



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STREPTOCOCCUS MUTANS VE ENTEROCOCCUS FAECALİS
ÜZERİNDE PROPOLİS EKSTRESİ, KARADUT EKSTRESİ,
KLORHEKSİDİN GLUKONAT İÇEREN ÜÇ FARKLI SOLÜSYONUN
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

MUSTAFA TAŞKIN

VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ

Şanlıurfa
2024

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STREPTOCOCCUS MUTANS VE ENTEROCOCCUS FAECALIS
ÜZERİNDE PROPOLİS EKSTRESİ, KARADUT EKSTRESİ,
KLORHEKSİDİN GLUKONAT İÇEREN ÜÇ FARKLI SOLÜSYONUN
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

MUSTAFA TAŞKIN

**VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ
Tez Danışmanı: OSMAN YAŞAR TEL**

**Şanlıurfa
2024**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	li
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ii
SİMGELER	iii
KISALTMALAR	iv
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	2
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Gereçler	15
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Suşlar	15
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri	16
3.1.3. Kullanılan Antibakteriyel Ajanlar	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Bakteri Suşlarının Canlandırılması	17
3.2.2. Antimikrobiyal Ekstrakların Hazırlanması	17
3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi (Disk Difüzyon Yöntemi)	18
3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi (Tüp Dilüsyon Yöntemi)	19
4. BULGULAR	21
4.1. Disk Difüzyon Bulguları	21
4.2. Tüp dilüsyon Bulguları	24
5. TARTIŞMA	26
6. SONUÇLAR	29
7. ÖNERİLER	30
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STREPTOCOCCUS MUTANS VE ENTEROCOCCUS FAECALIS ÜZERİNDE PROPOLİS EKSTRESİ, KARADUT EKSTRESİ, KLOORHEKSİDİN GLUKONAT İÇEREN ÜÇ FARKLI SOLÜSYONUN ANTIMİKROBİYAL ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

MUSTAFA TAŞKIN

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ

Yıl: 2024, Sayfa : 40

Bu tez çalışmasında, propolis ekstresi, karadut ekstresi ve klorheksidin glukonat'ın *Streptococcus mutans* ve *Enterococcus faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu amaçla propolis ve *Morus nigra*'nın ekstraktları etanol ve metanol yöntemi kullanılarak hazırlandı. CHG, metanolik *Morus nigra* ekstraktı ve iki farklı etanolik propolis (ticari propolis ve yerel Pervari propolisi) ekstraktı steril ve boş antibiyotik disklerine emdirilerek *Streptococcus mutans* ve *Enterococcus faecalis* üzerine antimikrobiyal etkileri disk diffüzyon yöntemiyle saptandı. Çalışma da özellikle CHG'nin hızlı ama sınırlı bir antimikrobiyal etki gösterdiği, *Morus nigra*'nın etkisiz olduğu ve propolis ekstraktlarının suşlara bağlı olarak değişen etkiler gösterdiği saptandı.

Sonuç olarak, propolis ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin propolis türüne bağlı olarak değiştiği, CHG 'nin güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği ve *M. nigra*'nın antimikrobiyal etkisinin olmadığı görüldü. Doğal kaynaklardan elde edilen bileşenlerin mikroorganizmalara etkilerini daha ayrıntılı bir şekilde anlamak ve bu bulguların klinik uygulamalara nasıl yansıtılabileceğini değerlendirmek, bakterilere karşı etkili ve güvenilir bir mücadele stratejisi geliştirmeyi hedeflemek açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu sonucuna varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: S.mutans, E.faecalis, klorheksidin glukonat , propolis, *Morus nigra*, antibakteriyel etki

ABSTRACT

MASTER THESIS

COMPARISON OF THE ANTIMICROBIAL EFFECTS OF THREE DIFFERENT SOLUTIONS CONTAINING PROPOLIS EXTRACT, BLACK MULBERRY EXTRACT, AND CHLORHEXIDINE GLUCONATE ON STREPTOCOCCUS MUTANS AND ENTEROCOCCUS FAECALIS

MUSTAFA TAŞKIN

HARRAN UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
VETERINARY MICROBIOLOGY

Year: 2024, Page : 40

In this thesis study, it is aimed to investigate the antimicrobial effects of propolis extract, black mulberry extract and chlorhexidine gluconate on *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis*. For this purpose, extracts of propolis and *Morus nigra* were prepared using the ethanol and methanol method. Chlorobene, methanolic *Morus nigra* extract and two different ethanolic propolis (commercial propolis and local Pervari propolis) extracts were absorbed into blank papers and their antimicrobial effects on *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis* were determined by the disk diffusion method. In the study, it was determined that Chloroben showed a rapid but limited antimicrobial effect, *Morus nigra* was ineffective, and propolis extracts showed varying effects depending on the strains.

As a result, it was seen that the antimicrobial effect of propolis extracts varied depending on the type of propolis, chloroben had a strong antimicrobial effect, and *morus nigra* had no antimicrobial effect. It was concluded that further studies are needed to understand the effects of ingredients obtained from natural sources on microorganisms in more detail and to evaluate how these findings can be reflected in clinical practices, and to aim to develop an effective and reliable fight strategy against bacteria.

KEYWORDS: S.mutans, E.faecalis, chlorhexidine gluconate, propolis, *Morus nigra*, antibacterial effect

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri suşları	15
Şekil 4.1. E. faecalis suşunun çalışmada hazırlanan disklerle gerçekleştirilen antibiyogram test sonucu.	22
Şekil 4.2. S. mutans suşunun çalışmada hazırlanan disklerle gerçekleştirilen antibiyogram test sonucu.	23
Şekil 4.12. E. faecalis suşunun MIC değeri.	24
Şekil 4.13. S. mutans suşunun MIC değeri.	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Enterokoklar tarafından oluşturulan önemli hastalıklar (28).	7
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan antimikrobiyal solüsyon ve içerikleri	17
Çizelge 4.1. E. faecalis ve S. mutans suşlarının gentamisin (10 mcg) CHG, M. nigra, ticari propolis ve Pervari propolisi ile hazırlanan disklerle elde edilen zon çapları (değerlendirmeye disk çaplarında dahil edilmiştir).	23

SIMGELER

g : Gram

μ : Mikro

KISALTMALAR

BHI : Brain Heart Infusion

CHG : Klorheksidin glukonat ve Klorheksidin diglukonat

CHX : Klorheksidin

E.faecalis : Enterococcus faecalis

eDNA : Ekstraselüler DNA

EPS : Mikrobiyel ekzopolisakkaritler

LTA : Lipoteikoik asit

M.alba : Morus alba

M.nigra : Morus nigra

M.rubra : Morus rubra

MBC : Minimal Bakteriosidal Konsantrasyon

MHA : Mueller Hinton Agar

MHB : Mueller Hinton Broth

MIC : Minimum Inhibitory Concentration

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

S.mutans : Streptococcus mutans

1. GİRİŞ

Ağız sağlığı, genel sağlığın önemli bir parçası olup, diş çürükleri, kök kanal enfeksiyonları ve benzeri problemler, çoğunlukla bakteriyel etkenlerle alakalıdır. Bu kapsamda, *Streptococcus mutans* ve *Enterococcus faecalis* gibi bakteriler, diş çürükleri ve endodontik enfeksiyonlarda ve birçok sistemik hastalıkta önemli rol oynayan mikroorganizmalardır(Jain ve ark.,2015;Stuart ve ark.,2006). Bu tez çalışması, *S. mutans* ve *E. faecalis* üzerinde, propolis ekstresi, karadut ekstresi ve klorheksidin glukonat'ın antimikrobiyal etkilerini karşılaştırmayı amaçlamaktadır.

Propolis, arıların bitkilerin filiz ve tomurcuklarından topladığı reçinemi maddeler ve bitki salgılarını, başlarındaki gaddeler tarafından salgılanan enzimlerle birlikte biyokimyasal olarak değiştirilerek oluşturdukları bir karışım olan doğal bir üründür, ayrıca antimikrobiyal özellikleri ile de bilinmektedir (Dığrak ve ark.,1995). Karadut, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olup ayrıca potansiyel antimikrobiyal etkileriyle dikkat çekmektedir (Chen ve ark.,2016). Klorheksidin glukonat ise yaygın olarak kullanılan çok önemli bir antiseptiktir (Davies ve ark.,1954).

Propolis, karadut ve klorheksidin glukonat içeren solüsyonların oral mikroorganizmalar üzerindeki etkilerine dair ve bunları kıyaslayan literatürde, kapsamlı bir araştırma yapılmamıştır. Bu bağlamda, çalışmanın genel hedefleri ve bu alandaki bilimsel katkıları, tezin önemini vurgulamaktadır.

Bu çalışmanın temel amacı, propolis, karadut ve klorheksidin glukonat içeren solüsyonların, *S. mutans* ve *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırmaktır. Bu çalışmanın yapılması, söz konusu bakterilere karşı etkili ve güvenilir bir mücadele stratejisi geliştirmek için önemlidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Streptococcus

Streptokoklar, insan ağız florasında bulunan ve diş çürüğünün gelişiminde önemli rol oynayan Gram-pozitif, fakültatif anaerobik, katalaz negatif özelliklere sahip bakterilerdir (Loesche,1996). 1924 yılında Clarke tarafından tanımlanan *Streptococcus mutans* ise çürük lezyonlarından izole edilen ve değişken koloni morfolojileri gösteren küçük, alfa hemolitik, optisine dirençli, kapsülsüz kokobasillerdir (Clarke,1924).

