trans-dihydrocarvone	Tr
1718	α -Terpineol	0.5
1728	Borneol	0.1
1771	Carvone	Tr
2108	Elemol	0.1
2159	Spathunelol	0.1
2210	Thymol	0.2
2243	Carvacrol	88.3
2273	β -Eudesmol	0.1
	Genel Toplam	100.0

Tablo 2 Origanum dubium uçucu yağının bileşenlerini göstermektedir. A: Origanum dubium uçucu yağı, %: FID verilerine göre yapılan hesaplamalar, RRI: n-alkanlara karşı göreceli retansiyon indeksleri, Tr: Trace (eser miktarda) (<0.1).

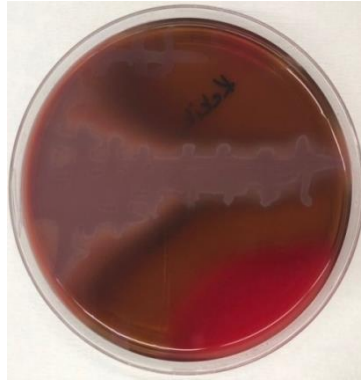
Tablo 3 Cinnamomum cassia Uçucu Yağının İçeriği

LRI	İçerik İsmi	Relative percentage amounts (%) B%
1021	α -pinene	0.61
1073	Camphene	0.67
1119	β -pinene	0.17
1212	Limonene	0.23
1221	1,8-cineole	1.18
1288	<i>p</i> -cymene	0.08
1515	α -cubebene	0.07
1556	Benzaldehyde	0.46
1605	Bornyl acetate	0.54
1625	Terpinen-4-ol	0.48
1629	β -caryophyllene	0.05
1718	α -terpineol	0.83
1728	Borneol	0.19
1787	δ -cadinene	0.03
1818	Benzenepropanal (=phenylpropyl aldehyde)	0.34
1940	(Z)-cinnamaldehyde	0.06
2091	(E)-cinnamaldehyde	91.79
2104	1-epi-cubenol	1.16
2188	Cinnamyl acetate	0.72
2242	Carvacrol	0.01
2514	Coumarin	0.19
	Genel Toplam	99.84

Tablo 3 *C. cassia* uçucu yağının bileşenlerini göstermektedir. B: *C. cassia* uçucu yağı, %: FID verilerine göre yapılan hesaplamalar, RRI: n-alkanlara karşı göreceli retansiyon indeksleri.

4.2. Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinliklerinin Tespit Edilmesi

Kontaminasyon kontrolü için hazırlanmış saf yağ uygulanan plaklarda hemoliz zonu ve inhibisyon zonu arasındaki ayrım net olarak ayrılamadığından dolayı sayısal bir veri elde edilemedi. Saf uçucu yağ uygulanmış plaklar Resim 16 ve Resim 17’de gösterildi.



Resim 16 *O. dubium* uçucu yağı kontaminasyon testi

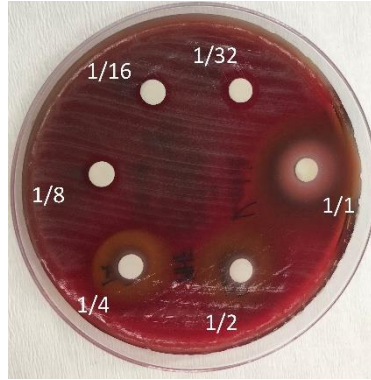


Resim 17 *C. cassia* uçucu yağının kontaminasyon testi

Tablo 4'e göre *C. cassia* uçucu yağı tüm dilüsyon oranlarında ve her üç çözücü varlığında *O. dubium* uçucu yağına göre daha yüksek değerler gösterdi. Dikkat çekici olan Tween ve Etanol çözücülerinin varlığında *C. cassia* uçucu yağı 1/32 oranındaki dilüsyonda dahi antibakteriyel özellik göstermesi olmuştur .

4.2.1. Çözücü Olarak Uçucu Yağa %10 DMSO İlave Edilerek Hazırlanan Grubun Sonuçları

Çözücü olarak uçucu yağlara %10 DMSO ilave edilerek hazırlanmış karışımların inhibisyon zon çapı ölçümlerine göre, *C. cassia* uçucu yağı, 1/16'ya kadar her dilüsyonda *O. dubium* uçucu yağına oranla daha geniş etki gösterdi (Resim 18). *O. dubium* uçucu yağı, 1/8 oranında dilüe edilene kadar etki gösterdi, ancak 1/8, 1/16 ve 1/32 dilüsyon oranlarında antibakteriyel etkisini yitirdi (Resim 19). Aynı şekilde *C. cassia* uçucu yağı da 1/16 ve 1/32 dilüsyonlarda inhibe edici bir etki göstermedi. Dilüsyonların inhibisyon zon çaplarına ve standart sapmalarına ait veriler Tablo 4 ve Şekil 1'de belirtildi.



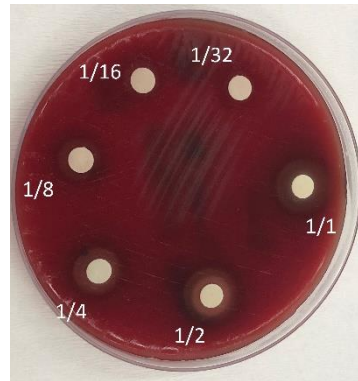
Resim 18 *O. dubium*-DMSO



Resim 19 *C. cassia*-DMSO

4.2.2. Çözücü Olarak Uçucu Yağa %20 Tween İlave Edilerek Hazırlanan Grubun Sonuçları

Çözücü olarak uçucu yağlara %20 Tween ilave edilerek hazırlanmış dilüsyonlarda da DMSO’da olduğu gibi *C. cassia* her dilüsyonda daha yüksek aktivite gösterdi (Resim 20). Her iki uçucu yağ için zon çapı değerlerinin, derişim azaldıkça neredeyse 1/3 oranına kadar düştüğü gözlemlendi. Dilüsyonların inhibisyon zon çapları ve standart sapma değerleri Tablo 4 ve Şekil 2’de belirtildi.



Resim 20 *C. cassia*-Tween

4.2.3. Çözücü Olarak Uçucu Yağa %60 Etanol İlave Edilerek Hazırlanan Grubun Sonuçları

Diğer karışımlarda olduğu gibi *C. cassia*'nın bir kez daha tüm dilüsyonlarda *O. dubium*'dan daha etkili olduğu gözlemlendi (Resim 21) *O. dubium* uçucu yağının, 1/16 ve 1/32 dilüsyonlarda antibakteriyel etkinliğini kaybettiği gözlemlendi. (Resim 22). Her iki uçucu yağ için de inhibisyon zon çaplarının 1/4 oranında yapılan dilüsyona kadar birbirine yakın seyrettiği belirlendi. Çözücü olarak uçucu yağlara %60 etanol ilave edilerek hazırlanmış karışımların inhibisyon zon çapları ve standart sapmalarına ilişkin değerler Tablo 4 ve Şekil 2'de gösterildi.



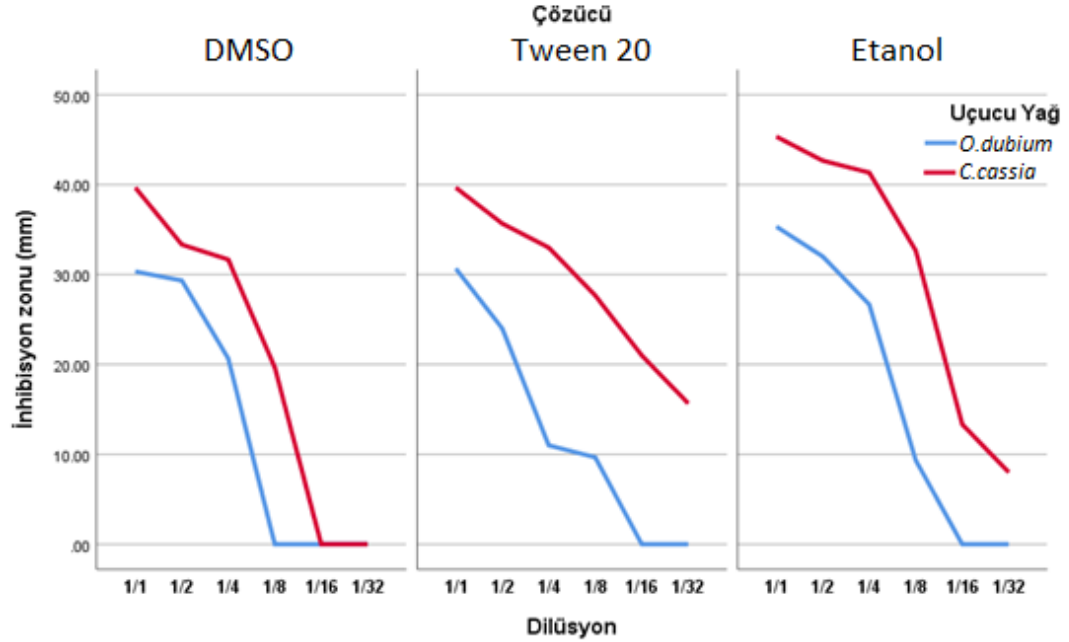
Resim 21 *C. cassia*-etanol



Resim 22 *O. dubium*-etanol

Tablo 4. Çeşitli Dilüsyon Seviyelerinde İnhibisyon Zonu Çapları

		İnhibisyon zonu (mm) (Ort±St.Sap)					
Çözücü	Uçucu Yağ	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
DMSO	<i>O. dubium</i>	30.33	29.33	20.67	0.00	0.00	0.00
		±0.58	±1.15	±0.58	±0.00	±0.00	±0.00
	<i>C. cassia</i>	39.67	33.33	31.67	19.67	0.00	0.00
		±0.58	±0.58	±0.58	±0.58	±0.00	±0.00
TWEEN	<i>O. dubium</i>	30.67	24.00	11.00	9.67	0.00	0.00
		±0.58	±0.00	±1.00	±0.58	±0.00	±0.00
	<i>C. cassia</i>	39.67	35.67	33.00	27.67	21.00	15.67
		±0.58	±0.58	±1.00	±0.58	±1.00	±0.58
ETANOL	<i>O. dubium</i>	35.33	32.00	26.67	9.33	0.00	0.00
		±1.15	±2.00	±4.16	±8.33	±0.00	±0.00
	<i>C. cassia</i>	45.33	42.67	41.33	32.67	13.33	8.00
		±1.15	±1.15	±1.15	±1.15	±5.77	±0.00



Şekil 2 Çözücü tipi ve dilüsyonlarına göre uçucu yağların inhibisyon zonu çapları

4.3. Uçucu Yağ İlavesi Yapılmamış Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri

Diş macunlarının ve kontrol gruplarının uçucu yağ ilavesi yapılmadan saf halde antibakteriyel etkinliklerini belirlemek için yapılan testlerde, bitkisel diş macunları arasında en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olan diş macunu Splat Organic ($12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$) olarak tespit edildi. Splat Biocalcium sahip olduğu inhibisyon zonu çapı ($11 \pm 0.00 \text{ mm}$) ile Splat Organic'i takip etti. Ancak Jack N' Jill tek başına herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermedi ($0 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$). Kontrol grupları değerlendirildiğinde; pozitif kontrol grubu olan florür içerikli diş macunu Colgate Total'in ($12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$), bitkisel içerikli diş macunu olan Splat Organic ile aynı aktiviteye sahip olduğu görüldü. Negatif kontrol grubu olan distile suyun ($0 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$) ise Jack N' Jill gibi hiçbir antibakteriyel etkiye sahip olmadığı gözlemlendi. Grupların inhibisyon zonu çapı değerleri Tablo 5'te gösterildi.

Tablo 5 Uçucu Yağ İlave Edilmemiş Diş Macunlarının İnhibisyon Zon Çapı Değeri (mm)

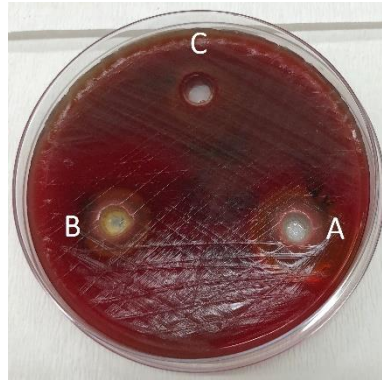
Deney Materyali	Türü	İnhibisyon zonu çapı (mm)
Splat Organic	Bitkisel İçerikli Diş Macunu	$12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$
Splat Biocalcium	Bitkisel İçerikli Diş Macunu	$11 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$
Jack N' Jill	Bitkisel İçerikli Diş Macunu	$0 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$
Colgate Total	Florürlü Diş Macunu	$12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$
Distile Su	Su	$0 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$

4.4. Uçucu Yağ İlavesi Yapılmış Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri

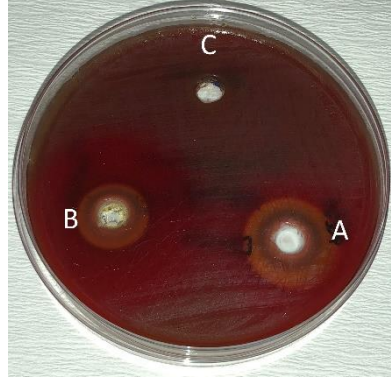
Yapılan istatistiksel çalışmalara göre, macunlara uçucu yağ ilave edildiğinde, en yüksek aktivite gösteren diş macunu-uçucu yağ-çözücü birleşimi Splat Biocalcium-C. cassia uçucu yağı-Tween kombinasyonu olarak belirlendi (42.33 ± 0.58). En düşük aktivite gösteren grup ise Jack N' Jill-O. dubium uçucu yağı-Tween kombinasyonu olarak tespit edildi (15.00 ± 0.00).