Önemli bir insan patojeni olan streptokok, farenjit, impetigo, bakteriyel endokardit, idrar yolu enfeksiyonları, akut romatik ateş, romatik kalp hastalığı, akut glomerulonefrit, nekrotizan fasiit, pnömoni, menenjit,kulak enfeksiyonları ve diş çürükleri gibi durumlara yol açabilir (Koneman ve ark.,1997). Deri, diş, solunum ve dolaşım sistemlerini etkileyen yaygın streptokok enfeksiyonları, dünya çapında tehlikeli invaziv *Streptococcus spp.* enfeksiyonlarının artış gösterdiği görülmüştür ve erken teşhis ve tedavinin önemi giderek daha da artmaktadır (Oppegaard ve ark.,2015). İnsan mikrobiyotasının bir parçasıolarak, *S. mutans* gibi mikroorganizmalar, deri ve mukoza , ağız, boğaz, burun, sindirim ve genital sistemlerde normal flora da bulunabilmektedirler. Bu mikroorganizmalar, kanlı agar gibi besiyerlerinde hemoliz yapma yetenekleri, koloni morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri gibi özelliklerine göre tanımlanabilirler. Optimal üreme sıcaklığı genellikle vücut sıcaklığı olan 37°C'dir ve kan, serum ve glukoz gibi maddelerle zenginleştirilmiş besiyerlerinde daha kolay üreyebilirler. Ayrıca, at ve koyun eritrositlerini içeren kanlı agarda hemoliz oluşturabilirler (Ankara Üniversitesi Açık Ders Malzemeleri,Link için tarih belirtilmemiş.).

Serolojik tiplene çalışmalarını, *S. mutans*'ın yedi farklı serolojik grubunda belirgin farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur (Beighton ve ark.,1981). Bu farklılıklar, şeker fermentasyonu, hidrojen peroksit üretimi, basitrasın duyarlılığı ve hücre duvarı karbonhidrat yapısı gibi biyokimyasal özelliklerde de kendini göstermektedir. Guanin-sitozin analizleri, DNA yapılarında belirgin farklılıklar olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, tüm serotipleri aynı tür olarak adlandırmak mümkün değildir. Bu verilere dayanarak, üç yeni tür tanımlanmıştır: *Streptococcus cricetus* (serotip a), *Streptococcus rattus* (serotip b) ve *Streptococcus sobrinus* (serotipler d ve g). Diğer serotipler ise *Streptococcus mutans* (serotipler c, e ve f) olarak adlandırılmıştır. Dahası, DNA homoloji çalışmaları sonucunda, insan kaynaklı

olmayan bazı bakterilerin (*Streptococcus ferus*, *Streptococcus macacae* ve *Streptococcus doömei*) Mutans streptokoklar grubuna dahil edildiği belirlenmiştir. Sınıflandırmadaki netlik için, bu bakterilerin tamamı “mutans streptokoklar” olarak adlandırılmaktadır (Coykendall,1983). *S. mutans* tükürük ve diş plağından farklı oranlarda izole edilmiştir (De Soet ve ark.,1991).

Diş çürüğü, dünya nüfusunun çoğunu etkileyen, yaygın ve maliyetli hastalıklardan biridir. Diş çürükleri, mine yüzeyine yapışan diş biyofilminin etkisi nedeniyle oluşur. , özellikle *S. mutans*, diş yüzeyinde kolonize olur ve fermente edilebilir karbonhidratların varlığında sert diş yapısına zarar verir. *S. mutans*'ın, biyofilm oluşturma yeteneğinin yüksek olması nedeniyle insan diş çürüklerinden sorumlu başlıca çürük yapıcı patojen olduğu tespit edilmiştir. Karmaşık oral mikrobiyom içinde *S.mutans*, ekzopolisakkaritler (EPS), ekstraselüler DNA (eDNA) ve lipoteikoik asit (LTA) dahil olmak üzere hücre dışı polimerik maddelerin önemli bir üreticisidir. (Lei ve ark.,2019)

Esas olarak *S. mutans* 'ın katkıda bulunduğu EPS matrisi, karyojenik biyofilmin virülans belirleyicisi olarak kabul edilmiştir. EPS önemli bir virülans faktörü olduğundan, EPS metabolizmasının hedeflenmesi karyojenik biyofilm oluşumunu önlemede yararlı olabilmektedir (Lin ve ark.,2021). Şu anda kullanılan florür ve klorheksidin gibi çürük önleyici tedaviler, yan etkiler ve ilaca direnç ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle *S. mutans* üremesine karşı alternatif inhibitörlerin geliştirilmesine acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Son on yılda, *S. mutans*'a karşı antibakteriyel aktivitelerini değerlendirmek için çok sayıda doğal ürün ve bunların bitkileri, deniz organizmalarından ve mikroorganizmalardan yararlanılmaya çalışılmıştır. (Cui ve ark,2019).

Yapılan bir çalışma bebeklerin *S. mutans*'ı annelerinden kaptıklarını göstermiştir (Berkowitz,2003). Diş çürüğü çocukken başlayıp yetişkinlikte devam eden; dişin organik matriks yapısının demineralizasyonu ile alakalı bir sağlık problemidir (Marcenes ve ark.,2013). Son zamanlarda toplumda diş çürüğünün sayısındaki artışta birçok bakterinin rol oynadığı bilinmektedir. Bu bakteriler arasında, *S. mutans* diş çürüğüne neden olan en temel ve en önemli mikroorganizmadır (Jain ve ark.,2015).

2.1.1. *Streptococcus mutans* Virülans Faktörü

S. mutans asidojeniz ve proton ATP-az aktivitesi (zarının lipid ve protein

bileşenleriyle ilişkili) gibi çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. Bu virülens faktörleri düşük pH'lı ortamlarda hayatta kalmasını sağlar ve ağız ekosistemindeki diğer yaygın bakterilere göre daha fazla hayatta kalma avantajı verir (Zhu ve ark.,2017). Ortamda sakkaroz bulunması, *S. mutans*'ın dış yüzeyine yapışma kapasitesini artıran ekstrasellüler polisakkarit oluşumunu teşvik eder. İkinci bir virülans faktörü ise asit oluşturma kapasitesidir (Gibbons,1984).

2.2. Enterococcus

Enterokoklar, streptokoklardan daha büyük, Gram-pozitif, bakterilerdir (Kırmusaoğlu,2019). Genellikle laktik asit bakterileri arasında bulunur ve katalaz negatif, oksidaz negatif, fakültatif anaerop, spor oluşturmayan, hareketsiz, fermentatif özelliklere sahiptirler (Kırmusaoğlu,2019;Diani ve ark.,2016).

Enterokoklar, Gram pozitif koklardır ve tekli, ikili veya kısa zincirler halinde bulunurlar. Yakın zamana kadar streptokoklar olarak bilinirdi. *S. faecalis*, 1906'da Andrewes ve Horder tarafından, *S. faecium* ise 1919'da Orla Jensen tarafından tanımlanmıştır. Schleifer ve Kilpper-Balz, 1984'te bu bakterilerin Streptococcus cinsinden ayrılarak Enterococcus cinsine dahil edilmesinin uygun olduğunu belirtmişlerdir. Daha sonra bu cinse ait farklı türlere *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. flavescens*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. saccharolyticus*, *E. columbae* ve *E. cecorum* gibi isimler verilmiştir (Facklam ve ark.,1998).

Enterokoklar, 10-45°C sıcaklık aralığında ve %6,5 NaCl içeren ortamlarda üreyebilirler. Ayrıca, 60°C'de 30 dakika boyunca canlı kalabilirler ve eskülini hidrolize edebilirler. Ph 9.6'da %40 safra tuzu içeren besiyerinde de üreyebilirler. Sitokrom enzimlerini içermedikleri için katalaz negatif özellik gösterirler ve glikozdan gaz üretmezler. Kanlı agarda, enterokok kolonileri genellikle büyük, parlak, gri ve bulanık bir görünüm sergilerler. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm kökenler, pirolidonil betanaftilamid (PYR) maddesini hidrolize edebilirler. *E. flavescens*, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum*, *E. faecalis*, *E. faecium*'dan farklı olarak %0.04 tellürit içeren ortamlarda siyah renkli koloniler oluşturabilir. Lactococcus, Aerococcus, Pediococcus ve Leuconostoc gibi bazı Gram pozitif koklar da benzer özelliklere sahiptir. Ancak, Lactococcus ve Aerococcus türleri, grup D antiserumu ile reaksiyon vermezken, Pediococcus ve Leuconostoc türleri PYR negatif olduğu için enterokoklardan ayrılırlar (Teixeira ve

ark.,2003).

Enterokokların çoğunluğu hemoliz yapmayan veya α -hemolitik koloniler oluşturur. Bağırsak ortamında buldukları için enterokok olarak adlandırılırlar. Bu özellikleri sayesinde, bağırsakta yaşayan enterokoklar, safra tuzları ve sodyum klorür gibi bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarında bile çoğalmaya devam ederler. Kültür ve biyokimyasal reaksiyonlara göre çeşitli türler tanımlanmış olmasına rağmen, *E. faecalis* ve *E. faecium* en yaygın olanlarıdır (Kırmusaoğlu,2019).

Enterokoklar, gastrointestinal sistemin normal florasında bulunan mikroorganizmalardan biri olarak kabul edilir ve ağız boşluğu, safra yolları ve genitoüriner sistemde kolonizasyon oluşturabilir (Yılmaz,2020). Bu bakteriler genellikle bağırsak kommensal bakterileri olarak görülse de hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında önemli bir role sahiptirler (Kırmusaoğlu,2019). Özellikle *E. faecalis*, insanlarda ve hayvanlarda görülen enterokok enfeksiyonlarının büyük çoğunluğundan sorumludur (Diani ve ark.,2016). Ayrıca, *E. faecalis*, ağız içi enfeksiyonların başlıca nedenlerinden biridir ve immünsupresif hastalarda ve uzun süreli hastane yatışları geçirenlerde daha sık görülme eğilimindedir (Moellering,2005). Son yıllarda, vankomisin dirençli enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonlarda artan bir eğilim göstermektedir (Yüce ve ark.,1999).

E. faecalis, diş hekimliğinde bilinen en dirençli bakterilerden biri olup, ağız boşluğunda çeşitli hastalıklara neden olabilir. Örneğin, kötü ağız hijyeniyle ilişkilendirilen kronik periodontitiste, dişeti çekilmesi ve kemik rezorpsiyonu gibi belirtilerle karakterize edilen durumlarda sıkça izole edilen bir bakteri türüdür. Ayrıca, peri-implantitis gibi implant çevresindeki enfeksiyonlarda da sıklıkla *E. faecalis* izole edilmiştir (Çetinkaya,2002).

E. faecalis asemptomatik, kalıcı endodontik enfeksiyonlarda yaygın olarak tespit edilen bir mikroorganizmadır. Bu tür enfeksiyonlardaki prevalansı %24 ile %77 arasında değişmektedir. Bu bulgu, *E. faecalis*'in sahip olduğu, diğer mikroorganizmalarla rekabet etme, dentin tübüllerini istila etme ve besin yoksunluğuna direnme yeteneği de dahil olmak üzere çeşitli hayatta kalma ve virülans faktörleriyle açıklanabilir. İyi aseptik tekniğin kullanılması, apikal preparasyon boyutlarının arttırılması ve sodyum hipoklorit ile kombinasyon halinde %2 klorheksidin dahil edilmesi, günümüzde dişlerin kök kanal sistemlerinde *E. faecalis* ile mücadelede en etkili yöntemlerdir. Diş bakımının değişen çehresinde, *E. faecalis* üzerine devam eden araştırmalar ve onun diş ve çevre dokulardan

çıkarılması, kök kanal tedavisinin başarı oranını arttıracaktır (Stuart ve ark.,2006).

E. faecalis kök kanal dolgulu dişlerde en sık görülen türdür ve inatçı periradiküler lezyonlar ortaya çıkarmaktadır ve bunun sonucunda endodontik tedavi başarısızlığının nedenselliğinde bir rolü olduğu öne sürülmektedir. Zoletti ve arkadaşları *E. faecalis*'i polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve geleneksel kültür işlemiyle tanımladıkları çalışmada, *E. faecalis*'i PCR ile 40/50 dişte (%80) tespit ederken, kültür ile 8/50 dişte (%16) tanımlamışlardır. PCR bu bakteri türünün saptanmasında kültüre göre önemli ölçüde etkili olduğunu bildirmişlerdir (p <0.001). Başka bir çalışmada periradiküler lezyonu olmayan 27 kök kanal dolgulu dişin 22'sinde (%81,5) PCR ile beş vakada (%18,5) kültürle *E. faecalis* tespit edildi. Ayrıca, periradiküler lezyonlu 23 kök kanal dolgulu dişin 18'inde (%78) PCR ile ve üç vakada (%13) kültürle *E. faecalis* tanımlandı. Araştırmacılar, kullanılan tanımlama tekniğine bakılmaksızın, periradiküler lezyonu olan ve olmayan kök dolgulu dişlerde *E. faecalis* varlığı karşılaştırıldığında fark olduğunu bildirmişlerdir. Her ne kadar bu veriler *E. faecalis*'in endodontik tedavi başarısızlığına neden olan ana tür olduğu durumunu açıkça sorgulasa da, bu varsayımın kesinliğe dönüşmesi için diğer ilgili faktörlerin hala açıklığa kavuşturulması gerekmektedir (Zoletti ve ark.,2006).

Pinheiro ve arkadaşları periapikal lezyonlu kök dolgulu dişlerin kanallarından izole edilen *E. faecalis*'in farklı antibiyotiklere duyarlılığını in vitro olarak test ettikleri çalışmada tüm suşların (n=21) in vitro penisiline duyarlı olduğunu saptamışlardır. Çalışmada amoksisilin ve amoksisilin-klavulanik asidin minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri (MIC (90) = 0,75 mikrog mL (-1)) benzilpenisiline göre (MIC (90) = 3,0 mikrog mL (-) 1)) daha düşük olduğu belirtildi. Çalışmada, incelenen tüm suşlar vankomisin ve moksifloksasine de duyarlı bulunurken, suşların %95,2'si kloramfenikole, %85,7'si tetrasiklin ve doksisisikline, %80,9'u siprofloksasine %28,5'i eritromisine, %14,2 azitromisine duyarlı olduğu bildirilmiştir. Hiçbir suшта beta-laktamaz üretimi görülmezken, *E. faecalis* izolatları in vitro olarak amoksisilin, amoksisilin-klavulanik asit, vankomisin ve moksifloksasine tamamen duyarlı, izolatların önemli bir kısmının ise kloramfenikol, tetrasiklin, doksisisiklin veya siprofloksasine duyarlı olduğu saptanmıştır.(Pinheiro ve ark.,2004).

Çizelge 2.1. Enterokoklar tarafından oluşturulan önemli hastalıklar (28).

İdrar yolu enfeksiyonu
Endokardit
Bakteriyemi
Karın içi ve pelvik enfeksiyonlar
Menenjit
Yara ve yumusak doku enfeksiyonları
Pediyatrik enfeksiyonlar

2.2.1. *E. faecalis*'in Etki Mekanizması ve Virülans Faktörleri

E. faecalis enfeksiyonlarının ciddiyeti, virülans faktörlerine ve konak immün cevabına bağlıdır (Yılmaz,2020).

Ağız içindeki *E. faecalis* enfeksiyonlarının patogeneğinde ilk aşama olarak konak hücrelere bağlanma ve kolonizasyon gerçekleşir (Moellering,2005). Ardından bakteri kolonize olduğu bölgede sentezlediği proteinler ve toksinlerle birlikte diğer bakterilerle rekabet ederek konak yanıtını etkiler (Çelik ve ark.,2013).

E. faecalis türlerinin virülans faktörlerinden biri hücre dışı sitolizin/hemolizin üretimidir ve çeşitli ökaryotik hücrelerin lizisine neden olabilir (Arias ve ark.,2012). Ayrıca jelatinaz (Gel E) ve hücre dışı serin proteaz (SprE) gibi diğer salgılanan proteazlar, konak doku proteinlerini parçalayarak enterokokal otolizinlerin aktivasyonuna ve biyofilm tabaka gelişimine katkıda bulunur (Paganelli ve ark.,2012). Bunların yanı sıra bu moleküllerin kompleman proteinlerini inaktive ederek immün yanıtı azalttığı bildirilmiştir (Park ve ark.,2008).

Enterokokların adezyon ve kolonizasyonu, virülans faktörlerinin yanı sıra biyofilm oluşturma yetenekleriyle enfeksiyonların patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır (Paganelli ve ark.,2012). Oluşan biyofilm tabakası, solunum yolları gibi canlı dokuların yanı sıra kateterler ve eklem protezleri gibi cansız dokuların yüzeylerine yapışarak, kendi ürettikleri ekzopolisakkarit bir matriks içinde gömülü halde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu mikroekosistem topluluğudur (Thomas ve ark.,2009).

Enterokoklar, biyofilm tabakası oluşturarak enflamatuar hücrelerin fagositozundan korunurken, aynı zamanda kendi ekosistemlerindeki besin kaynaklarını daha verimli kullanıp fiziksel ve kimyasal dış faktörlere karşı daha dirençli hale gelirler (Baylan,2019). Bu organizmaların hücre yüzeyinde bulunan piluslar, yapışma, biyofilm oluşumu ve hayvan modellerinde endokardit ve üriner sistem enfeksiyonu gelişimine neden olabilir (Nallapareddy ve ark.,2006).

E. faecalis ve *E. faecium*'un klinik ve çevresel suşlarında antibiyotik direnci ile beraber çeşitli virülans faktörlerinin varlığı arasında uyum gösterildiği belirtilmiştir (Rathnayake ve ark.,2012). Yüzeğe bağlı plazmid tarafından kodlanan periferik proteinler, organizmaların plazmid değişimi için kümelenmesini sağlayan proteinlerdir (Paganelli ve ark.,2012). Araştırmalarda proteinlerin bağırsak ve böbrek epitel hücre kültürlerinde enterokokların hücrelere yapışmasını kolaylaştırıp kümelenmesini teşvik ettiği ve ayrıca kümelenme maddesinin, nötrofillere ve bağırsak hücrelerine bağlanarak *E. faecalis*'in hücre içine girişini ve canlılığını sürdürmesini sağlayabileceği düşünülmektedir (Park ve ark.,2008). Bu durumda, plazmidler periferik proteinleri kodladığı gibi antibiyotik direnç genlerini de içerebilir (Paganelli ve ark.,2012).

2.3. Propolis

Çeşitli bitkilerin yaprakları, tomurcukları ve kabukları gibi kısımlarından toplanan reçinemsi, suyla az çözünen, yapışkan ve keskin kokulu doğal bir karışım olan propolis, bal arıları tarafından farklı amaçlar için toplanılmaktadır (Ahn ve ark.,2007). Propolis, işçi arıların bitkilerin filiz ve tomurcuklarından topladığı reçinemsi maddeler ve bitki salgılarını, başlarındaki guddeler tarafından salgılanan enzimlerle birlikte biyokimyasal olarak değiştirerek oluşturdukları, oda sıcaklığında yarı katı bir yapıya sahip, genellikle kirli sarıdan koyu kahverengiye kadar değişen renklere sahip bir maddedir. Propolisin kimyasal bileşimi, toplandığı bitkilerin tür ve çeşitlerine bağlı olarak değişkenlik gösterir (Dığrak ve ark.,1995).

Arıların propolis toplama davranışı, kovanlarını çeşitli fiziksel ve kimyasal tehlikelere karşı korumak için evrimsel bir avantaj sağlar. Ayrıca, propolisin antiseptik özellikleri, arıların kovan içindeki sağlığı korumak için kullandığı bir diğer önemli faktördür (Oruç ve ark.,2017).