4.4.1. DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri

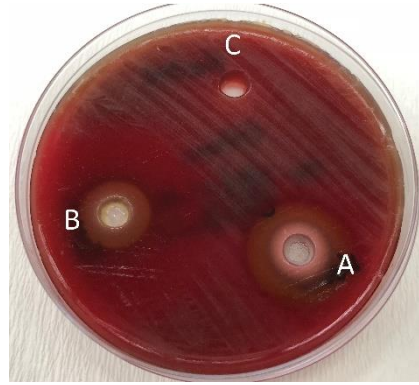
Çözücü olarak DMSO ilave edilerek hazırlanmış diş macunu – uçucu yağ karışımların antibakteriyel etkinlikleri değerlendirildiğinde, Splat Organic (Resim 23) ve Splat Biocalcium (Resim 24) bitkisel içerikli diş macunlarının inhibisyon zon çaplarının *O. dubium* uçucu yağı için sırasıyla iki katına ($12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm} / 23.00 \pm 1.00$ ve $11 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm} / 23.33 \pm 0.58$) ve *C. cassia* uçucu yağı için sırasıyla üç katına ($12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm} / 38.33 \pm 0.58$ ve $11 \text{ mm} \pm 0.00 / 35.67 \pm 0.58$) çıktığı gözlemlendi. Başlangıçta hiçbir antibakteriyel aktivite göstermeyen Jack N' Jill, *O. dubium* uçucu yağı ilave edildiğinde 27.67 ± 0.58 , *C. cassia* uçucu yağı ilave edildiğinde ise 39.67 ± 0.58 çapında bir inhibisyon zon çapı gösterdi (Resim 25). Grupların inhibisyon zon çapı ve standart sapma değerleri Tablo 6'da gösterildi.



Resim 23 DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Organic zon çapları (A: Splat Organic + *O. dubium* + DMSO B: Splat Organic + *C. cassia* + DMSO C: Splat Organic + Distile su)



Resim 24 DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Biocalcium zon çapları (A: Splat Biocalcium + *O. dubium* + DMSO B: Splat Biocalcium + *C. cassia* + DMSO C: Splat Biocalcium + Distile su)

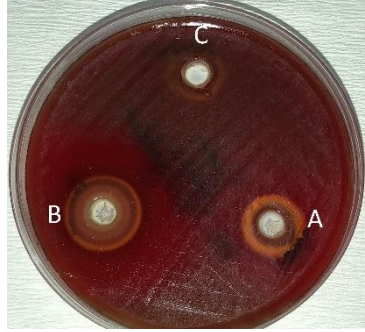


Resim 25 DMSO ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Jack N' Jill zon çapları (A: Jack N' Jill + *O. dubium* + DMSO B: Jack N' Jill + *C. cassia* + DMSO C: Jack N' Jill + Distile su)

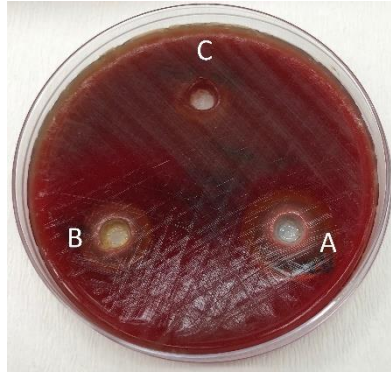
4.4.2. Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri

Diş macunlarına çözücü olarak Tween ilave edilerek hazırlanmış diş macunu – uçucu yağ karışımlarının inhibisyon zon çapları değerlendirildiğinde, *C. cassia* uçucu yağı ilave edilmiş grupların antibakteriyel etkinlikleri, *O. dubium* uçucu yağı ilave edilmiş gruplardan fazla olup, en yüksek aktiviteyi Splat Biocalcium (Resim 26) (42.33 ± 0.58) gösterdi. Her iki uçucu yağ da ilave edilmiş tüm gruplar arasındaki en düşük aktivite Jack N' Jill-*O. dubium* (Resim 27) kombinasyonunda görülmekle

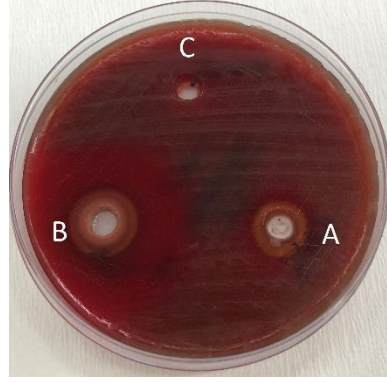
birlikte (15.00 ± 0.00) zon çapı değerlerinin Splat Organic (Resim 28) ile birbirlerine yakın olduğu tespit edildi. Grupların inhibisyon zon çaplarının ve standart sapmalarının değerleri Tablo 6’da gösterildi.



Resim 26 Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Biocalcium zon çapları (A: Splat Biocalcium + *O. dubium* + Tween B: Splat Biocalcium + *C. cassia* + Tween C: Splat Biocalcium + Distile su)



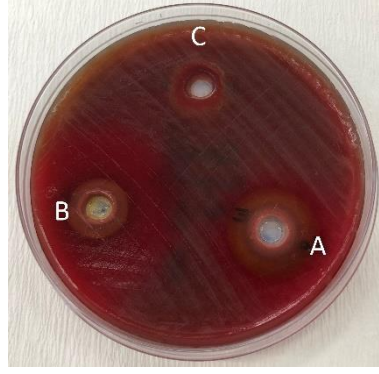
Resim 27 Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Organic zon çapları (A: Splat Organic + *O. dubium* + Tween B: Splat Organic + *C. cassia* + Tween C: Splat Organic + Distile su)



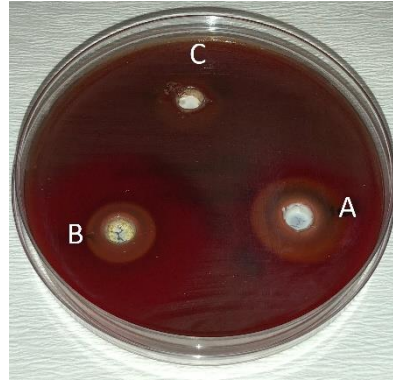
Resim 28 Tween ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Jack N' Jill zon çapları (A: Jack N' Jill + *O. dubium* + Tween B: Jack N' Jill + *C. cassia* + Tween C: Jack N' Jill + Distile su)

4.4.3. Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Diş Macunlarının Antibakteriyel Etkileri

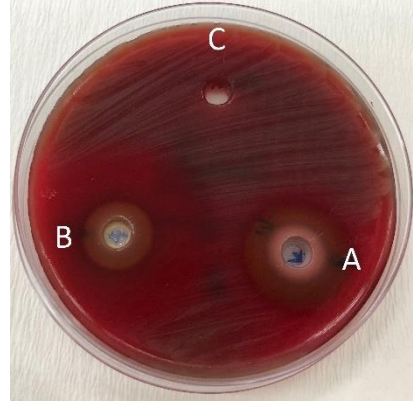
Çözücü olarak etanol ilave edilerek hazırlanmış diş macunu – uçucu yağ karışımların antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde, *O. dubium* için Jack N' Jill ve Splat Biocalcium macunlarının zon çaplarının birbirlerine yakın olduğu görüldü. En yüksek antibakteriyel etkinliği Splat Organic (Resim 29) ($25.33 \pm 0.58 \text{ mm}$), en düşük antibakteriyel etkinliği ise Splat Biocalcium (Resim 30) ($23.67 \pm 0.58 \text{ mm}$) sergiledi. *C. cassia* uçucu yağı ilave edilen gruplarda en yüksek etkinlik gösteren grup Jack N' Jill (Resim 31), en düşük antibakteriyel etki gösteren olan grup ise Splat Biocalcium olarak belirlendi. Grupların inhibisyon zon çaplarının ve standart sapmalarının değerleri Tablo 6'da gösterildi.



Resim 29 Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Organic zon çapları (A: Splat Organic + *O. dubium* + Etanol B: Splat Organic + *C. cassia* + Etanol C: Splat Organic + Distile su)



Resim 30 Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Splat Biocalcium zon çapları (A: Splat Biocalcium + *O. dubium* + Etanol B: Splat Biocalcium + *C. cassia* + Etanol C: Splat Biocalcium + Distile su)

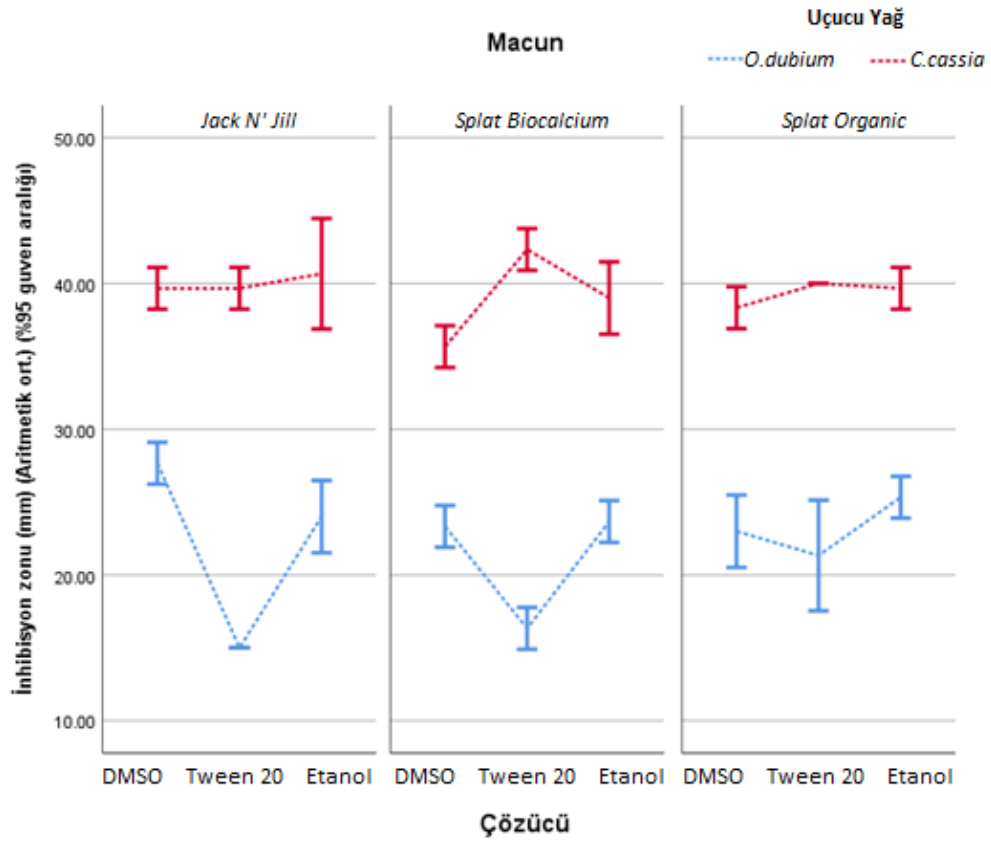


Resim 31 Etanol ile Seyreltilme Yapılmış Uçucu Yağ İçeren Jack N' Jill zon çapları (A: Jack N' Jill + *O. dubium* + Etanol B: Jack N' Jill + *C. cassia* + Etanol C: Jack N' Jill + Distile su)

Tablo 6 Her bir Çözücü ve Uçucu Yağ Varlığında Diş Macunlarının İnhibisyon Zonu Çapları (mm)

		İnhibisyon zonu (mm) (Ort±St.Sap)		
Çözücü	Uçucu Yağ	Jack N' Jill	Splat Biocalcium	Splat Organic
DMSO	<i>O. dubium</i>	27.67±0.58	23.33±0.58	23.00±1.00
	<i>C. cassia</i>	39.67±0.58	35.67±0.58	38.33±0.58
TWEEN	<i>O. dubium</i>	15.00±0.00	16.33±0.58	21.33±1.53
	<i>C. cassia</i>	39.67±0.58	42.33±0.58	40.00±0.00
ETANOL	<i>O. dubium</i>	24.00±1.00	23.67±0.58	25.33±0.58
	<i>C. cassia</i>	40.67±1.53	39.00±1.00	39.67±0.58

Şekil 3'te tüm deneyin özetini gösterildi. Buradan da görüleceği üzere *C. cassia* uçucu yağı her üç macun türünde ve her üç çözücü ile kullanıldığında *O. dubium* uçucu yağına göre daha yüksek sonuç gösterdi ve farkların tamamının istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$).



Şekil 3 Diş Macunlarına Herbir Çözücü ve Uçucu Yağ İlave Edildiğinde Ölçülen İnhibisyon Zonu(mm)

Diş macunlarının, uçucu yağların ve çözücülerin aralarında etkileşim olup olmadığının belirlenmesi için yapılan “Test of Between Subjects Effect” testinden elde edilen sonuçlara göre, macun, uçucu yağ ve çözücülerin etkileşiminin ($F(4,36) = 20,279$, $p < 0,001$) istatistikî olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p < 0,05$). Buna ek olarak macunlar-uçucu yağlar ve çözücüler-uçucu yağlar etkileşimleri de istatistikî olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Teste ilişkin veriler Tablo 7’de gösterildi.

Tablo 7 Test of Between Subject Effects verileri

GRUP	Type III Kareler Toplamı	Sig.
Düzeltilmiş Model	4501.481 ^a	.000
Sabit Terim	51275.852	.000
Macun	15.815	.000
Çözücüler	83.815	.000
Uçucu Yağlar+Macunlar+Çözücüler	4021.407	.000
Macunlar+Çözücüler	78.185	.000
Macunlar+Uçucu Yağlar	8.926	.003
Çözücüler+ Uçucu Yağlar	242.259	.000
Macunlar+Çözücüler+ Uçucu Yağlar	51.074	.000
Hata	22.667	
Toplam	55800.000	
Düzeltilmiş Toplam	4524.148	

Bu sonuçlara göre tüm uçucu yağlar ve tüm çözücüler ilave edilmiş Jack N' Jill diş macunu ile Splat Biocalcium diş macunu ve Splat Biocalcium diş macunu ile Splat Organic diş macunu arasında anlamlı farklar tespit edildi ve elde edilen fark değerleri Tablo 8'de gösterildi ($p<0,01$).