Propolisin bileşimi, bitki türüne, coğrafi bölgeye, mevsime, arı kolonisine ve

propolis toplama yöntemlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu nedenle her propolisin rengi, kokusu, tıbbi özellikleri ve kimyasal yapısı farklılık gösterebilir (Oruç ve ark.,2017). Propolis, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan, antiinflamatuvar, yara iyileştirici, doku yenileyici ve anestetik özelliklere sahiptir, bu da çeşitli biyolojik etkilerin meydana gelmesine olanak tanır (Eroğlu ve ark.,2004).

Propolis araştırmaları, insan sağlığı için gerekli olan vitaminler, mineraller ve elementleri içerdiğini göstermiştir (Şahinler,2000). Propolisin kimyasal bileşimi genellikle, %45–55 arası reçine, %23–35 arası mumlar ve yağ asitleri, %10 esansiyel yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddeler ve mineraller içerir (Şahinler,2000). Propolisin kimyasal bileşimi üzerine yapılan araştırmalarda, propolis içerisinde miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, vanilin, sinnamik asit, pinocembrin, pinobanksin, kuersetin, galangin, apigenin, krisin, kafeik asit, acacetin, kamfer ve izovanilin gibi çeşitli kimyasal bileşiklerin bulunduğu gözlemlenmiştir (Dığrak ve ark.,1995).

Propolis içerisinde bulunan krisin ve kaempferol flavonoidlerinin birkaç herpes virüsü, adenovirüsler ve bir rotavirüsünün replikasyonunu güçlü bir şekilde engellediği, ancak acacetin ve galangin flavonoidlerinin virüsler üzerinde etkili olmadığı belirlendiği antiviral etkiyi araştıran bir çalışmada tespit edilmiştir (Burdock,1998).

Propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmı, elde edilen bileşenlerin en geniş grubunu oluşturan flavonoidlerden kaynaklanmaktadır (Burdock,1998). Son 40 yıl içinde yapılan araştırmalar, propolisin kimyasal bileşimi, biyolojik etkileri ve tedavi edici özellikleri üzerine birçok bulgu ortaya koyulmuştur. Sentetik antibiyotiklerin aksine, propolis uzun süre kullanıldığında zararlı bakterilerde direnç oluşturmamaktadır. Bu nedenle propolis, nadir bulunan geniş spektrumlu bir antibiyotik olarak kabul edilebilir (Şahinler,2000).

Propolis *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Candida albicans*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Trichophyton mentaogrophytes* türlerine karşı antimikrobiyal etkisi olduğu gözlemlenmiştir (Dığrak ve ark.,1995).

Propolis, diş hekimliğinde önemli bir rol oynar çünkü *S. mutans*, *Str. sobrinus* ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmalara karşı güçlü bir antimikrobiyel etkiye sahiptir (Uzel ve ark.,2005).

Propolis etanol ekstraktının kullanımı, *S. mutans*'ın gelişimini ve glukoziltransferaz üretimini engelleyebilir. Bu enzim, dişlerde plak oluşumundan ve diş çürümelerinden sorumludur. Ayrıca, propolis ekstraktının bazı antibiyotiklerle antistafilokokal etkileşimi sinerjistik bir etkiye sahip olabilir (Bosio ve ark.,2000).

Abachi ve arkadaşları, fitokimyasalların streptokok enfeksiyonlarının tedavisinde mevcut klasik antibiyotiklere alternatif olabilecek potansiyele sahip olduğunu belirtmektedirler. Bu doğrultuda, çeşitli şifalı bitkilerdeki bu bileşiklerin patojenik ve karyojenik streptokok türlerine karşı antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir ve etkili olduğunu bulmuşlardır (Abachi ve ark.,2016).

Propolis, kardiyovasküler ve dolaşım sistemi hastalıklarından karaciğer rahatsızlıklarına kadar çeşitli sağlık durumlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle solunum yolu enfeksiyonları, diş hastalıkları, deri rahatsızlıkları, yara iyileşmesi ve bağışıklık sistemi sağlığı gibi alanlarda etkili olduğu belirtilmektedir (Dığrak ve ark.,1995;Küşümler ve ark.,2021). Propolis, dermatitler için antibakteriyel bir krem olarak kullanılmakta olup, antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Ayrıca, propolis spreyelerinin solunum yoluyla alınması, romatizma ve astım gibi durumlarda iyileştirici etkilere sahip olduğu gözlemlenmiştir (Dığrak ve ark.,1995).

Tıbbi amaçlarla kullanılan propolisin ekstraksiyonunda genellikle %70'lik etanol kullanılırken, kimyasal analizler için ise %99'luk etanol veya %98'lik metanol tercih edilmektedir. Bu durum, propolisin farklı uygulamalar ve analizler için farklı çözücüler gerektirdiğini göstermektedir (Pietta ve ark.,2002). Alkolün insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle, propolis ekstraksiyonu için alternatif arayışlar hız kazanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Tebliđi'ne (2015) göre, alkollü içecekler en az %15 alkol içermelidir. Alkol, tedavi veya takviye edici ilaçlarla birlikte tüketildiğinde ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Sürekli kullanımı böbrek, kalp, karaciğer ve mide hastalıklarına sebep olabilir, ayrıca iştah kaybı, vitamin eksikliği, bağışıklık sistemi zayıflığı, sindirim sistemi problemleri ve cinsel işlev bozukluklarına neden olabilir. Ayrıca, maliyet nedeniyle bazı ekstraksiyon süreçlerinde etil alkol yerine metil alkol kullanılması körlüğe yol açabilir. Bu nedenle, insanlar propolisi çeşitli çözücüler kullanarak ekstrakte etmeye çalışmaktadır (Bankova ve ark.,2000).

Günümüzde, birçok aktar ve eczanede alkol, zeytinyağı, gliserol, polietilen

glikol, dimetilsülfoksit (DMSO) ve mineral tuzları gibi çeşitli çözücüler kullanılarak hazırlanan propolis ekstraktları bulunmaktadır (Bankova ve ark.,2000).

Çin'in liderliğindeki propolis üretici ülkeler arasında Arjantin, Uruguay, Şili, Brezilya, Kanada ve Doğu Avrupa ülkeleri bulunmaktadır. Japonya, Çin ve Brezilya'dan önemli miktarlarda propolis ithal etmektedir. Brezilya, propolis üretimi konusunda önde gelen bir ülkedir ve burada üretilen tonlarca propolis, özellikle Japonya'ya ihraç edilerek işlenmektedir. Propolis ürünleri, kapsüller, tabletler, granüller, boğaz pastilleri ve çiklet gibi çeşitli formlarda bulunmaktadır. Ancak, propolisin kimyasal standartları henüz belirlenmiş değildir. Propolis ticareti 1980'lerde başlamış olup dünya genelinde 700-800 ton arasında olduğu tahmin edilmektedir (Bankova ve ark.,2000). Türkiye geneli net bir veriye ulaşılamamıştır.

Marmara Bölgesine ait farklı iller (Balıkesir, Bursa ve Çanakkale) ile İzmir ilinden elde edilen propolis örneklerinin balsam, toplam fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri ve kimyasal kompozisyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, bölge propolislerinin genellikle kavak tipi (poplar type) propolis ile benzer kimyasal bileşenlere sahip olduğunu ancak farklı kaynaklardan gelen bileşenler içerdiğini göstermiştir. Çalışmada, özellikle Balıkesir, Bursa ve Çanakkale örneklerinde tespit edilen pimarik asit, dehidroabiyetik asit, tirosol gibi bazı bileşenlerin kavak ağaçlarının yanında çam ve zeytin ağaçlarının da bal arılarınca reçine kaynağı olarak kullanıldığını düşündürmektedir. Bölge propolislerinin elde edildiği illerin bitki örtüsü, bu düşünceyi desteklemektedir. Çalışmada, bölgede propolis kaynağı olarak sırasıyla söğüt, meşe, kavak, çam, ıhlamur, ceviz ve kestanenin en sık rastlanan ağaçlar olduğu ve bölge propolislerinin toplam fenolik madde miktarları ile antioksidan kapasiteleri arasında doğrudan bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir (Sorucu ve ark.,2019).

Propolisin *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etkisinin kanal içi bir ilaç olarak potansiyeli araştırıldığı bir çalışmada, propolisin endodontik tedavide kanal içi bir ajan olarak yara iyileşmesini ve kemik rejenerasyonunu desteklediği bulunmuştur (Mattigatti ve ark.,2012). Araştırmada ifade edilen bulgulara göre, propolis ve ksilitol içeren sakızların kullanımı, *S. mutans* düzeyini ve ağızdaki diğer mikroorganizma sayısını azaltmaktadır. Ayrıca, propolis CPP-ACP (kazein fosfopeptit – amorf kalsiyum fosfat) ile sinerjik etki göstererek biyofilmdeki *S. mutans* sayısını azaltmaktadır. Bu bulgular, propolis ve ksilitol içeren sakızların mikrobiyal düzeyleri düşürmede etkili olduğunu göstermektedir (Hasnamudhia ve ark.,2017). Propolisin dentinin hidrolük

iletkenliğini azaltarak dentin duyarlılığını azalttığı öne sürülmekle birlikte, bu alanda daha fazla araştırma yapılması gerektiği belirtilmiştir (Khurshid ve ark.,2017).

Propolisin halitozisin kontrolünde etkili olduğunu belirten Sterer ve ark. (2006) çalışmasında, propolisin Gram negatif bakteri popülasyonunu azaltarak ağız kokusunu giderdiği belirtmişlerdir (Sterer ve ark.,2006). Periodontal ligament hücrelerinin canlılığının korunması, propolis reimplantasyon sonrası kök rezorbsiyonu riskini azaltabilmektedir (Khinda ve ark.,2017). Ayrıca, propolis içeren alkollü sulu çözeltiler, diş çekiminden sonra epitelyal iyileşmeyi hızlandırır ve ayrıca orofasiyal ağrıları azaltarak anti-enflamatuar ve analjezik etki sağlar, dolayısıyla ağız içi cerrahi yaraların iyileşme sürecinde propolis kullanımı faydalı olabileceği bildirilmiştir (Rajoo ve ark.,2014).

2.4. *Morus nigra* (Karadut)

Dut bitkisi, *Urticales* takımının *Moraceae* ailesine ait *Morus* cinsine dahildir. Sıcak iklim bölgelerinde yaklaşık 100 farklı *Morus* türü bulunmaktadır. En yaygın olanları ise *Morus alba* (Beyaz dut), *Morus nigra* (Karadut) ve *Morus rubra* (Mordut) şeklindedir (Elmacı ve ark.,2002).

Anadolu, çeşitli iklim ve toprak koşullarına uyum sağlayabilen birçok meyve türünün yetiştiği bir bölgedir. Dut, bu bölgelerde ılıman, tropikal ve subtropikal iklimlerde başarıyla yetişebilen bir meyve çeşididir. Anavatanı olarak kabul edilen Anadolu, dutun en eski kültür alanlarından biridir ve ülkemizde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Türkiye'nin birçok tarım bölgesinde, uygun yetiştirme koşulları sayesinde yüksek kalitede dut meyvesi üretilebilmektedir (Güngör ve ark.,2008).

Dut bitkisinin yapraklarından çaylar yapılarak beden ve zihni gevşetici etki elde edilebilirken, meyvesiyle şarap, jöle, reçel, pekmez gibi çeşitli ürünler üretilebilmektedir. Halk arasında bağırsakları düzenleme, ateşi ve yüksek tansiyonu düşürme, ağız yaralarını iyileştirme gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Ayrıca yüksek oranda antosiyanin içermesi nedeniyle kalp ve damar hastalıklarını engellemekte ve kansere karşı koruma sağlamaktadır (Bae ve ark.,2007).

Karadut, Asya kökenlidir ve meyve ile yapraklarından reçel, şurup, marmelat ve çay yapılabilir; ayrıca kurutulularak da tüketilebilir (Meral ve ark.,2012). Karadut, çeşitli mineral ve vitaminlerle zenginleştirilmiş bir meyvedir. Enerji verici özellikleriyle bilinir ve yüksek fenolik madde içeriğine sahiptir. Ayrıca, esansiyel

yağ asitlerini içerir, bu da hücre zarı ve hormon oluşumunda önemli bir rol oynar ve sinir sisteminin sağlıklı işleyişine katkıda bulunur. Karadutun sağlık açısından pek çok olumlu etkisi bulunmaktadır. Örneğin, karadut şurubu boğaz hastalıklarını iyileştirebilir, kabukları idrar söktürücüdür ve bağırsak parazitlerini azaltabilir. Ayrıca yaprakları kan şekerini düşürebilir ve şeker hastalığının tedavisine yardımcı olabilir. Karadut ayrıca iştah açıcıdır ve bebeklerde pamukçuk üzerinde etkili olabilir. Bağırsakları düzenler ve kalp-damar sağlığını destekler (Yiğit ve ark.,2007).

Karadutun kanser karşıtı, mikroplara karşı etkili, diyabeti önleyici, iltihapları azaltıcı ve antioksidan özellikleri bulunmaktadır (Chen ve ark.,2016). Yapılarında varlıklarıyla bilinen fenolik bileşiklerin, özellikle antosiyanınların bulunması, antioksidatif özelliklerini artırır. Karadut, rutin ve kuersetin gibi flavonoller, p-hidroksibenzoik, p-kumarik, gallik ve vanilik gibi fenolik asitler, apigenin gibi flavonlar, naringenin gibi flavononlar, siyanidin ve pelargonidin gibi antosiyanın türevleri ile resveratrol gibi stilbenler içerir (Çelik,2023).

2.5. Klorheksidin

Klorheksidin diglukonat, anti-plak etkisiyle bilinen bir biguanid türevidir ve tıpta geniş spektrumlu antiseptik olarak kullanılmaktadır. 1953'ten beri kullanılan bu madde, Gram pozitif ve negatif bakteriler ile mantarlar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. (Davies ve ark.,1954;Budtz-Jørgensen ve ark.,1972).

Klorheksidin, düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik, yüksek konsantrasyonlarda ise bakterisid etkiye sahiptir (Davies ve ark.,1954;Budtz-Jørgensen ve ark.,1972). Antimikrobiyal etki, hücre membran geçirgenliğinde artışa sebep olarak ortaya çıkar. Bu, bakterinin hücre duvarının yapısını değiştirerek ozmotik dengeyi bozar (Hennessy,1977).

Diş plağındaki bakterilerin dış membranına bağlanarak etki gösteren klorheksidin, bakterilerin epitel hücrelerine yapışmasını azaltır (Grenier,1996). İlaçların yumuşak ve sert dokulara bağlanması ve emilmesini ifade eden substantivite terimi, ilk kez 1970 yılında klorheksidin için tanımlanmıştır (Gjerme ve ark.,1974). Klorheksidin, ağız içi yüzeylere yapışarak uzun süre etkili olabilmekte bu durumdiğer kimyasal ajanlara göre üstünlük sağlamaktadır (Roberts ve ark.,1981).

Moran ve arkadaşlarının araştırmasında, %0,2'lik klorheksidin kullanımının tükürük bakterilerini %90 oranında azalttığı ve bu etkinin 7 saat boyunca devam

ettiği bulunmuştur (Moran ve ark.,1997). Van der Weijden ve ekibinin araştırmasında, %0.2 ile %0.12 CHX gargaranın hastalardakullanımı incelenmiştir. Çalışma sonuçları, 15 saniye klorheksidin içeren gargaranın yeterli olabileceğini göstermiştir. Ve etki olarak %0.2 CHX ile %0.12 CHX içeren gargara arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.Ancak, klorheksidinin düşük toksisitesine rağmen dişlerde renklenme yapması uzunsürelili kullanımı kısıtlamaktadır (Van der Weijden ve ark.,2010).

Birçok çalışmada, ağız gargaralarının farklı klorheksidin konsantrasyonlarının etkinliği incelenmiştir. Örneğin, %0,2 ve %0,12 klorheksidin içeren gargaraların her ikisi de plak ve dişeti hastalığını azaltmıştır. Araştırmalar, bu gargaraların plaseboya kıyasla plak miktarını %35 ila %71, dişeti hastalığı miktarını ise %11 ila %39,6 oranında azalttığını göstermektedir (Van der Weijden ve ark.,2010). Klorheksidin, *S. mutans* üzerinde etkili bir antimikrobiyal ajandır ve dişte oluşan tortuların gelişimini azaltmada etkili olduğu bilinmektedir (Fardal ve ark.,1986). Bir çalışmada, %0,2'lik klorheksidin gargarasının kullanımının *S. mutans*'in çoğunu yok ettiği gösterilmiştir, bu da diş sağlığını olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir (Gehlen ve ark.,2000;Baydaş ve ark.,2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

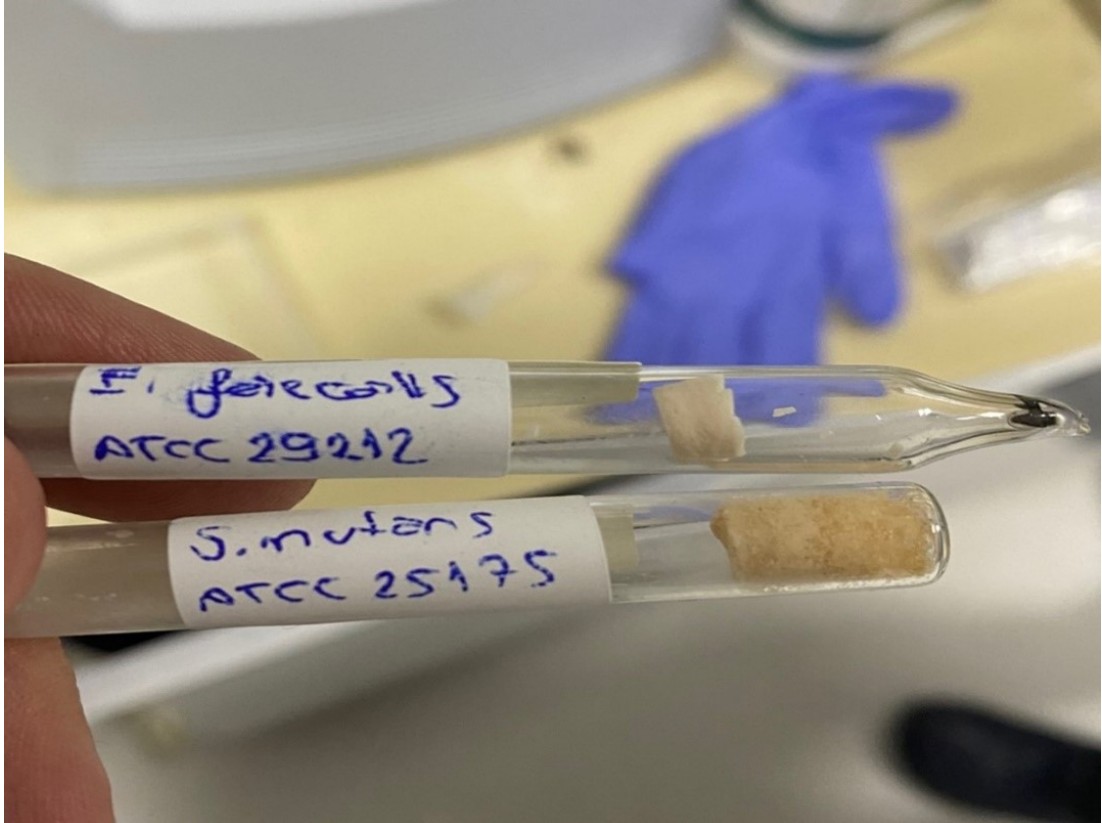
Bu yüksek lisans tezi kapsamında gerçekleştirilen tüm analizler Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HRÜ-HADYEK) tarafından 23.05.2024 tarih, 2024-3 oturum no ve 8. karar ile “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğin 2. Maddesinin 2. Fıkrası” gereğince “DeneySEL olmayan tarımsal ve klinik Veteriner Hekimliği uygulamalarını” içerdiğinden Etik Kurul İznine tâbi olmayıp, Etik Kurul İznine gerek olmadığına karar verilmiştir.