Yapılan testin sonuçları, başlangıçta gerçekleştirilen ve Splat Organic ($12\pm0.00\text{mm}$) ve Splat Biocalcium ($11\pm0.00\text{mm}$) diş macunlarının ortalama zon çaplarının birbirine daha yakın olduğu tespit edildiği ancak Jack N' Jill diş macununun etki göstermediği sadece macun bazları için yapılan değerlendirme testlerine göre farklı değerler gösterdi. Ancak, çözücü ve uçucu yağlar ile birleştirildiğinde Jack N' Jill diş macunu ortalama 31.111 mm, Splat Biocalcium diş macunu 30.056 mm ve Splat Organic diş macunu da 31.278 mm inhibisyon çapı gösterdi. Bu sonuçlara dayanılarak, macun bazlarının tüm çözücüler ve uçucu yağlar ile etkileşime girdiği tespit edildi.

Tablo 8 ANOVA Sonuçlarına Göre Macunlar Arası Karşılaştırmalar

Macunlar	Fark	p-değeri
Jack N' Jill / Splat Biocalcium	1.056	<0.001
Jack N' Jill / Splat Organic	-0.167	0.533
Splat Organic/Splat Biocalcium	-1.222	<0.001

Macun bazları ve uçucu yağlar ile etkileşime girdiğinde üç tip çözücü de birbirinden anlamlı derecede farklı etkinlik gösterdi. Her üç çözücü arasındaki farklar istatistikî olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$) ve değerler Tablo 9’da gösterildi.

Tablo 9 ANOVA Sonuçlarına Göre Çözücüler Arası Karşılaştırmalar

Çözücüler	Fark	p-değeri
DMSO ve Tween	2.167	<0.001
DMSO ve Etanol	-0.778	0.006
Tween ve DMSO	2.944	<0.001

5. TARTIŞMA

Diş çürüğü, yüksek oranda kariyojenik bakteri içeren, multifaktöriyel bir hastalıktır. *S. mutans*, insan dental plağından en sık izole edilen bakteridir ve diş çürüğü gelişimindeki temel kariyojenik bakteri olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında *S. mutans* suşu kullanılmıştır. *S. mutans*'ın üretmiş olduğu asitler ve karbonhidrat metabolizmasının oluşturduğu ürünler nedeniyle diş yüzey yapısında bozunmalar meydana gelmektedir. *S. mutans*'ın çürük oluşturma potansiyeli, temel olarak asidojenitesi, asidüritesi, adezyon kapasitesi ve virülans faktöründen kaynaklanmaktadır (Loesche, 1986).

S. mutans'ın kariyojenitesi nedeniyle, oral biyofilm üzerindeki birikimini azaltmak için ağız hijyenini sağlamaya yönelik yöntemler kullanılmaktadır. Profesyonel ağız bakımı ile birlikte diş fırçalama yöntemleri, çürük oluşumu, periodontal hastalık ve diş eti inflamasyonu oluşma riskini azaltmaktadır. Ancak dünya çapındaki ağız hastalıklarının prevalansındaki artma incelendiğinde, yalnızca diş fırçalamanın diş çürüğünü önleme konusunda yeterli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenle, rutin diş fırçalama prosedürlerine kimyasal ajanlar da ilave edilebileceği düşünülmüştür (Morris ve ark., 2001).

Dünya Sağlık Örgütü, Amerikan Dişhekimleri Birliği ve Uluslararası Dişhekimliği Federasyonu'nun önerisi ile çok sayıda diş macununa florür ve triklosan ilave edilmiştir (Morris ve ark., 2001). Diş macunlarına triklosan katılmasının gingiva ve plak indeks skorlarında ve bakteri canlılığında azalma meydana getirdiği gösterilmiştir (Singh ve ark., 2010). Ancak florür ve triklosan içerikli diş macunlarının kullanımının yararlarının yanında, içermiş oldukları kimyasal ve sentetik ürünler nedeniyle zararlı etkileri de bulunmaktadır. Bu durum göz önüne alındığında, kimyasal içeren ürünler yerine, bitkisel bazlı ürünleri tercih etmek daha mantıklı bir yaklaşım olacaktır. Bitkisel ekstraktların ve bitki bazlı ürünlerin, anti kanseröz etkilerinin yanında, gingivitis, diş eti kanaması, kötü nefes kokusu ve diş çürüğü gibi hastalıkları tedavi edebildiği bilinmektedir.

Uçucu yağların elde edilmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden buhar distilasyon yönteminin bir varyasyonu olan hidrodistilasyon

yöntemi, Fransız kodeksi tarafından geliştirilmiş olup kuru bitkilerden uçucu yağ elde edilmekte ve kalite kontrolleri yapılabilmektedir (Rassem ve Nour, 2016). Bu yöntem çok eski olmakla birlikte, diğerlerine oranla oldukça kolaydır (Meyer-Warnod, 1984). Ekstraksiyonun temelini, izotropik distilasyon oluşturmaktadır. Distilasyon zamanının uzun olmasına ve az bir miktarda yağ elde edilebilmesine rağmen, istenmeyen bileşiklerin ve oksidasyon ürünlerinin uçucu yağlardan ayrılmasına olanak sağlayabilmektedir (Rassem ve Nour, 2016). Çeşitli çalışmacılar inceleyecekleri uçucu yağların elde edilmesinde bu yöntemi tercih etmişlerdir. Başer ve ark., bir *Origanum* türü olan *Origanum majorana* bitkisinden elde edilen uçucu yağın kompozisyonunu belirlemek için yaptıkları çalışmada, yağı elde etmek için hidrodistilasyon yöntemi kullanmışlardır (Baser ve ark., 1993). 2017 yılında yapılan bir çalışmada, *Origanum* türüne ait iki farklı bitkinin uçucu yağlarının kıyaslanmasında da yine hidrodistilasyon yöntemi kullanılmıştır (Busatta ve ark., 2017). Cinnamomum türüne ait bir bitki olan ve bu tez çalışmasında da kullanılan *C. cassia* uçucu yağın elde edilmesinde mikrodalga yardımı ile hidrodistilasyon yönteminin bitkinin morfolojisinde yaptıkları değişimi ve karbondioksit salınımını incelemek için Jeyaratnam ve ark., 2016 yılında bir çalışma yapmışlardır. Bu tez çalışmasında kullanılan uçucu yağların elde edilmesinde de hidrodistilasyon yöntemi kullanılmıştır.

Uçucu yağlar çeşitli bileşenler içermeleri ve bu bileşenlerin her birinin sahip oldukları etki mekanizmalarındaki farklılıklar nedeniyle farklı antibakteriyel etki sergilemektedirler (Calsamiglia ve ark., 2007). Gaz kromatografi/ kütle spektrometre analizleri, uçucu yağların kompozisyonlarının belirlenmesi için gereklidir (Daferera ve ark., 2000). Bu çalışmada kullanılan uçucu yağ bileşenlerinin karakterizasyonu, nispi alıkonma sürelerinin otantik örneklerle karşılaştırılması veya nispi alıkonma endekslerinin bir n-alkan dizisi ile karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağların karakterizasyonlarının belirlenmesi amacıyla, bilinen yağ bileşenlerinin yanı sıra “kütle spektral literatür verileri” (ESO 2000, 1999; Joulain ve Koenig, 1998) olarak bilinen verileri bir ticari bilgisayar programı olan “Wiley GC/MS Library, MassFinder 3 Library” (McLafferty ve Stauffer, 1989; Koenig ve ark., 2004) ve bir kurumsal kütüphane olan “Baser Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi” kullanılmıştır.

“Oregano” terimi, yapısı içerisinde temel bileşen olarak karvakrol içeren çeşitli türleri tanımlamakta kullanılmaktadır (Başer, 2002). *Origanum* türü ile yapılan çeşitli fitokimyasal ve biyolojik çalışmalar, türün antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve antikarsinojen bileşenlerden zengin olduğunu kanıtlamıştır. 2004 yılında yapılan bir çalışmada, çeşitli uçucu yağların gıdalarda gözlenen *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* patojenlerinin üzerindeki etkileri araştırılmıştır. İncelenen uçucu yağların içeriklerinde yer alan karvakrol, timol, öjenol, perilaldehit, sinemik aldehit ve sinemik asitin antibakteriyel etki gösterdiği rapor edilmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonları belirtilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada, uçucu yağların hücre zarında yaptıkları değişiklikler de incelenmiş ve antioksidan özellikleri de rapor edilmiştir (Burt, 2004). Öke ve Aslım’ın yapmış oldukları çalışmada, bir *Origanum* türü olan *Origanum minutiflorum*’un antioksidan, antibakteriyel ve sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre antibakteriyel aktivitesi olduğu tespit edilen bitkinin, sitotoksik etkisinin olmaması sebebiyle özellikle gıdalarda koruyucu olarak güvenle kullanılabileceği belirtilmiştir (Öke ve Aslım, 2010).

Origanum türünün antibakteriyel etkinliğini inceleyen pek çok sayıda çalışma yapılmıştır. Daha önceki çalışmalarda, *O. dubium*’u da içeren *Origanum* türlerinin *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *S. mutans* gibi farklı bakteri türleri üzerinde etkili oldukları gözlenmiştir (Brierley ve Kelber, 2011; Özkalp ve ark., 2010). Uçucu yağın elde edilmesinde yağın toplanma zamanı, bitkinin olgunlaşma sürecinde gösterdiği kompozisyon farklılıkları açısından önemlidir (Baydar, 2005). Yapılan bir çalışmaya göre, iki farklı zamanda toplanan *O. dubium*’un uçucu yağ kompozisyonları incelenmiş ve bu uçucu yağların, *E. coli*, *P. mirabilis*, *A. tumefaciens*, *P. aeruginosa*, *P. talassi*, *S. enteridis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus*, *S. lutea* ve *C. albicans* üzerindeki antibakteriyel etkinlikleri incelenmiştir. Uçucu yağların, test edilen tüm bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivitesinin olduğu rapor edilmiştir (Karioti ve ark., 2006). Uçucu yağların temel bileşenleri de antibakteriyel aktiviteyi etkilemektedir (Sivropolou ve ark., 1996). *Origanum dictamnus*’tan elde edilen uçucu yağın temel majör bileşenleri olan karvakrol ve

timolün, *S.mutans*'ı da içeren dört gram pozitif ve dört gram negatif insan patojen bakterilerinin ve mantarlarının fosfatidil kolin bazlı lipozomlarına enkapsüle olmalarıyla oluşturdukları antibakteriyel ve antioksidan etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, yağın bu bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu, lipozomal aktivitenin antibakteriyel aktiviteyi etkilediği, antibakteriyel etkinin majör bileşenlerden kaynaklandığı, timolün ise karvakrolden daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Liolios ve ark., 2009).

Origanum türleri, içerdikleri fenolik bileşenlerin türlerine göre tanımlanmaktadır (Skoula ve ark., 1999; Chorianopoulos ve ark., 2004). *Origanum* yağının temel bileşenleri karvakrol ve timoldür. Bunlar, γ -terpinen'den (Davis ve ark., 1988). *p*-cymen'e (Güner ve ark., 2000) kadar sentezlenen monoterpenik fenollerdir. Sivripolou ve ark. (1996), yapmış oldukları bir çalışmada, *Origanum* türlerinden elde edilen uçucu yağların antibakteriyel özelliklerinin, karvakrol, timol, γ -terpinen ve *p*-cymen gibi fenolik komponentlerden kaynaklandığını göstermişlerdir.

Bu çalışmanın sonuçları, *O. dubium*'un antibakteriyel ve antioksidan etkisinin yüksek karvakrol içeriği ile ilişkili olduğunu gösteren daha önce yapılmış çalışmalarla uyumludur (Karioti ve ark., 2006). Bu çalışma için yapılan gaz kromatografi/ kütle spektrometri analizlerine göre, *O. dubium* uçucu yağının ana bileşeni karvakrol (%88,3) olarak belirlenmiştir. Bu veriye göre, elde ettiğimiz uçucu yağın antibakteriyel etkisinin, içerdği karvakrol ile ilişkili olduğu söylenebilir. *O. dubium* uçucu yağını da içeren bitkisel uçucu yağların antibakteriyel etki mekanizmalarını inceleyen önceki çalışmalar, hidrofobik biyoaktif komponentlerin hücre hasarına neden olduğunu, hücre zarı geçirgenliğini arttırdığını ATP üretimini etkilediğini, hücre pH'ında bozulmalara ve sitoplazmik değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir (DeSouza ve ark., 2010; Szabó ve ark., 2010; Hydlgaard ve ark., 2012). Bu etkilerinin yanında, istenmeyen organoleptik özellikleri ve yüksek uçucu karakterleri nedeniyle de kullanımları sınırlıdır (Alvarez ve ark., 2014; Hernández-Hernández ve ark., 2014). Bu nedenle bu tez çalışmasında yağlar saf formda kullanılmamıştır.