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Suşlar

Çalışmada kullanılan *S. mutans* (ATCC25175) ve *E. faecalis* (ATCC29212) suşları Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı’ndan temin edildi.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri suşları

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Kanlı Agar (KA)

Liyofilize halde temin edilen *S. mutans* (ATCC25175) ve *E. faecalis* (ATCC29212) suşlarının canlandırılması ve *S. mutans* suşunun antibiyogram testinin yapılması amacıyla kullanıldı. KA (Oxoid, CM0271), üretici ticari firmanın direktifleri doğrultusunda hazırlandı. 1 litre için 40 gram KA tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü. Sterilizasyon işlemi için 121°C'de 15 dakika olacak şekilde otoklavlama işlemi gerçekleştirildi. Akabinde besiyeri 50°C'ye kadar soğutulularak, steril ortamda %5 oranında defibrine koyun kanı eklenerek karıştırıldı. Besiyeri, 90 mm çaplı petri kaplarına 20 ml olarak taksim edildi, agar katılaştıktan sonra kontaminasyon kontrolü için bir gece inkübe edildi. Kontrolde sonra yapılacak ekimlerde kullanılmak üzere +4 °C'ye kaldırıldı.

Mueller Hinton Agar (MHA)

E. faecalis suşunun kullanılan antimikrobiyallere duyarlılıklarının saptanmasında kullanıldı. MHA (Oxoid, CM0337) besiyeri üretici ticari firmanın direktifleri doğrultusunda hazırlandı. 1 litre için 38 gram MHA tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü. Sterilizasyon işlemi için 121°C'de 15 dakika otoklavlama işlemi gerçekleştirildi. Akabinde besiyeri 56°C'ye kadar soğutulularak, steril ortamda 90 mm çaplı petri kaplarına 20 ml olarak taksim edildi, agar katılaştıktan sonra kontaminasyon kontrolü için bir gece inkübe edildi. Kontrolde sonra yapılacak ekimlerde kullanılmak üzere +4 °C'ye kaldırıldı.

Mueller Hinton Broth (MHB)

Klorheksidin glukonatın (CHG) *E. faecalis* suşuna karşı minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) ve minimal bakteriyosidal konsantrasyonunun (MBC) tespiti amacıyla hazırlandı. MHB (Oxoid, CM405) besiyeri üretici ticari firmanın direktifleri doğrultusunda hazırlandı. 1 litre için 21 gram MHB tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü. Sterilizasyon işlemi için 121°C'de 15 dakika olacak şekilde otoklavlama işlemi gerçekleştirildi. Akabinde besiyeri 50°C'ye kadar soğutulularak, yapılacak antibiyogram testinde kullanılmak üzere +4 °C'ye kaldırıldı.

Brain Heart Infusion Broth (BHI)

CHG'nin *S. mutans* suşuna karşı minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) ve minimal bakteriyosidal konsantrasyonunun (MBC) tespiti amacıyla kullanıldı. BHI (Himedia, M210) besiyeri üretici ticari firmanın direktifleri doğrultusunda hazırlandı. 1 litre için 37 gram MHB tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü. Sterilizasyon işlemi için 121°C'de 15 dakika olacak şekilde otoklavlama işlemi gerçekleştirildi. Akabinde besiyeri 50°C'ye kadar soğutulurken, yapılacak antibiyogram testinde kullanılmak üzere +4 °C'ye kaldırıldı.

3.1.3. Kullanılan Antibakteriyel Ajanlar

Mevcut tez çalışmasında kullanılan klorheksidin glukonat, propolis ve *M.nigra*'nın içerikleri ve özellikleri Çizerge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan antimikrobiyal solüsyon ve içerikleri

Solüsyon	İçeriği ve Ekstraksiyon metodu	Üretici firma
Pervari propolisi	10 mg propolis 100 ml etanol %96 lık	Siirt Pervari Bölgesinden elde edilmiştir
Karadut Ekstraktı (Morus nigra.)	10 mg karadut meyvesi 100 ml metanol %99 luk	Bursa yöresine ait karadut tan elde edilmiştir.
Ticari Propolis ekstratı	%30 organik ham propolis, %65 etanol, %5 Su	Eğriçayır çaylı organik tarım ltd Mersin
Kloroben gargara	%0,12 klorheksidin glukonat %0,15 benzidamin HCl	Drogsan, Ankara, Türkiye

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteri Suşlarının Canlandırılması

Temin edilen suşların canlandırma işlemleri, üç defa tekrarlanan pasajlarla koyun kanlı agar besiyeri kullanılarak yapılmıştır.

3.2.2. Antimikrobiyal Ekstrakların Hazırlanması

Propolis ekstratı hazırlanması

Propolis ekstraksiyonu klasik maserasyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Örnekler, -18°C'den çıkarılan derin dondurucudan alındıktan sonra bir blender yardımıyla toz haline getirildi. Ekstraksiyon için 1:10 (g/v) oranında propolis örneği ile %96 etanol karışımı kullanıldı. Karışım, 24 saat boyunca 200 rpm sabit hızda manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra Whatman no 1 süzgeç kâğıdından süzüldü. Daha sonra, 4 gün boyunca etüvde inkübe edildi. Propolis çözeltilisinde kalan etanol hacmi hesaplanarak örnekler -20 derecede saklandı. Son olarak, süzüntü etanol ekstraktı olarak etiketlendi (Eroğlu ve ark.,2004;Burdock,1998;Uzel ve ark.,2005)

Karadut ekstraktının hazırlanması

Karadut meyveleri toplandı. Buzla paketlenildi. Ekstraksiyona kadar donduruldu. Uygun ortam ve sıcaklıkta dondurulmuş karadut örnekleri havan yardımıyla labaratuvar ortamında ezildi. Çözücü olarak 10 gr karaduta 100 ml metanol kullanılarak hazırlandı. 4 gün boyunca etüvde inkübe edildi. Bu süre sonunda örnekler Whatman (no:1) filtre kağıdıyla süzüldü ve çözücüler etüvde uçuruldu. Metanol döner buharlaştırıcıyla buharlaştırıldı. Önce ve sonra yapılan tartımların ardından, meyve ekstratının çözücüsü uçurulmuş ve 0,01 gramlık porsiyonlara ayrılarak eppendorflara konulmuştur. Bu örnekler, analiz işlemleri için kullanılmak üzere -20°C derin dondurucuda saklandı (Park ve ark.,2003;Yiğit ve ark.,2008;Budiman ve ark.,2020)

3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi (Disk Difüzyon Yöntemi)

Antimikrobiyal duyarlılık testinde disk difüzyon yöntemi, mikroorganizmaların belirli antibiyotiklere karşı duyarlılığını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde, belirli miktarda antibiyotik içeren diskler, steril bir pens yardımıyla mikroorganizmanın ekim yapıldığı katı besiyerlerine yerleştirilir. Diskler arasında 22 mm ve petri kabının kenarından 14 mm mesafe bırakılarak, oluşacak inhibisyon zonlarının birbirleriyle etkileşime girmesi engellenir.

Besiyerleri, 37°C'de 18-24 saat boyunca inkübe edilir. Bu süre zarfında, disklerdeki antibiyotikler agara difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma besiyerinde çoğalmaya başlar. İnkübasyon süresi sonunda, antibiyotiğin inhibitör

konsantrasyonlarının etkili olduğu disk çevresinde mikroorganizmanın üremesi engellenir ve inhibisyon zonları oluşur. Mikroorganizmanın antibiyotiğe duyarlılığı arttıkça, inhibisyon zonunun çapı genişler. İnhibisyon zonlarının çapı milimetre (mm) cinsinden ölçülerek standart tablolara göre değerlendirilir. Bu değerlendirme, mikroorganizmanın test edilen antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık veya direnç durumunu belirlemek için yapılır. Standartların belirlenmesi ve yorumlanması, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) veya EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) gibi uluslararası kuruluşlar tarafından yayımlanan kriterler doğrultusunda gerçekleştirilir. Bu standartlar, doğru ve güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlamak amacıyla sürekli güncellenmektedir (Klimik.org, 20.05.2015).

Bu çalışmada Antimikrobiyal solüsyonlar Tıpkimsan medikal ürünler ltd. Şti. den elde edilen Bioanalyse marka boş 5 mm çapındaki antibiyogram disklerine emdirilerek, besiyerlerine yerleştirildi. Her bir diske ticari propolis 10 mg, Pervari propolis 10 mg, CHG 100 µl , karadut 10 mg,%96'lık etanol 100µl , %99'luk metanol 100 µlemdirildi.Oda ısısında kuruyan diskler antibiyogram amacıyla kullanıldı. *S. mutans* ve *E. faecalis*'in kanlı agardaki taze kültüründen fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde 0.5 McFarland yoğunluğunda süspansiyonları hazırlanarak swapla MHA (*E. faecalis*) ve KA (*S. mutans*) besiyerlerine inoküle edildi. Hazırlanan diskler pensle uygun aralıklarla besiyerlerine yerleştirildi. Besiyerleri etüvde inkübe edilerek 24, 48 ve 72 saat sonra oluşan inhibisyon zonları milimetre cinsinden ölçüldü ve analiz edildi. Kontrol için gentamisin diski (Bioanalyse marka) emdirilmiş hazır diskler (Bioanalyse- Ankara) kullanıldı.