Çeşitli çalışmalarda, uçucu yağlar, DMSO, etanol ve Tween içerisinde çözdürülmüştür (Pesavento ve ark., 2015; Donsi ve ark., 2016). Bu çalışmada uçucu yağların zararlı etkilerini önlemek ve yağların dış macunları içerisine homojen bir şekilde karışabilmesini sağlamak için DMSO, Tween ve etanol kullanılmıştır. Çözücüler yağlara ilave edilirken, materyalin antibakteriyel etkinliklerini değiştirmemek amacıyla literatürde kullanılan oranların dışına çıkmamaya özen gösterilmiştir. *Origanum* türlerinin antibakteriyel etkilerinin incelendiği çalışmalarda çözücü olarak DMSO kullanılan çalışmalar mevcuttur. Metisiline dirençli stafilocokların *Origanum vulgare* bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve bu yağın temel bileşenleri olan karvakrol ve timolün ticari formlarına olan duyarlılığının araştırıldığı bir çalışmada, stok çözelti hazırlamak amacıyla DMSO kullanılmıştır (Nostro ve ark., 2004). Türkiye’de yetişen *Origanum* türlerinin ve bu türün üç temel komponentinin böcek öldürücü, fitotoksik ve 17 bitki patojen mantarı üzerindeki antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, stok çözelti hazırlanmasında DMSO kullanılmış, kontrol grubu olarak %10 DMSO tercih edilmiştir (Kordalı ve ark., 2008). Bu çalışmada da kullanılan DMSO çözücü oranı %10 olarak belirlenmiştir (Berber ve ark., 2013).

Çalışmada kullanılan bir diğer çözücü olan Tween de *Origanum* ve *Cinnamomum* türleri ile ilgili yapılan çalışmalarda uçucu yağların çözülmesi için tercih edilmektedir. *Origanum vulgare*’nin 16 farklı candida türü üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, uçucu yağı çözmek amacıyla Tween kullanılmıştır (Cleff ve ark., 2010). Balık ve etlerin bozulmalarını engellemek için marinasyonlarında *Origanum compactum*, *Cinnamomum zeylanicum* ve *Thymis zigis* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların kullanılmasının antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, uçucu yağların emülsiyonu için Tween kullanılmıştır (Van Haute ve ark., 2016). Çalışmada kullanılan Tween oranı literatürde de belirtilen bir oran olan %20 olarak belirlenmiştir (Sedlaříková ve ark., 2017).

Etanol, kendi başına antibakteriyel aktiviteye sahip bir çözücüdür. Yapılan çalışmalarda etanolün, test edilen malzemenin antibakteriyel aktivitesinde değişikliğe neden olabildiği gösterilmiştir (Chaudhari ve ark., 2012). Genellikle çalışmalarda incelenecek malzemelerde etki oluşturmamak amacıyla %50 ve %75

oranları arasında etanol kullanılması nedeniyle (Karimi ve ark., 2014; Habibi ve ark., 2015), güvenli aralıkta kalmak amacıyla bu çalışmada %60 etanol kullanılmıştır.

Lauraceae familyasına ait olan *Cinnamomum* türü, dört mevsim yeşil kalabilen, 300'den fazla aromatik ağaç ve çalıyı içermektedir (Ranasinghe ve ark., 2012). Bu çalışmada kullanılan ve "Çin Tarçını" olarak da bilinen *Cinnamomum cassia* yerel bir marketten satın alınmıştır. Tarçın yağının antibakteriyel aktivitesinin incelendiği çalışmalarda, farklı bakteri türleri ve mantarlar üzerinde etkisi olduğu rapor edilmiştir. *Cinnamomum zeylanicum* (*C.zeylanicum*)' un kabuğundan elde edilen uçucu yağın, diş çürüğüne sebep olabilecek üç bakteri ve iki maya mantarı üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, bitkinin etanolik, metanolik ve asetonik özütleri, *S. mutans*, *S. aureus*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* ve *L. acidophilus*'a karşı antibakteriyel etki göstermiştir (Aneja ve ark., 2009). Ticari olarak temine dilen dokuz adet uçucu yağın *S. mutans* üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmaya göre, kullanılan yağlar arasında en yüksek antibakteriyel etkiyi *Cinnamomum camphora* uçucu yağı göstermiştir (Chaudhari ve ark., 2012).

Yapılan araştırmalarda, tarçın yağının sahip olduğu yüksek antibakteriyel aktivite, içerdiği sinemik aldehite bağlanmıştır (Choi ve ark., 2016; Ribeiro ve ark., 2018). Farklı tarçın türleri ile yapılan çalışmalarda, uçucu yağların içerdiği sinemik aldehit oranı %50 ile %88 arasında bulunmuştur. Farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çözücülerin kullanılması ve yağın elde edildiği bitkinin verimi, uçucu yağın kompozisyonunu ve majör bileşenin bulunma oranını etkileyebilmektedir (Ooi ve ark., 2006). Wang ve ark., *C. cassia*'dan buhar distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağı GC/MS ile analiz etmişler ve %50 oranında sinemik aldehit içerdiğini tespit etmişlerdir (Wang ve ark., 2003). Hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş *C. cassia* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin değerlendirildiği bir başka çalışmada, uçucu yağ içerisindeki sinemik aldehitin %85 olduğu belirtilmiştir (Ooi ve ark., 2006). Bir başka tarçın türü olan *C. zeylanicum*'dan hidrodistilasyon metodu ile elde edilen uçucu yağın kompozisyonunun araştırıldığı bir çalışmada da elde edilen yağ içerisinde %99,4 oranında sinemik aldehit tespit edilmiştir (Singh ve ark., 2007). Gaz kromatografi/kütle spektrometri analizlerine göre, bu çalışmada kullanılan *C.*

cassia uçucu yağının temel bileşeni sinemik aldehit (%91,79) olarak bulunmuş olup bu değer Ooi ve ark. (2006) ve Singh ve ark. (2007)' nın elde ettiği veriler ile uyumludur.

Çalışmada kullanılan uçucu yağların saf formları, diğ macunlarına ilave edilmeden önce kontaminasyon olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla agar plaklar üzerine uygulanmıştır. Saf haldeki yağların çok geniş bir inhibisyon alanı oluşturdıkları gözlenmiştir. Bundan dolayı saf yağların çok kuvvetli bir oksidatif strese neden oldukları söylenebilir. Oluşturdıkları oksidatif strese bağılı olarak agar plaklar üzerinde geniş bir hemoliz alanı oluşturmışlardır, ancak hemoliz ve inhibisyon zonlarını ayırt etmek oldukça zor olmuştur.

Çalışmada kullanılan saf haldeki uçucu yağların antibakteriyel etkinliklerini tespit etmek için disk-agar difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Disk-agar difüzyon yöntemi, bitkiler ve bitkisel ekstraktların antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesinde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (EUCAST, 2013 The European Antimicrobial Susceptibility Testing. Calibration and Validation. <http://www.eucast.org/> Erişim Tarihi:14.02.1019). Literatürde, “minimum inhibisyon konsantrasyonu tespiti”, biyootografik yöntem ve bu yöntemin “kromatografi (direkt)” ve “agar-difüzyon metodu (indirekt)” olmak üzere iki varyasyonu, agar-difüzyon yönteminin de “kuyu-agar” ve “disk-agar” olmak üzere iki varyasyonu gibi farklı antibakteriyel duyarlılık test metodları belirtilmiştir (Valgas ve ark., 2007). Uçucu yağlar oldukça viskoz ve hidrofobik bir yapıya sahip olduklarından, antimikrobiyal aktivitelerinin test edilmesi kolay değildir. Diğer yöntemlerin homojen olarak karışmama ya da uçucu yağların agara sızması gibi bazı dezavantajları bulunduğundan dolayı, yapılan tez çalışmasının bu aşamasında disk-agar difüzyon yöntemi tercih edilmiştir.

Saf haldeki uçucu yağların göstermiş oldukları aktiviteler karşılaştırıldığında, *C. cassia* uçucu yağının, DMSO ile dilüe edilen gruplar arasında saf yağı temsil eden disklerden ölçülen değerler (*O. dubium*: 30.33±0.58 mm, *C.cassia*: 39.67±0.58mm), Tween ile dilüe edilen gruplar arasında saf yağı temsil eden disklerden ölçülen değerler (*O. dubium*: 30.67±0.58mm, *C. cassia*: 39.67±0.58 mm) ve etanol ile dilüe edilen gruplar arasında saf yağı temsil eden disklerden ölçülen değerler (*O. dubium*:

35.33±1.15 mm, *C. cassia*: 45.33±1.15 mm) için *O. dubium* uçucu yağından daha yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Her üç çözücü için saf yağların inhibisyon zonu çaplarındaki milimetrik farklılıklar karşılaştırıldığında, diskin agar üzerindeki pozisyonlanması sırasındaki kaymalardan kaynaklanmış olabilir. Chaudry ve Tariq (2006), klinik olarak insandan elde edilen *S. mutans* üzerine uygulamış oldukları saf *C. cassia* uçucu yağının inhibisyon zonu çapını 19 mm olarak tespit etmişlerdir. Tez çalışmasının bu çalışma ile farklı sonuç göstermesi, kullanılan uçucu yağın içerisindeki etken maddelerin oranlarındaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Saf haldeki uçucu yağların farklı çözücüler kullanılarak elde edilen aynı oranlardaki dilüsyonlarında, farklı sayısal değerlere sahip sonuçlar elde edilmiştir. *O. dubium* için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarında DMSO ile dilüe edilen örneklerin antibakteriyel etki göstermediği gözlenmiştir. Aynı şekilde etanol de 1/16 ve 1/32 oranlarındaki dilüsyonlarda etki göstermemiştir. Ancak Tween, her oranda antibakteriyel etki göstermiştir. *C.cassia* için elde edilen sonuçlarda ise, DMSO ile 1/16 ve 1/32 oranlarındaki dilüe edilen örneklerin antibakteriyel etki göstermediği, etanol ve Tween ile dilüe edilen örneklerin her dilüsyon oranında antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, ancak en yüksek zon çapının Tween’de görüldüğü sonucuna ulaşılmıştır. Bu verilere göre, sonuçları etkilemeyecek en güvenli çözücünün DMSO olduğu düşünülebilir. Bu sıralamayı etanol ve Tween takip etmektedir. Farklı değerlerin gözlenmesinde, sonuçları etkilemeyeceği düşünülen güvenli aralıklarda kullanılmış olsalar bile sahip oldukları kendi antibakteriyel aktiviteleri etkili olmuş olabilir. Bunun yanında her iki yağ için çözücü tipinin göstermiş olduğu etki sıralaması aynı olduğu halde zon çaplarının değerlerinin farklı olması, çözücülerin yağlarla etkileşime girme olasılıklarından kaynaklanıyor olduğu düşünülmüş ve çözücülerin etkinlikteki belirleyiciliklerini tespit etmek için yapılan ANOVA testi ile (Tablo 9) çözücülerin etkileşime neden oldukları istatistiksel olarak anlamlı olduğu kanıtlanmıştır ($p<0,001$).

Bu çalışmada kullanılan uçucu yağların antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirilmesinde yağların uçmasını ve agara difüze olmasını önlemek için disk-agar difüzyon yöntemi tercih edilmiştir, ancak bu yöntem dış macunu-yağ karışımlarının değerlendirilmesi için uygun değildir. Bu nedenle, dış macunlarının ve

diş macunu-uçucu yağ karışımlarının antibakteriyel etkilerini tespit etmek amacıyla kuyu-agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Disk-agar difüzyon yönteminin bir varyasyonu olan bu yöntem, bazı ülkelerde disklerin çok pahalı olmaları nedeniyle kullanımlarının sınırlı olmasından dolayı Magaldi ve ark. tarafından geliştirilmiştir (Magaldi ve ark., 2004). Yöntemin uygulanışı disk-agar difüzyon yöntemine benzer olmakla birlikte, materyaller disklere değil, agar üzerinde açılmış belirli bir standarda sahip kuyucuklar içerisine uygulanmakta olduğu bir yöntemdir. Bazı araştırmacılar çeşitli materyallerin antibakteriyel etkinliklerini tespit etmek için bu yöntemi kullanmışlardır. Beş adet uçucu yağın besin patojenleri olan *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni* üzerindeki antibakteriyel etkilerinin değerlendirildiği çalışmada, duyarlılığı belirlemek için bu yöntem kullanılmıştır (Pesavento ve ark., 2015). *Ocimum basilicum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Foeniculum vulgare*, *Citrus hystrix*, *Piper nigrum*, *Mentha piperita* ve *Mentha spicata* bitkilerinden elde edilen yağların, kariyojenik bakteriler olan *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus casei* üzerindeki antibakteriyel özelliğini tespit etmek için yine bu yöntemi uygulamışlardır (Wiwattanarattanabut ve ark., 2017). Bu çalışmada Magaldi'nin yöntemini kullanmamız için bir başka sebep olarak, diş macunu-yağ karışımlarının disk tarafından homojen bir şekilde absorbe olduğundan emin olmak istenilmesi gösterilebilir.

Yapılan çalışmada kullanılan bitkisel içerikli diş macunlarından birisi olan Splat Organic, uçucu yağlar katılmadan önce pozitif kontrol grubu olan Colgate Total ile aynı etkiyi ($12 \text{ mm} \pm 0.00 \text{ mm}$) göstermiştir. Splat Organic; *Aloe barbadensis* Mill. (*Aloe vera* Mill) jeli, papain ve *Melaleuca alternifolia* (Maiden et Betche) Cheel (*M. alternifolia*) ekstresi içermektedir. *Aloe vera*, Liliaceae familyasına ait oldukça bilinen tıbbi bir bitkidir. Yapılan *in-vivo* ve *in-vitro* çalışmalarda, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antioksidan, bağışıklığı güçlendirici ve hipoglisemik özelliklerini içeren farmakolojik aktiviteleri kanıtlanmıştır (Anderson, 1996; Reynolds ve Dweck, 1999; Vogler ve Ernst, 1999; Pandey ve Mishra, 2010; Ndhalala ve ark., 2009). *Aloe vera* içerikli popüler bir ticari diş macununun etkilerinin değerlendirildiği *in-vitro* bir çalışmada, diş macununun *S. mutans*, *C. albicans*, *S. sanguis* ve *A. viscosus* büyümesini kontrol altına alabildiği

gösterilmiştir (Fani ve Kohanteb, 2012). *Aloe vera* jelinin özellikle *S. mitis* (Lee ve ark., 2004) ve *S. mutans* (Fani ve Kohanteb, 2012) üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir. Altı ay süren randomize bir klinik çalışmada, aloe vera jeli içeren bir diş macunu kullanılarak 6., 12. ve 24. haftalarda ölçümler yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Bu süre boyunca, gingival ve plak indeks skorlarında azalma meydana gelmiş ve mikroorganizma sayısı anlamlı derecede bir düşüş gözlenmiştir (George ve ark., 2009).

Papain, papaya (*Carica papaya* L.) bitkisinden elde edilen ve tüm papaya ürünleri arasında en güçlü etkiye sahip olan bir enzimdir (Mahmood ve ark., 2005; Basting ve ark., 2016). Papain, amino asitlere karşı göstermiş olduğu proteolitik aktivite nedeniyle, gıda ve tıp sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır (Gartika ve ark., 2014). Papain içerikli materyaller, *S. mutans* biyofilmine karşı kullanıldıklarında, başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Mahmood ve ark., 2005; Silva ve ark., 2016).

“Çay ağacı” olarak bilinen *Malaleuca alternifolia* bitkisinin antibakteriyel etkinliğinden çok uzun yıllardan beri yararlanılmaktadır. Yapılan değişik çalışmalarda, *M. alternifolia* bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve yağın temel bileşenlerinin sahip oldukları geniş spektrum nedeniyle, *A. actinomycetemcomitans*, *S. gordonii* ve *S. mutans*’ı da içeren gram pozitif ve gram negatif bakterilerin oluşturduğu patojenik flora üzerinde oldukça güçlü bir etkilerinin olduğu gözlenmiştir (Nikolić ve ark., 2017; Casarin ve ark., 2018). Bu bilgilere göre, Splat Organic’in göstermiş olduğu antibakteriyel aktivitenin, içerdiği *Aloe vera*, papain ve *M. alternifolia*’dan kaynaklandığı söylenebilir.

Splat Biocalcium, florür, triklosan, klorheksidin ve alkol gibi herhangi bir koruyucu içermemektedir. İçeriğinde hidroksiapatit ve Splat Organic’te olduğu gibi papain bulunmaktadır. Pozitif kontrol grubuna benzer olarak göstermiş olduğu aktivitenin içerdiği papainden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Jack N’ Jill, 0-3 yaş grubu bebek ve çocuklar için üretilmiş bir diş macunu olması nedeniyle, herhangi bir koruyucu ve aroma içermemektedir. Üretici firmanın belirttiğine göre *Calendula officinalis* L. (*C. officinalis*) içermektedir. Yapılan bir çalışmada, etanol içerikli bir gargara formuna katılan *C. officinalis*’in antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Haffajee ve ark., 2008). Ancak gargaranın göstermiş

olduğu antibakteriyel aktivitenin, çözücü olarak kullanılan etanolden de kaynaklanmış olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durum, *C. officinalis* içerdiği halde, uçucu yağ ilave edilmeden önce çözücü olarak herhangi bir madde ihtiva etmeyen Jack N' Jill'in hiçbir antimikrobiyal etkinlik göstermemesinin açıklaması olabilir. Jack N' Jill'in içerisinde, doğal olarak pek çok bitkiden elde edilebilen ve Amerika Birleşik Devletleri'nin gıda, ilaç vb. ürünlerinin standardizasyonunu sağlayan kuruluşu olan "US Food and Drug Administration" tarafından 1963 yılından beri tatlandırıcı olarak kullanımı önerilen ksilitol bulunmaktadır. Ksilitol, oral mikroorganizmalar tarafından fermente edilememektedir. Yapılan farklı çalışmalarda, ksilitolün plak ve tükürük biyofilmi içerisindeki *S. mutans* seviyesini ve diş çürüğü gelişimini anlamlı derecede azalttığı kanıtlanmıştır (Ghasemi ve ark., 2017; Oza ve ark., 2018). Ancak, ksilitolün madde içerisine katılma oranı antibakteriyel etkiyi değiştirebilmektedir. Yapılmış olan bir çalışmaya göre, belirli bir eşik değerin altında ilave edilen ksilitol, herhangi bir antimikrobiyal etkiye neden olmadığı belirtilmiştir (Eskandarian ve ark., 2017). Araştırma sonuçlarımıza göre uçucu yağlar ilave edilmemiş Jack N' Jill diş macununun hiçbir antibakteriyel etki göstermemesinin nedeninin, içerisine eşik değerinin altında bir oranda katılmış olan ksilitol olabileceği düşünülmektedir.

Bhattacharjee ve ark., farklı özelliklere sahip diş macunlarını karşılaştırmış ve bitkisel içerikli diş macunlarının florür ve triklosan içerikli diş macunlarına oranla daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiğini rapor etmiştir (Bhattacharjee ve ark., 2018). Yapılan tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre, test edilen bitkisel diş macunlarından Splat Organic ve Splat Biocalcium, uçucu yağlar ilave edilmeden önce, pozitif kontrol grubu olan Colgate Total ile benzer aktivite göstermiştir. Bu durum, diş macunlarının antibakteriyel aktivite göstermesini sağlayan tek faktörün, içeriklerinde bulunan florür olmadığını düşündürmektedir (Tablo 5).

Çalışmada kullanılan, Yeşilirmak bölgesinde doğal olarak yetişen *O. dubium* bitkisinden ve *C. cassia* kabuklarından elde edilen uçucu yağlar, *S. mutans*'a karşı antibakteriyel etkinlik göstermişlerdir. Diş macunlarına ilave edildiklerinde de DMSO ile çözündürülmüş *O. dubium* uçucu yağının Splat Organic ve Splat Biocalcium diş macunlarının etkinliklerini iki katına, *C. cassia* uçucu yağının ise üç katına çıkarttığı gözlenmiştir. Başlangıçta herhangi bir antibakteriyel aktiviteye sahip

olmayan Jack N' Jill ise, uçucu yağların ilave edilmesiyle şaşırtıcı bir şekilde aktivite kazanarak, her iki yağ için de diş macunu-uçucu yağ kombinasyonlarında en geniş inhibisyon zonunu göstermiştir (Tablo 6). Bu duruma uçucu yağların etken maddeleri olan karvakrol ve sinemik aldehitin *C. officinalis* ile etkileşime girmesinin neden olduğu düşünülmektedir. Tween ile çözündürülmüş gruplar değerlendirildiğinde, *O. dubium* uçucu yağı, Splat Organic'in zon çapının 1,5 katına çıkmasına, Splat Biocalcium'un ise 1,3 katına çıkmasına neden olmuştur. *C.cassia* uçucu yağı ise diş macunları için etkiyi sırasıyla 3 ve 4 katına çıkartmıştır. Tüm gruplar birarada değerlendirildiğinde en iyi antibakteriyel etki gösteren grup Splat Biocalcium-*C. cassia* uçucu yağı ve Tween kombinasyonu (42.33 ± 0.58 mm), en zayıf antibakteriyel etki gösteren grup ise Jack N' Jill-*O. dubium* uçucu yağı ve Tween kombinasyonu (15.00 ± 0.00 mm) olarak tespit edilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi her ne kadar çözücülerin macun-yağ karışımlarına ilave edilecekleri oranlarının belirlenmesinde, malzemelerin antibakteriyel aktivitelerini etkilememek amacıyla çözücüler için literatürde belirtilen oranlar göz önüne alınsa da, her çözücü için elde edilen zon çapı değerlerindeki farklılıkların, çözücülerin kendi antibakteriyel aktivitelerinin de farklı olmasından ve çözücülerle diş macunlarının içerisindeki etken maddelerin etkileşimlerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan “Tests of Between Subjects Effects” testinden (Tablo 7), macunların kendi aralarında etkileşimlerinin kıyaslandığı varyans analizi ANOVA testlerinden (Tablo 8) ve çözücülerin kendi aralarında etkileşimlerinin kıyaslandığı varyans analizi ANOVA testlerinden (Tablo 9) elde edilen veriler, tüm bileşenler arasında etkileşim olduğunu kanıtlamaktadır ($p < 0,001$).

Literatürde florürlü diş macunları ile bitkisel diş macunlarının etkinliklerini karşılaştıran bazı çalışmalar bulunmakla birlikte (Randall ve ark., 2015; Bhattacharjee ve ark., 2018), çalışmada kullanılan bitkisel diş macunları ile daha önce yapılmış herhangi bir araştırma bulunamamıştır. Literatür gözden geçirildiğinde, ağızda bulunan farklı bakteriler üzerinde etkili olabileceği düşünülen bazı uçucu yağların genellikle ağız gargaralarına ilave edildiği görülmüştür (Fine ve ark., 2000; Albuquerque ve ark., 2018). 2012 yılında *Thymus vulgaris* uçucu yağının *S. mutans* üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı; bir test diş macununa uçucu bir yağ ilave edilerek renk, koku ve diş

macununun genel görünümü açısından değerlendirmek ve yeni bir diş macunu formülü geliştirebilmek olmuştur (Gonçalves ve ark., 2012). Bununla birlikte, çalışmada kullanılan *O. dubium* ve *C. cassia* uçucu yağlarının bitkisel diş macunlarına ilave edildiği ve *S. mutans* üzerindeki etkisinin değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle çalışmadan elde edilen sonuçlar, başka çalışmalar ile kıyaslanamamıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Uçucu yağ ilave edilmiş bitkisel içerikli diş macunlarının *S. mutans* üzerindeki antibakteriyel aktivitesinin değerlendirildiği çalışmamızın sınırları dahilinde, aşağıdaki sonuçlar ortaya çıkmıştır:

O. dubium ve *C. cassia* uçucu yağları *S. mutans* üzerinde antibakteriyel etki göstermektedir. *C. cassia* uçucu yağının etkinliğinin *O. dubium* uçucu yağından daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Uçucu yağların çözücü kullanılmayan saf formları plaklarda yüksek oranda hemoliz meydana getirmiştir. Bu durum saf formlarının sitotoksik olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle yağlar saf olarak kullanılmamalıdır.

1. Uçucu yağların zararlı etkilerinin önlenmesi ve yağların doğru bir şekilde incelenebilmesi amacıyla birtakım çözücülere ihtiyaç duyulmaktadır. Kendi başlarına da antibakteriyel etkinlik gösterebilen bu çözücülerin, sonuçları etkilemeyecek ideal oranları belirlenmeli ve çalışmaya bu oranlar dahilinde ilave edilmelilerdir.
2. Kullanılan çözücülerden DMSO'nun, diğer çözücüler ile kıyaslandığında, kendi başına gösterdiği antibakteriyel aktivitenin en az olması sebebiyle en güvenilir çözücü olduğu söylenebilir.
3. Yağlar dilüe edildikçe etkinlikleri azalmaktadır.
4. Bitkisel diş macunlarından Splat Organic, uçucu yağ ilave edilmeden önce pozitif kontrol grubu olan florür içerikli diş macunu Colgate Total ile aynı inhibisyon zon çapı değerini göstermiştir. Bu durum, diş çürükleri ile mücadelede bitkisel içerikli diş macunlarının da florürlü diş macunları kadar etkili olabildiğini göstermektedir.
5. Jack N' Jill, bebek ve çocuklar için üretilmiş bir diş macunu olması sebebiyle, herhangi bir aroma, koruyucu ve çözücü içermediğinden dolayı tek başına antibakteriyel özellik göstermemektedir.
6. Test edilen tüm diş macunları, uçucu yağ ilave edildikten sonra daha yüksek değerlerde inhibisyon zon çapı göstermiştir. En yüksek etkiyi *C. cassia* uçucu

yağı içeren diş macunları göstermiş, bunlardan en etkili olan gruplar; DMSO ve etanol ile çözdürülen gruplar için Jack N' Jill-*C. cassia* uçucu yağı kombinasyonu, Tween ile çözdürülen grup için ise Splat Biocalcium-*C. cassia* uçucu yağı kombinasyonu olarak bulunmuştur. Tüm macun-uçucu yağ ve çözücü kombinasyonları arasında en yüksek etkiyi Splat Biocalcium-*C. cassia*-Tween grubu göstermiştir.

7. Tween ile çözdürülmüş gruplar değerlendirildiğinde, *O. dubium* uçucu yağı, Splat Organic'in göstermiş olduğu etkinin 1,5 katına çıkmasına, Splat Biocalcium'un ise 1,3 katına çıkmasına neden olmuştur. *C.cassia* uçucu yağı ise diş macunları için etkiyi sırasıyla 3 ve 4 katına çıkartmıştır.
8. Çözücüler, macunlar ve yağlar birlikte değerlendirildiğinde gözlenen farkın, kullanılan materyallerin etkileşiminden kaynaklandığı sonucuna varılmışır.

Sonuç olarak, diş çürüğü ile mücadelede, ağız ve diş sağlığı ürünlerine uçucu yağ ilave edilmesi ve florür gibi ağır kimyasal içeren materyallere alternatif olarak bitkisel bazlı ürünlerin kullanılması olumlu sonuçlar vermektedir.

Çalışmamızın gerçekleştirildiği koşullar, macunların klinik kullanım potansiyellerini tam olarak yansıtamamaktadır. Çekilmiş dişler üzerinde yapılacak bazı çalışmalar, yaptığımız çalışmanın sonuçlarını desteklemek açısından yararlı olacaktır. *in-vitro* çalışmalardan elde edilecek sonuçların ışığında klinik şartlarda da çalışmalar planlanabilecektir. Tedavinin etkinliğini belirlemek için uzun dönem bağımsız klinik çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Antibakteriyel etkinliği olduğu tarafımızdan kanıtlanmış bu diş macunu-yağ kombinasyonlarının, ağız ve diş sağlığını oluşturan remineralizasyon, beyazlatma, hassasiyet giderme gibi diğer bileşenleri için de etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmalar yapılması gerekmektedir. Daha ileride yapılacak olan çalışmalarda, çalışmada kullanılan uçucu yağların, insan oral mukoza hücrelerinde yapacağı etkiler konusunun da araştırılması ve uygun oranda uçucu yağ ilave edilmiş diş macunlarının geliştirilmesi diş çürüğünün önlenmesi bakımından önemli bir adım olacaktır.