3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi (Tüp Dilusyon Yöntemi)

E. faecalis suşunun CHG'a MIC ve minimal bakteriyosidal konsantrasyonunun (MBC) tespiti tüp dilusyon tekniği ile gerçekleştirildi. Bu amaçla MHB besiyerinde CHG'nin ilk konsantrasyonu %5 olacak şekilde %0,39'a kadar iki katlı dilue edildi. *E. faecalis*'in kanlı agardaki taze kültüründen fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde 0.5 McFarland yoğunluğunda süspansiyonları hazırlanarak her tüpe 0.1 ml olacak şekilde inoküle edildi. Akabinde tüpler 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda tüplerde gözle üremenin (bulanıklık) görülmediği son dilusyon MIC değeri olarak kabul edildi. Üremenin görülmediği tüplerden alınan 0.1 ml inokulom kanlı agara ekilerek 37 °C'de aerobik olarak 18-24 saat inkübe edildi. Kolonilerin görülmediği son dilusyon MBC olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak 2 ml MHB besiyerine 0.1 ml 0.5 McFarland yoğunluğundaki

E. faecalis süspansiyonu, negatif kontrol olarak 2 ml MHB besiyeri aynı şartlarda inkube edildi (Arda,2015;CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests,2015)

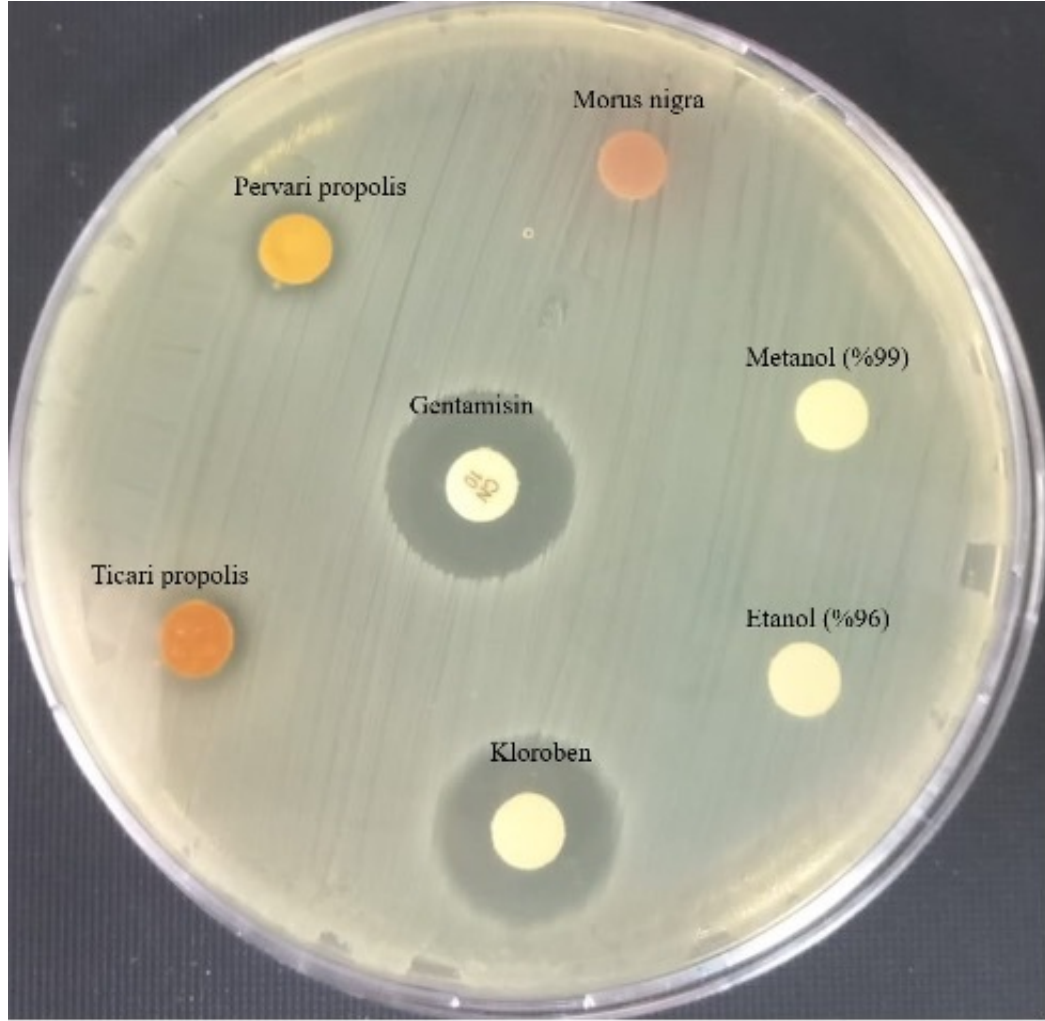
S. mutans suşunun CHG'a karşı MIC ve minimal bakteriyosidal MBC tespiti tüp dilusyon tekniği ile gerçekleştirildi. Bu amaçla BHI besiyerinde CHG'nin ilk konsantrasyonu %5 olacak şekilde %0,39'a kadar iki katlı dilue edildi. *S. mutans*'ın kanlı agardaki taze kültüründen FTS içerisinde 0.5 McFarland yoğunluğunda süspansiyonları hazırlanarak her tüpe 0.1 ml olacak şekilde inoküle edildi. Akabinde 37 °C'de 24 saat inkübasyon yapıldı. Tüplerde gözle üremenin (bulanıklık) görülmediği son dilusyon MIC değeri olarak kabul edildi. Üremenin görülmediği tüplerden alınan 0.1 ml inokulum kanlı agara ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Kolonilerin görülmediği son dilusyon MBC olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak 2 ml BHI besiyerine 0.1 ml 0.5 McFarland yoğunluğundaki *S. mutans* süspansiyonu, negatif kontrol olarak 2 ml BHI besiyeri aynı şartlarda inkube edildi (Arda,2015;Salman ve ark.,2017).

4. BULGULAR

Sunulan tez çalışmasında CHG, metanolik *M. nigra* ekstraktı ve iki farklı etanolik propolis (ticari propolis ve yerel Pervari propolisi) ekstraktı ile disk difüzyon yöntemi ile *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *S. mutans* (ATCC 25175) suşları üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri araştırıldı. Ayrıca çalışmaya dahil edilen suşların klorobene karşı MIC ve MBC değerleri tüp dilüsyon yöntemi kullanılarak belirlendi.