7. KAYNAKLAR

Acar İ. Defne Yaprığı ve Yaprak Eterik Yağının Üretilmesi ve Değerlendirilmesi. Teknik Bülten Serisi. No: 186: Ormancılık Araş. Enst. Yayınları; 1987, p:7-8

Aktaş A, Giray B. Diş Hekimliğinde Klorheksidin: Özellikleri ve güncel kullanım alanları. Türkiye Klinikleri J Dental Sci. 2010, 16: 51-58.

Aktaş A, Giray B, Aktaş G. Tükürük (Salya); Özellikleri ve görevleri tanı açısından değeri. ADO Klinik Bilimler Dergisi2009;3: 361-367.

Albuquerque YE, Danelon M, Salvador MJ, Koga-Ito C, Botazzo Delbem AC, Ramirez-Rueda RY, Lacerda Guntijo AV, Brighenti FL. Mouthwash containing Croton doctoris essential oil: In vitro study using a validated model of caries induction. Future Microbiol. 2018; 13:631–643.

Al-Mariri A, Safi M. In vitro antibacterial activity of several plant extracts and oils against some gram-negative bacteria. Iran J Med Sci.2014; 39: 36–43.

Al-Quran, S. Ethnobotanical survey of folk toxic plants in southern part of Jordan. Toxicon2005; 46: 119–129.

Alvarez MV, Ortega-Ramirez LA, Gutierrez-Pacheco MM, Bernal-Mercado AT, Rodriguez-Garcia, I, Gonzalez-Aguilar GA, Ponce A, del Remoreina M, Roura SI, Ayala-Zavala JF. Oregano essential oil-pectin edible films as anti-quorum sensing and food antimicrobial agents. Front Microbiol.2014; 5: 699.

Anderson LA. Concern regarding herbal toxicities: Case reports and counseling tips. Ann Pharmacother.1996; 30: 79–80.

Aneja KR, Joshi R, Sharma C. Antimicrobial activity of Dalchini (Cinnamomum zeylanicum bark) extracts on some dental caries pathogens. J Pharm Res.2009; 2: 1387–1390.

Angioni A, Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of Lavandula stoechas L. ssp. stoechas essential oils from stem/leaves and flowers. J Agric Food Chem. 2006; 54: 4364–4370.

Archer AW. Determination of cinnamaldehyde, coumarin and cinnamyl alcohol in cinnamon and Cassia by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr. 1988;447: 272–276.

Arnold N, Bellomaria B, Valentini G, Arnold HJ. Comparative study of the essential oils from three species of Origanum growing wild in the eastern Mediterranean region. J Essent Oil Res.1993; 5: 71–77.

Aslim B, Yucel N. In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. *Food Chem.*2008; 107:602–606.

Axelsson P. *Diagnosis and Risk Detection of Dental Caries.* Germany: Quintessence Pub;2000,p:179-247.

Axelsson P. *Diagnosis and risk prediction of dental caries* 2nd ed. Germany: Quintessence Publishing Company;2001.

Aydın M, Koyuncuoğlu, CZ, Kılboz MM, Akıcı A. *Diş Hekimliğinde Akılcı Antibiyotik Kullanımı.* *Turkiye Klinikleri J Dental Sci.* 2017; 23: 33-47.

Azcan N, Kara M, Asilbekova DT, Ozek T, Baser KHC. Lipids and Essential oil of *Origanum onites* L. *Chem Nat Comp.* 2000; 36: 132-136.

Baehni PC, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis.*2003; 9: 23–29.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils- A review. *Food Chem Toxicol.*2008; 46: 446- 475.

Bakke R, Trulear MG, Robinson JA, Characklis WG. Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms: steady state. *Biotechnol Bioeng.* 1984; 26: 1418–1424.

Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis* 2016; 6: 71-79.

Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.* 2005; 78: 431–441.

Barnes NA, Arnold PT. Investigation of Antibacterial Effects of Southern Appalachian Plants: *Phytolacca americana* and *Juglans nigra* on Selected Bacteria. *Ga J Sci.*2018; 76: 45.

Baser KHC, Kirimer N, Tumen G. Composition of the Essential Oil of *Origanum majorana* L. from Turkey. *J Essent Oil Res.* 1993; 5: 577-579.

Baser KHC. The Turkish *Origanum* Species. In: Kintzios SE, eds. *Oregano, the Genera Origanum and Lippia.* London: Taylor and Francis; 2002.

Basting RT, Gonçalves FR, França FMG, do Amaral FLB, Flório FM. Antimicrobial potential of papain chemomechanical agent on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* followed by the use of self-etching adhesive systems. *J Clin Pediatr Dent.*2016; 40: 62–68.

Baydar H. Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P.H. Davis)’nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*2005; 18: 175-178.

Baytop A. *Farmasötik Botanik.* 4. ilaveli Baskı. İstanbul: İ.Ü. Yayınları, Dilek Matbaası;1983.

Berber I, Avsar C, Cine N, Bozkurt N, Elmas E. Determination of antibacterial and antifungal activities of methanolic extracts of some plants growing in Sinop. *Karaelmas Sci Eng J*.2013; 3: 10–16.

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Oral anatomy, embryology and histology. Missouri: Mosby Incorporated;2002;p: 101-118

Bhattacharjee S, Nath S, Bhattacharjee P, Chouhan M, Deb B. Efficacy of Toothpastes on Bacteria Isolated from Oral Cavity. *Int J Med Sci Public Health*.2018;8: 89-92.

Blechman H, Courant PR, Hoffman H, Kleinberg I, Nolte W, Rosen S. Oral microbiology. 4th ed. Çeviren: Anığ Ö. Ağız Mikrobiyolojisi. İkinci Baskı. İÜ Tıp Fakültesi Yayınları, Çeliker Matbaacılık, İstanbul; 1981, s. 440-442.

Botelho MA, Nogueira NA, Bastos GM, Fonseca SG, Lemos TL, Matos FJ, Montenegro D, Heukelbach J, Rao VS, Brito GA. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippiasidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz J Med Biol Res*.2007;40: 349–356.

Bounatirou S, Smiti S, Miguel MG, Faleiro L, Rejeb MN, Neffati M, Pedro LG. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oils Isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Science Direct Food Chem*.2007; 105: 146-155.

Boyd LD, lampi KJ. Importance of nutrition for optimum health of the periodontium. *J Contemp Dent Pract*.2001; 2: 1-14.

Braga AS, Degand GB, Pires JG, Santos DMSD, Magalhães AC. Effect of oral antimicrobial mouthrinses containing alcohol on viability of *Streptococcus mutans* and microcosm biofilm and on the prevention of enamel caries lesions. *Am J Dent*.2018; 31: 121-125.

Brierley SM, Kelber O. Use of natural products in gastrointestinal therapies. *Curr Opin Pharmacol*.2011; 11: 604–611.

Budavari S, O'Neill M, Smith A, Heckelman P, Kinneary L eds. The Merck Index. 12th ed. New York: Chapman and Hall; 1997.

Burnett GW, Schuster GS. Oral microbiology and infectious disease. Philadelphia: Williams & Wilkins Company; 1978.

Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004;94: 223–253.

Busatta C, Barbosa J, Cardoso RI, Paroul N, Rodrigues M, de Oliveira D, de Oliveira JV, Cansian RL. Chemical profiles of essential oils of marjoram (*Origanum majorana*) and oregano (*Origanum vulgare*) obtained by hydrodistillation and supercritical CO₂. *Journal of Essential Oil Research*2017; 29: 367-374.

Calsamiglia M, Busquet PW, Cardozo L, Castillejos L, Ferret A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*.2007; 90: 2580–2595.

Can CD. Diş Macunu Fonksiyonlarının İncelenmesi. Ankara: Ankara Üniversitesi; 1999, p. 1-18.

Carnelio S, Khan, SA, Rodrigues G. Definite, probable or dubious: antioxidants trilogy in clinical dentistry. Br Dent J.2008;204: 29-32.

Casarin M, Pazinato J, Santos RCV, Zanatta FB. Melaleuca alternifolia and its application against dental plaque and periodontal diseases: A systematic review. Phytother Res.2018; 32: 230–242.

Ceylan A. Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri). Bornova: E.Ü.Z.F. Yayınları No:481; 1997, s.306.

Chaudhari LKD, Jawale BA, Kumar HSCDM, Kulkarni PA. Antimicrobial activity of commercially available essential oils against Streptococcus mutans. J. Contemp Dent Pract.2012; 13: 71–74.

Chaudhry NMA, Tariq P. Anti-microbial activity of Cinnamomum cassia against diverse microbial flora with its nutritional and medicinal impacts. Pak J Bot.2006; 38: 169–174.

Chishti S, Kaloo ZA, Sultan P. Medicinal Importance of Genus Origanum: A review. Academic Journals2013; 5: 170-177.

Chitme HR, Chandra R, Kaushik S. Studies on anti-diarrhoeal activity of Calotropis giganteaRBR in experimental animals. J Pharm Pharm Sci.2004;7: 70-75.

Choi O, Cho SK, Kim J, Park CG, Kim J. In vitro antibacterial activity and major bioactive components of Cinnamomum verum essential oils against cariogenic bacteria, Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus. Asian Pac J Trop Biomed.2016; 6: 308–314.

Chow AW. Infections of the oral cavity, neck, and head. In: Bennet JE, Dolin R, Blaser MJ eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th ed. Philadelphia: Elsevier, Saunders; 2015, p.789-805.

Chow LC, Vogel GL. Enhancing remineralization. Oper Dent.2001;2001: 27-38.

Cleff MB, Meinerz AR, Xavier M., Schuch LF, Meireles MCA, Rodrigues MRA, Mello JRBD. In vitro activity of Origanum vulgare essential oil against Candida species. Braz J Microbiol.2010;41: 116-123.

Cole AS, Eastoe JE. The oral environment. Biochemistry and oral Biology. London: Wright;1988, p. 475-489.

Committee on Medical and Nutritional Aspects of Food Policy. Department of Health: Dietary Sugars and Human Disease. Report on Health and Social Subjects 37. London: Her Majesty's Stationery Office, UK, 1989.

Couladis M, Özcan M, Tzakou O, Akgül A, 2002. Menengiç (Pistacia terebinthus L.) ağacının değişik organlarında uçucu yağ bileşimi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs, Eskişehir, Bildiriler Kitabı2002; s:240-245. ISBN 975- 94077-2-8.

Çelen, S. Türkiye’de Yayılış Gösteren Dört Thymus Türünün Uçucu Yağ Bileşimleri, Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2006, Balıkesir (Danışman: Doç. Dr. AD Azaz)

Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. J Agric Food Chem.2000; 48: 2576–2581.

Davis PH, Mill RR, Tan K. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 10 (Supplement), Edinburgh: University Press; 1988.

De Souza EL, de Barros JC, de Oliveira CEV, da Conceição ML. Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. Int J Food Microbiol.2010;137: 308–311.

Denton GW. Chlorhexidine. In: Block SS, ed. Disinfection, Sterilization, and Preservation. 4th ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1991, p.274-89.

Desoet JJ, Holbrook WP, Vanamerongen WE, Schipper E, Homburg CHE, Degraaff J. Prevalence of *Streptococcus-Sobrinus* in Relation to Dental-Caries in Children from Iceland and the Netherlands. J Dent Child.1990; 57: 337-342.

Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/ FAO Expert Consultation. WHO Technical Report 916. World Health Organ Tech Rep Ser. 2003;916:i-viii, 1-149.

Dirmenci, T. Türkiye’de yetişen *Nepeta* L.(Lamiaceae) Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2003, Balıkesir (Danışman: Prof. Dr. B Yıldız)

Donsi F, Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. J Biotechnol.2016; 233: 106–120.

Drewnowski A, Popkin B. The nutrition transition: new trends in the global diet. Nutr Rev. 1997; 55: 31-43.

Eley BM. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque review. Br Dent J.1999; 186: 286-296.

Ellison SJ. The role of phenoxymethyl penicillin, amoxicillin, metronidazole and clindamycin in the management of acute dentoalveolar abscesses-a review. Br Dent J.2009; 206: 357-362.

Ercan E, Özekinci T, Atakul F. Beş Farklı Ağız Gargarasının Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi. Ondokuz Mayıs Üniv Diş Hekim Fak Derg.2004; 5: 143-147.

Esen, G. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Ietswaart’un Doğal ve Kültür Forumlarından Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimleri ve Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2005, Balıkesir (Danışman: Doç. Dr. AD Azaz).

Eskandarian T, Motamedifar M, Arasteh P, Eghbali SS, Adib A, Abdoli Z. Comparison of antimicrobial effects of titanium tetrafluoride, chlorhexidine, xylitol and sodium fluoride on *Streptococcus mutans*: An in-vitro study. *Electron Phys.*2017; 9: 4042–4047.

ESO 2000. The Complete Database of Essential Oils. Huizen: Boelens Aroma Chemical Information Service; 1999.

Essawi T, Srouf M, Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol.*2000; 70: 343- 349.

Esteves I, Souza IR, Rodrigues M, Cardoso LG, Santos LS, Sertie JA, Perazzo FF, Lima LM, Schneedorf JM, Bastos JK, Carvalho JC. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *J Ethnopharmacol.*2005;101: 191-196.

Evans WC. Trease and Evans pharmacognosy. 13th Ed. London: Bailliere Tindall;1989.

Faleiro ML, Miguel MG, Ladeiro F, Venâncio F, Tavares R, Brito JC, Pedro LG. Antimicrobial Activity of Essential Oils Isolated From Portuguese Endemic Species of *Thymus*. *Lett Appl Microbiol.*2003;36: 35-40.

Falzon CC, Balabanova, A. Phytotherapy: An introduction to herbal medicine. *Prim Care.*2017; 44: 217-227.

Fani M, Kohanteb J. Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. *J Oral Sci.*2012; 54: 15–21.

Farag RS, Daw ZY, Abo-Raya SH. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *J Food Sci.*1989; 54: 74-76.

Featherstone JDB. The Continuum of Dental Caries—Evidence for a Dynamic Disease Process. *J Dent Res.*2004; 83 (Spec Iss): C39-42.

Fine DH, Furgang D, Barnett ML, Drew C, Steinberg L, Charles CH, Vincent JW. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on plaque and salivary *Streptococcus mutans* levels. *J Clin Periodontol.*2000;27: 157-161.

Fischman SL, Yankell SL. Dentifrices, Mouthrinses and Chewing Gums. In: Harris NO, Garcia-Godoy F, editors. *Primary Preventive Dentistry*. New Jersey: Prentice Hall; 2004, p. 119-136.

Fischman SL. The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol*2000.1997;15: 7-14.

Flemmig TF, Beikler T. Control of oral biofilms. *Periodontology* 2000.2011; 55: 9-15.

Forward GC, James AH, Barnett P, Jackson RJ. Gum health product formulations: what is in them and why? *Periodontol*2000.1997; 15: 32-39.

Fosdick LS, Starke Jr AC. Solubility of Tooth Enamel in Saliva at Various pH Levels. *J Dent Res.*1939; 18: 417-429.

Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan VV, Eden, E. Minimal intervention dentistry for managing dental caries—a review. *Int Dent J.*2012; 62: 223-243.

Furletti VF, Teixeira IP, Obando-Pereda G, Mardegan RC, Sartoratto A, Figueira GM, Duarte RM, Rehder VL, Duarte MC, Höfling JF. Action of *Coriandrum sativum* L. essential oil upon oral *Candida albicans* biofilm formation. *Evid Based Complement Alternat Med.*2011; 2011, 985832.

Gammal SYE. Extraction of volatile oils throughout history, *Hamdard Medicus*1991, 34.

Ganzberg S, Pape RA, Beck FM. Remifentanyl for use during conscious sedation in outpatient oral surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 244-250.

García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc*2008;139: 25-34.

Gartika M, Sasmita IS, Satari MH, Chairulfattah A, Hilmanto D. Antibacterial activity of papain against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Int J Dev Res.*2014; 4: 2075–2077.

George D, Bhat SS, Antony B. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of Aloe vera tooth gel and two popular commercial toothpastes: An in vitro study. *Gen Dent.*2009; 57: 238–241.

Ghasemi E, Mazaheri R, Tahmourespour A. Effect of probiotic yogurt and xylitol-containing chewing gums on salivary *S. mutans* count. *J Clin Pediatr Dent.*2017; 41: 257–263.

Gilbert P, Das J, Foley I. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Adv Dent Res.*1997; 11: 160–167.

Gonçalves G, Bottaro M, Nilson, AC. Effect of the *Thymus vulgaris* essential oil on the growth of *Streptococcus mutans*. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*2012;32: 375–380.

Groppo FC, Bergamaschi Cde C, Cogo K, Franz-Montan M, Motta RH, de Andrade ED. Use of phytotherapy in dentistry. *Phytother Res* 2008;22: 993-998.

Guner A, Ozhatay N, Ekim T, Baser KHC. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 11 (Suppl 2). Edinburgh: University Press; 2000.

Guzmán-Blanco, M., Casellas, J. M., & Sader, H. S. (2000). Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America: The giant is awakening. *Infect Dis Clin North Am.*2000;14: 67-81.

Gür D. Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2016;46(Sppl.): 2-10.

Habibi E, Shokrzadeh M, Chabra A, Naghshvar, F, Keshavarz-Maleki R, Ahmadi A. Protective effects of *Origanum vulgare* ethanol extract against cyclophosphamide-induced liver toxicity in mice. *Pharm Biol.*2015;53: 10-15.

Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. *J Am Dent Assoc.*2008;139: 606–611.

Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci* 2005;113: 2–13.

Harries N, James KC, Pugh, WK. Antifoaming and carminative actions of volatile oil. *J Clin Pharmacol.*1978;2: 171–177.

Hernandez-Hernandez E, Regalado-Gonzalez C, Vazquez-Landaverde P, Guerrero-Legarreta I, García-Almendarez BE. Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* HBK) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *Sci World J.*2014; 2014: 641814.

Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent.*2004;28: 119-124.

Hili P, Evans CS, Veness RG. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Appl Environ Microbiol.*1997;24: 269–275.

Holyroyd SV. Drugs in periodontal therapy. In: Goldman HM, Cohen W. *Periodontal therapy*. 6th ed., St. Louis: The C.V. Mosby Company London. 1980. p: 637-40.

Hoş tatlar, Acılar ve Kokular, Baharat Atlası Özel Koleksiyon Atlas Keşif Kitaplığı. İstanbul: Doğan Burada Dergi Yayınları; 2009, s.19

Houghton PJ. The scientific basis for the reputed activity of Valerian. *J Pharm Pharmacol.*1999;51: 505-512.

Hugo WB, Longworth AR. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol.* 1966;18: 569-578.

Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front.Microbiol.*2012; 3:12.

Ismail AI, Hasson H, Sohn W. Dental caries in the second millennium. *J Dent Educ.*2001; 65: 953-959.

Jansen Van Rensburg BG. *Saliva. Oral Biology*. Berlin: Quintessence Publishing Co Inc.;1995,p. 425-478.

Jennings RE. Preventive dentistry. In: Peterson S. Clinical dental hygiene. 4th ed., London: CV Mosby Company; 1972, p. 110-114.

Jeyaratnam N, Nour AH, Kanthasamy R, Nour AH, Yuvaraj AR, Akindoyo JO. Essential oil from *Cinnamomum cassia* bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. *Ind Crops Prod*.2016; 92: 57-66.

Joulain D, Koenig WA. The Atlas of Spectra Data of Sesquiterpene Hydrocarbons; Hamburg: EB-Verlag; 1998.

Kandemir S, Ergül N. Grievances in cases using antibiotics due to orodental problems and assessment of the need for antibiotics. *Int Dent J* 2000;50: 73-77.

Karabay O, Hosoglu S. Increased antimicrobial consumption following reimbursement reform in Turkey. *J Antimicrob Chemother*.2008;61: 1169-1171.

Karimi A, Min B, Brownmiller C, Lee SO. Effects of extraction techniques on total phenolic content and antioxidant capacities of two oregano leaves. *Journal of Food Research*2014; 4: 112-123.

Kashket S, Van Houte LR, Stocks S. Lack of correlation between food retention on the human dentition and consumer perception of food stickiness. *J Dent Res*.1991; 70: 1314-1319.

Kennedy DO, Little W, Scholey AB. Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of *Melissa officinalis* (Lemon Balm). *Psychosom Med*.2004;66: 607-613.

Keyes PH. Present and future measures for dental caries control. *J Am Dent Assoc*.1969;79: 1395-1404.

Kılıç A. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*2008; 10: 37-45.

Knoll-Köhler E, Stiebel J. Amine fluoride gel affects the viability and the generation of superoxide anions in human polymorphonuclear leukocytes: An in vitro study. *Eur J Oral Sci*.2002; 110: 296–301.

Koenig WA, Joulain D, Hochmuth DH. Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils. Mass Finder 3; Hamburg: EB-Verlag; 2004.

Koh KJ, Pearce AL, Marshman G, FinlayJones JJ, Hart PH. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br J Dermatol*.2002;147: 1212-1217.

Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol*2000.2006;42: 47–79.

Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresour Technol*.2008; 99: 8788-8795.

Koukoulitsa C, Hadjipavlou-Litina D, Geromichalos G, Skaltsa H. Inhibitory effect on soybean lipoxygenase and docking studies of some secondary metabolites, isolated from *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*. *J Enzyme Inhib Med Chem*.2007;22: 99–104.

Koukoulitsa C, Karioti A, Bergonzi MC, Pescitelli G, Di Bari L, Skaltsa H. Polar constituents from the aerial parts of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* growing wild in Greece. *J Agric Food Chem*.2006;54: 5388–5392.

Koukoulitsa C, Zika Ch, Geromichalos GD, Demopoulos VJ, Skaltsa H. Evaluation of aldose reductase inhibition and docking studies of some secondary metabolites, isolated from *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*. *Bioorg Med Chem*.2006a;14: 1653–1659.

Koukoulitsa C, Zika Ch, Geromichalos GD, Demopoulos VJ, Skaltsa H. Evaluation of aldose reductase inhibition and docking studies of some secondary metabolites, isolated from *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*. *Phytother Res*.2006b;20: 605–606.

Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Saiki Y, Yamamoto E, Nakamura S. Bac-teriologic features and antimicrobial susceptibility in isolates from orofacial odontogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;90: 600-608.

Lamont RJ, Demuth DR, Davis CA, Malamud D, Rosan B. Salivary-Agglutinin-Mediated Adherence of *Streptococcus-Mutans* to Early Plaque Bacteria Infect Immun.1991, 59: 3446-3450.

Lee SS, Zhang WU, Li Y. The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: Results of an in vitro diffusion method study. *J Am Dent Assoc*.2004, 135: 1133–1141.

Limoli DH, Jones CJ, Wozniak DJ. Bacterial extracellular polysaccharides in biofilm formation and function. *Microbiol spectr*.2015; 3.

Lindqvist B, Edward S, Torell P, Krasse B. Effect of different caries preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. *Scand J Dent Res*.1989; 97: 330- 337.

Lingstrom P, Moynihan P. Nutrition, saliva, and oral health. *Nutrition*2003, 19: 567-569.

Liolios CC, Gortzi O, Lalas S, Tsaknis J, Chinou I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chem*.2009; 112: 77–83.

Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun*.1979;26: 498–507.

Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*.1976;9: 65–107.

Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1986; 50: 353-380.

Löe H. Present day status and direction for future research on the etiology and prevention of periodontal disease. *J Periodontol.*1969;40: 678-682.

Magaldi S, Mata-Essayag S, De Capriles CH, Perez C, Colella MT, Olaizola C, Ontiveros, Y. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *Int J Infect Dis.* 2004; 8: 39–45.

Mahmood AA, Sidik K, Salmah I. Wound healing activity of *Carica papaya* L. aqueous leaf extract in rats. *Int J Mol Med.*2005;1: 398–401.

Mandel ID. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol.*1988;15: 488–498.

Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL, Moreno EC. Kinetics of enamel demineralization in vitro. *J Dent Res.*1999;78: 1326-1335.

Marinho VC, Higgins J, Logan S, Sheiham A. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst. Rev.*2003, CD002278.

Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology-Sgm.*2003;149: 279-294.

Marsh PD. Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *J Dent.*2010;38: S11-S15.

Marsh PD. Host defenses and microbial homeostasis: role of microbial interactions. *J Dent Res.*1989;68(Special issue): 1567–1575.

Masotti V, Juteau F, Bessiere JM, Viano J. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *J Agric Food Chem.*2003; 51: 7115–7121.

Mayooran B, Robin S, John RT. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J.*2000; 45: 235-245.

McClure FJ, Hewitt WL. The relation of penicillin to induced rat dental caries and oral *L. acidophilus*. *J Dent Res.*1946;25: 441-443.

McCullough MJ, Farah CS. The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol-containing mouthwashes. *Aust Dent J.*2008;53: 302–305.

McLafferty, F.W.; Stauffer, D.B. (Eds.)*The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*;J Wiley and Sons: Hoboken: USA; New York: Wiley Interscience Publication 1989.

Meyer-Warnod B. Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils. *Perfum.*1984;9: 93-104.

Monsan P, Bozonnet S, Albenne C, Joucla G, Willemot RM. Remaud-Simeon, M. Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int Dairy J.*2001; 11: 675-685.

Morris AJ, Steele J, White DA. Adult dental health survey: the oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. *Br Dent J.*2001;191: 186-192.

Moynihan PJ. The British Nutrition Foundation Oral Task Force report--issues relevant to dental health professionals. *Br Dent J.*2000; 188: 308-312.

Moynihan PJ, Petersen PE. Diet, nutrition and prevention of dental diseases. *Public Health Nutr.*2004; 7: 201-226.

Moynihan PJ. The role of diet and nutrition in the etiology and prevention of oral diseases. *Bull World Health Organ.*2005; 83: 694-969.

Moynihan PJ. The role of diet and nutrition in the etiology and prevention of oral diseases. *Bull World Health Organ.*2005; 83: 694-699.

Murdoch-Kinch, CA, McLean ME. Minimally invasive dentistry. *J Am Dent Assoc.*2003;134: 87-95.

Ndhkala AR, Amoo SO, Stafford GI, Finnie JF, Van Staden J. Antimicrobial, anti-inflammatory and mutagenic investigation of the South African tree Aloe (*Aloe barberae*). *J Ethnopharmacol.*2009; 124: 404–408.

Neumegen RA; Fernandez-Alba AR, Chisti Y. Toxicities of triclosan, phenol, and copper sulfate in activated sludge. *Environ Toxicol.*2005; 20: 160–164.

Newbrun E. Cariology, 3rd ed. Dental caries. Chicago: Quintessence Pub. Co.; 1989, p. 380-389.

Nikolić MM, Jovanović KK, Marković TL, Marković DL, Gligorić NN, Radulović SS, Kostić M, Glouclija JM, Soković MD. Antimicrobial synergism and cytotoxic properties of *Citrus limon* L., *Piper nigrum* L. and *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel essential oils. *J Pharm Pharmacol.*2017;69: 1606–1614.

Nizel AE, Papas A. Nutrition in clinical dentistry. 3rd ed. WB Saunders, Philadelphia; 1989, p. 31-49.

Nostro A, Blanco AR, Cannatelli MA, Enea V, Flamini G, Morelli I, Sudano Roccaro A, Alonzo, V. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiol Lett.*2004;230: 191-195.

Nun J. Nutrition and dietary challenges in oral health. *Nutrition*2001; 17: 426-427.

Oke F, Aslim B. Biological potentials and cytotoxicity of various extracts from endemic *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis. *Food Chem Toxicol.*2010;48: 1728–1733.

Olivier GW. The world market of oregano. In: Padulosi S, Oregano. Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI);1997, p: 142-145.

Ooi LS, Li Y, Kam SL, Wang H, Wong EY, Ooi VE. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. *Am J Chin Med*. 2006; 34: 511-522.

Oza S, Patel K, Bhosale S, Mitra R, Gupta R, Choudhary D. To determine the effect of chewing gum containing xylitol and sorbitol on mutans streptococci and Lactobacilli count in saliva, plaque, and gingival health and to compare the efficacy of chewing gums. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2018; 8: 354–360.

Özgülven M, Kırıcı S. Farklı ekolojilerde Nane (*Mentha*) türlerinin verim ile uçucu yağ oran ve bileşenlerin araştırılması. *Tr J of Agriculture and Forestry*. 1999; 23: 465-472.

Özkalp B, Sevgi F, Özcan M, Özcan MM. The antibacterial activity of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.). *J Food Agric Environ*. 2010; 8: 272–274.

Palombo EA. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: Potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 1-15.

Pandey R, Mishra A. Antibacterial activities of crude extract of *Aloe barbadensis* to clinically isolated bacterial pathogens. *Appl Biochem Biotechnol*. 2010; 160: 1356–1361.

Pannuti CM, Mattos JPD, Ranoya PN, Jesus AMD, Lotufo RFM, Romito GA. Clinical effect of a herbal dentifrice on the control of plaque and gingivitis: a double-blind study. *Braz Oral Res*. 2003; 17: 314-318.

Pannuti CS, Grinbaum RS. An overview of nosocomial infection control in Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1995; 16: 170-174.

Papas AS, Nizel AE. Nutrition in clinical dentistry. 3 nd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia; 1989, p. 36-48.

Pesavento G, Calonico C, Bilia AR, Barnabei M, Calesini F, Addona R, Mencarelli L, Carmagnini L, Di Martino MC, Nostro AL. Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*. 2015; 54: 188–199.

Petersen PE, Lennon MA. Effective use of fluorides for the prevention of dental Caries in the 21st century: the WHO approach. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2004; 32: 319-321.

Petersen PE. Sociobehavioural risk factors in dental caries–international perspectives. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2005; 33: 274-279.

Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century–the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003; 31: 3-24.

Pistorius A, Willershausen B, Steinmeier EM, Kreisler M. Efficacy of subgingival irrigation using herbal extracts on gingival inflammation. *J Periodontol*. 2003; 74: 616-622.

Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S. Guaijaverin—A plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *J Appl Microbiol.*2006;101:487–495.

Projan SJ, Youngman PJ. Antimicrobials: New solutions badly needed. *Curr Opin Microbiol.*2002; 5: 463–465.

Ranasinghe P, Jayawardana R, Galappaththy P, Constantine GR, de Vas Gunawardana N, Katulanda P. Efficacy and safety of ‘true’ cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as a pharmaceutical agent in diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabet Med.*2012;29: 1480–1492.

Randall JP, Seow WK, Walsh LJ. Antibacterial activity of fluoride compounds and herbal toothpastes on *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *Aust Dent J.*2015; 60: 368–374.

Rask PI, Emilson CG, Krasse B, Sundberg H. Effect of preventive measures in 50-60-year-olds with a high risk of dental caries. *Scand J Dent Res.*1988; 96: 500-504.

Rassem HH, Nour AH. Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. *Aust J Basic Appl Sci.*2016; 10: 117-127.

Reiter M, Brandt. W. Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. *Arzneimittelforschung.*1985; 35: 408–414.

Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis.*2009;49: 1749-1755.

Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel: A review update. *J Ethnopharmacol.*1999; 68: 3–37.

Ribeiro M, Malheiro J, Grenho L, Fernandes MH, Simões M. Cytotoxicity and antimicrobial action of selected phytochemicals against planktonic and sessile *Streptococcus mutans*. *Peer J.*2018; 6: e4872.

Ritz HL. Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Arch Oral Biol.*1967;12: 1561–1568.

Roberson TM, Heymann OH, Swift EJ. Sturdevant’s Art and Science of Operative Dentistry, Gürgan S, Yalcin Cakir F, 3. Bölüm: Karyoloji: Lezyon, Etiyoloji, Önleme ve Kontrol (Cariology: The Lesion, Etiology, Prevention and Control), Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2010, p. 67- 134

Rodrigues F, Lehmann M, doAmaral VS, Reguly ML, de Andrade HHR. Genotoxicity of three mouthwash products, Cepacol®, Periogard®, and Plax®, in the *Drosophila* wing-spot test. *Environ Mol Mutagen.* 2007; 48: 644–649.

Sabir A, Tabbu CR, Agustiono P, Sosroseno W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *J Oral Sci.* 2005; 47:135-8.

Sadıkoğlu N. Kekik Olarak Kullanılan Türler Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2005, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. N Özhatay)

Sankarikutty B, Narayanan CS. Essential Oils/Isolation and production. Encyclopaedia of Food Science and Nutrition. Massachusetts: Academic Press; 1993, pp.2185-2189.

Saraçoğlu A, Ergun B. Composition of some herbal slimming tea preparations marketed in Turkey and their possible adverse effect. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006;26: 355-363.

Saydam G. Karbonhidratlar dış çürüğü ilişkisi ve sağlık eğitiminde beslenme bilgisi. *TDBD*.1998; 44: 26-334.

Sedlářiková J, Doležalová M, Egner P, Pavlačková J, Krejčí J, Rudolf O, Peer P. Effect of oregano and marjoram essential oils on the physical and antimicrobial properties of chitosan based systems. *Int J Polym Sci*. 2017, Article ID: 2593863.

Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet*2007; 369: 51–59.

Shellis RP, Dibdin GH. Analysis of the Buffering Systems in Dental Plaque. *J Dent Res*.1988;67: 438-446

Silva FB, Almeida JM, Sousa SM. Natural medicaments in endodontics -a comparative study of the anti-inflammatory action. *Braz Oral Res*.2004;18: 174-179.

Simões M. Antimicrobial strategies effective against infectious bacterial biofilms. *Curr Med Chem*. 2011; 18: 2129–2145.

Singh G, Maurya S, deLampasana MP, Catalan CA. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food ChemToxicol*.2007; 45: 1650–1661.

Singh NB, Srivastava M, Singh AB, Srivastava AK. 1995. Cinnamon bark oil, a potent fungi toxic against fungi causing respiratory tract mycoses. *Allergy*1995; 50: 995–999.

Singh S, Chaknis P, DeVizio W, Petrone M, Panagakos FS, Proskin HM. A Clinical investigation of the efficacy of three commercially available dentifrices for controlling established gingivitis and supragingival plaque. *J Clin Dent*.2010; 21: 105–110.

Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J Agric Food Chem*.1996; 44: 1202–1205.

Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 1998;26: 118–122.

Steinberg D, Feldman M, Ofek I, Weiss E. Effect of a high-molecular-weight component of cranberry on constituents of dental biofilm. *J Antimicrob Chemother*.2004; 54: 86–89.

Swerdlow JL. Çeviren: Kızılkaya G. Şifalı Bitkiler, Doğanın Eczanesinden 100 mucize, geleneksel ve modern tıpta kullanımı. National Geographic Türkiye. İstanbul: Doğu Grubu Yayıncılık; 2007, s.95.

Szabó MÁ, Varga GZ, Hohmann J, Schelz Z, Szegedi E, Amaral L, Molnar J. Inhibition of quorum-sensing signals by essential oils. *Phytother Res.*2010; 24: 782–786.

Şengezer E, Güngör T. Esansiyel yağların hayvanlar üzerindeki etkileri. *Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2008; 48: 101-110.

Tanker M, Tanker N. 1990. Farmakognozi. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No.65; 1990, s. 269-393.

Tanker M, Tanker N. Farmakognozi, Cilt II. İstanbul: Reman Matbaası; 1976.

Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ.* 2001; 65: 1028-1037.

Temel M, Tokur, S. *Origanum hypericifolium* Schwarz et Davis ve *O. sipyleum* L. Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik Araştırmalar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2010; 6: 71-88.

Tenovuo J, Hfikkinen P, Paunio P, Emilson CG. Effects of chlorhexidine-fluoride gel treatments in mothers on the establishment of mutans streptococci in primary teeth and the development of dental caries in children. *Caries Res.* 1992; 26: 275-280).

Toda Y, Moro I, Koga T, Asakawa H, Hamada S. Ultrastructure of Extracellular Polysaccharides Produced by Serotype c Streptococcus mutans. *J Dent Res* 1987; 66: 1364- 1369.

Touger-Decker R. Oral manifestations of nutrient deficiencies. *Mt Sinai J Med.* 1998; 65: 355-361.

Trahan L, Bareil M, Gauthier L, Vadeboncoeur C. Transport and phosphorylation of xylitol by a fructose phosphotransferase system in Streptococcus mutans. *Caries Res.* 1985; 19: 53-63.

Trahan L. Xylitol: a review of its action on mutans streptococci and dental plaque--its clinical significance. *Int Dent J.* 1995; 45: 77-92.

Upadhyayula VK, Gadhamshetty V. Appreciating the role of carbon nanotube composites in preventing biofouling and promoting biofilms on material surfaces in environmental engineering: a review. *Biotechnology advances* 2010; 28: 802-816.

Valgas C, Souza SMD, Smânia EF, Smânia A, Jr. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Braz J Microbiol.*2007; 38: 369–380.

Van Haute S, Raes K, Van Der Meeren P, Sampers I. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. *Food Control* 2016; 68: 30-39.

Van Houte, J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res.* 1994; 73: 672–681.

Van Loveren C. Diet and Dental Caries: cariogenicity may depend more on oral hygiene using fluorides than on diet or type of carbohydrates. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2000; 1: 55-62.

Versporten A, Bolokhovets G, Ghazaryan L, Abilova V, Pyshnik G, Spasojevic T, Korinteli I, Raka L, Kambaralieva B, Cizmovic L, Carp A, Radonjic V, Maqsudova N, Celik HD, Payerl-Pal M, Pedersen HB, Sautenkova N, Goossens h, WHO/Europe-ESAC Project Group. Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14: 381-387.

Vogler BK, Ernst E. Aloe vera: A systemic review of its clinical effectiveness. *Br J Gen Pract.* 1999; 49: 823–828.

Wang LL, Chen XP, Wei XJ. Study on chemical component of essential oil from *Cinnamomum cassia presl* and *Cinnamomum cassia petrophilum* leaves in Guangxi. *Technol Dev Enterp.* 2003; 6: 6–8.

Wefel JS, Donly KJ. In: Holland K. *Cariology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999.

Wheatley D. Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. *J Psychopharmacol.* 2005;19: 414- 421.

Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50: 513–552.

Wiater A, Choma A, Szczodrak J. Insoluble glucans synthesized by cariogenic streptococci: a structural study. *J Basic Microbiol.* 1999; 39: 265-273.

Wichtl M (eds.). *Herbal Drugs & Phytopharmaceuticals*. Çeviren: Brinckmann JA, Lindenmeier MP. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press;2001, pp. 148–150.

Wiwattanarattanabut K, Choonharuangdej S, Srithavaj T. In vitro anti-cariogenic plaque effects of essential oils extracted from culinary herbs. *J Clin Diagn Res.* 2017; 11: DC30–DC35.

Yatsuda R, Rosalen PL, Cury JA, Murata RM, Rehder VL, Melo LV, Koo H. Effects of *Mikania* genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. *J Ethnopharmacol.* 2005; 97: 183-189.

Yılmaz T. *Ağız ve Diş Biyokimyası*,. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 169; 2012.

Zero DT. Dental Caries process. *Dent Clin North Am.* 1999; 43: 635–664.

Zero DT. Sugars - The arch criminal? *Caries Res.* 2004; 38: 277-285.

Zhang J, Kashket S. Inhibition of salivary amylase by black and green teas and their effects on the intraoral hydrolysis of starch. *Caries Res.* 1998;32: 233-238.

Zickert I, Emilson CG, Krasse B. Effect of caries preventive measures in children highly infected with the bacterium *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.* 1982; 27: 861-868.

Zisu B, Shah NP. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 3405-3415.

8. EKLER

Ek 1 Uluslararası hakemli dergilerdeki (SCI ve SCI-expanded) Yayınlar

Karadağlıoğlu, Ö. İ., Ulusoy, N., Başer, K. H. C., Hanoğlu, A., Şık, İ. (2019). Activities of Herbal Toothpastes Combined with Essential Oils against *Streptococcus mutans*. *Pathogens*, 8(1), 20.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	ÖZGÜ İLKCAN	Soyadı	KARADAĞLIOĞLU
Doğum Yeri	BAKIRKÖY	Doğum Tarihi	18.06.1993
Uyruğu	TC/KKTC	Tel	5338507572
E-mail	dtozguoruzu@gmail.com		

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Yakın Doğu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2019
Yüksek Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lise	İstanbul Bahçelievler Anadolu Lisesi	2010

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Araştırma Görevlisi	Yakın Doğu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
Almanca	İyi	Orta	İyi
İngilizce	İyi	Orta	Orta

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	72,88219	74,35887	69,69502
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Word	İyi
Microsoft Office Power Point	İyi
Microsoft Office Excel	İyi

*Çok iyi, İyi, Orta, Zayıf olarak değerlendiriniz.

EK : Diğer Bilimsel faaliyetler (yayın, kongre bildirisi vs.)