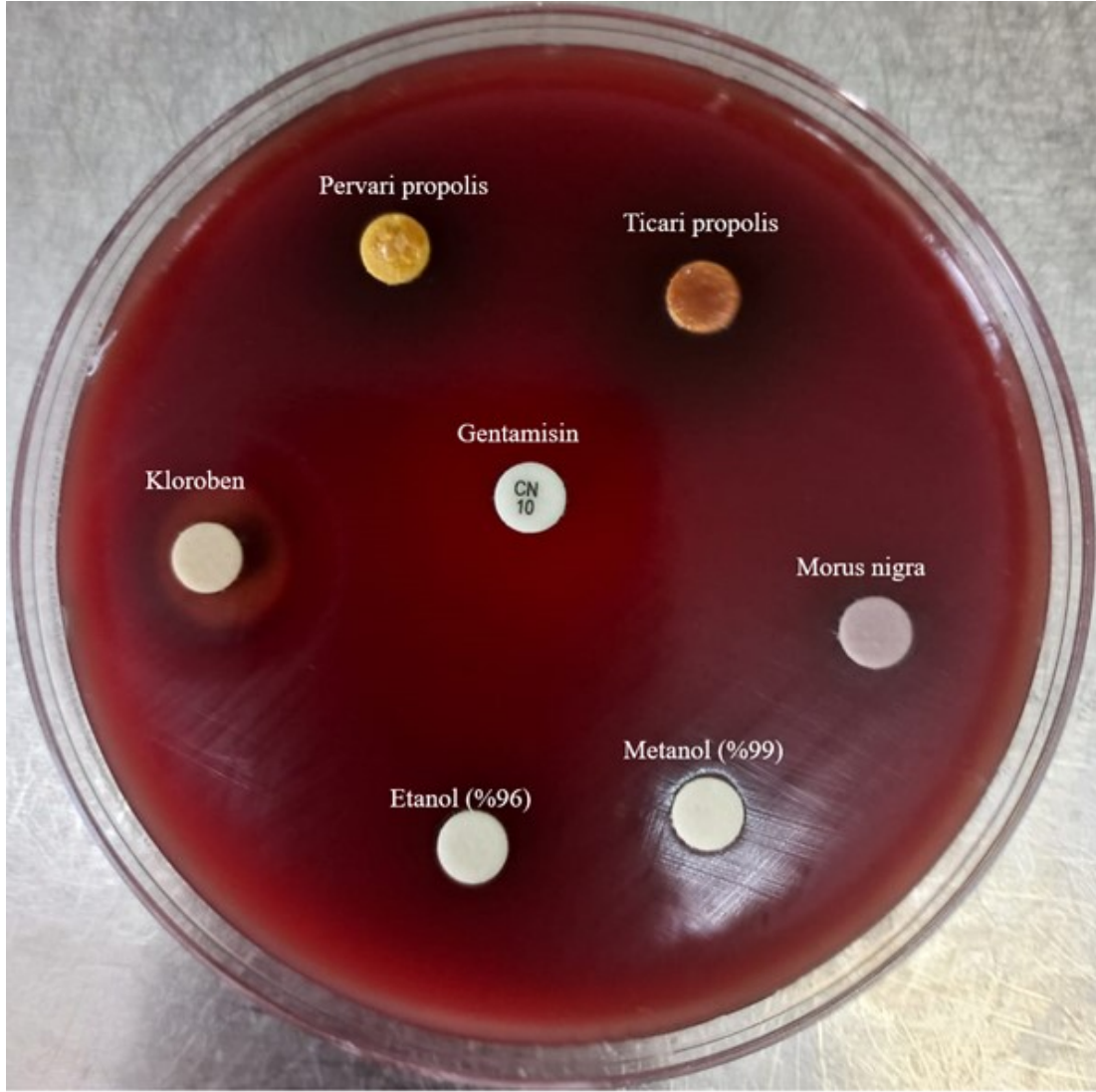
4.1. Disk Difüzyon Bulguları

CHG, *M. nigra* ve propolis ekstraktları ile hazırlanan disklerin *E. faecalis* ve *S. mutans* suşları üzerindeki inhibisyon etkileri Şekil 4.1 ve Şekil 4. 2’de verilmiştir. *E. faecalis* suşu propolis ekstraktları ile hazırlanan disklerle dar bir inhibisyon zonu (Pervari propolis 7.5 mm, ticari propolis 8 mm) meydana getirirken *M. nigra* ekstraktı ve çalışmada çözücü olarak kullanılan etanol ve metanolü diskler inhibisyon zonu meydana getirmediği belirlendi. CHG (100 µl) emdirilen disk ilk 24 saatte 18 mm çapında inhibisyon zonu meydana getirirken, 48. ve 72. saatlerde zon çapları 16 mm olarak ölçüldü. Kontrol olarak kullanılan gentamisin 24 saat sonra oluşturduğu zon çapı 19 mm idi.



Şekil 4.1. *E. faecalis* suşunun çalışmada hazırlanan disklerle gerçekleştirilen antibiyogram test sonucu.

S. mutans suşu *E. faecalis* suşuna benzer şekilde *M. nigra* ve çözücülerin emdirildiği disklerle inhibisyon zonu meydana getirmediği belirlendi. Suş ticari propolis diski ile 13 mm çapında bir zon meydana getirirken Pervari propolisi ile hazırlana disk ile 12 mm çapında bir inhibisyon zonu meydana getirdi. *S. mutans* suşu gentamisinle 21 mm çapında inhibisyon zonu meydana getirirken CHG ile hazırlanan diskler ile 23 mm çapında bir inhibisyon zonu meydana getirdiği belirlendi. CHG ile meydana gelen inhibisyon zonu 48 ve 72. saatlerin sonunda 22 mm olarak ölçüldü.



Şekil 4.2. *S. mutans* suşunun çalışmada hazırlanan disklerle gerçekleştirilen antibiyogram test sonucu.

Çizelge 4.1. *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının gentamisin (10 mcg) CHG, *M. nigra*, ticari propolis ve Pervari propolisi ile hazırlanan disklerle elde edilen zon çapları (değerlendirmeye disk çapları da dahil edilmiştir).

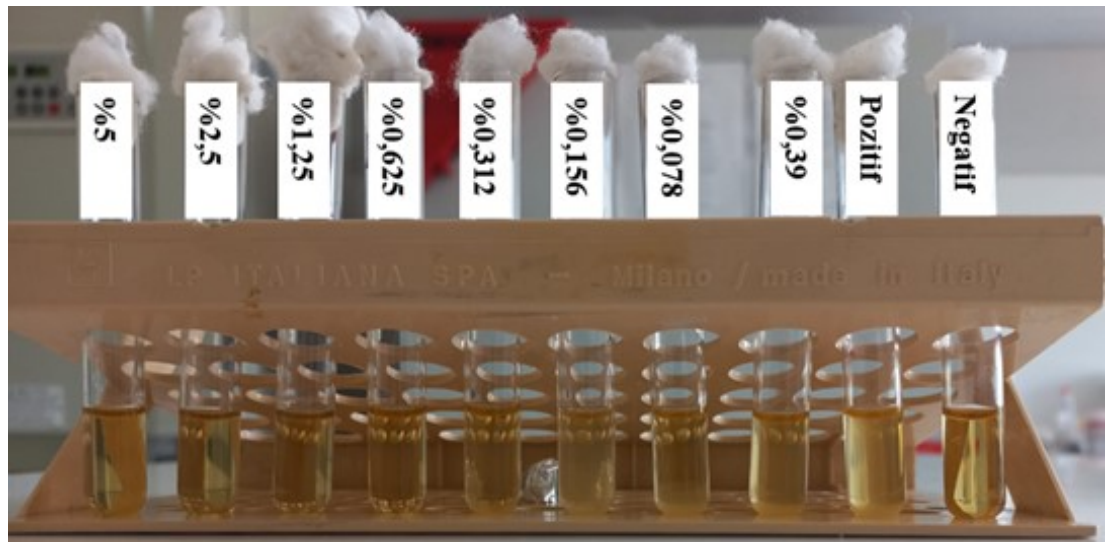
	<i>Streptococcus mutans</i>			<i>Enterococcus faecalis</i>		
	24 saat	48 saat	72 saat	24 saat	48 saat	72 saat
Gentamisin	21 mm	21 mm	21 mm	19 mm	16 mm	16 mm
CHG	23 mm	22 mm	22 mm	18 mm	16 mm	16 mm
Pervari propolis	12 mm	12 mm	12 mm	7,5 mm	7,5 mm	7,5 mm
Ticari propolis	13 mm	13 m	13 mm	8 mm	8 mm	8 mm
<i>Morus nigra</i>	-	-	-	-	-	-

Kontrol (etanol)	-	-	-	-	-	-
Kontrol (metanol)	-	-	-	-	-	-

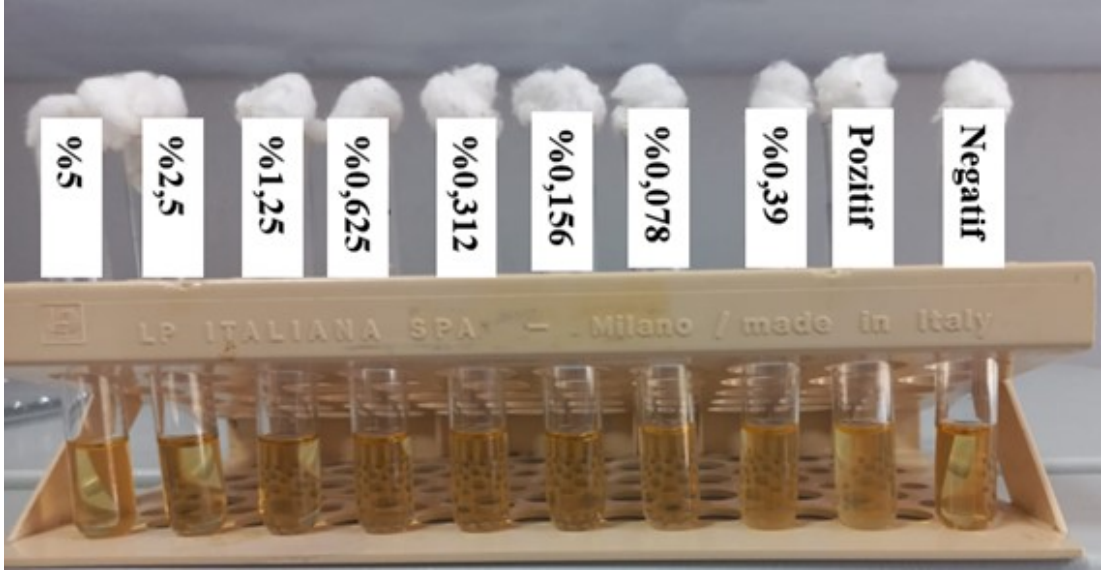
4.2. Tüp dilüsyon Bulguları

Sunulan çalışmada *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının CHG'e karşı MIC ve MBC konsantrasyonları tüp dilüsyon yöntemiyle değerlendirildi. Yapılan analizde Mueller-Hinton buyyonda %5'ten başlayarak iki katlı sulandırılması yapılan CHG'in

E. faecalis suşu için MIC değerinin %0,625 olduğu belirlendi (Şekil 4.3). MBC değerinin belirlenmesi amacıyla her tüpten 0,1 ml alınarak Mueller-Hinton agara yapılan ekimlerin tamamında üremenin görülmesi nedeniyle bakteriyosidal konsantrasyonu hesaplanamadı.



Şekil 4.12. *E. faecalis* suşunun MIC değeri.



Şekil 4.13. *S. mutans* suşunun MIC değeri.

S. mutans suşunun CHG'e karşı *E. faecalis*'e göre daha duyarlı olduğu belirlendi. *S. mutans* suşunun MIC değeri %0,078 olduğu tespit edilirken, MBC değerinin %0,3125 olarak hesaplandı (Şekil 4.4).

5. TARTIŞMA

Bu araştırma, CHG, *M. nigra* ekstraktı ve propolis ekstraktlarının *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarına karşı antimikrobiyal etkilerini değerlendirerek, doğal kaynaklardan elde edilen maddelerin potansiyel antimikrobiyal etkilerini ortaya koymayı amaçlamaktadır. Elde edilen sonuçlar, bu maddelerin farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve çeşitli faktörlerin bu etkileri nasıl değiştirebileceğini açıklamaktadır.

CHG, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkisiyle diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Scheie,2003).

Araştırmamızda, CHG'nin *E. faecalis* suşunda 18 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturduğu ve bu etkinin zamanla azaldığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, *S. mutans* suşunda 23 mm çapında inhibisyon zonu oluştururken 48. ve 72. saatlerde zon çapı 22 olarak ölçüldü.

Klorheksidinin diş plağı üzerindeki etkisi, Ainamo ve arkadaşlarının çalışmasıyla desteklenmektedir; klorheksidin asetat içeren sakızın diş plağını tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir (Ainamo ve ark.,1990). Ayrıca, CHG'nin %1'lik jel ve vernik formlarının diş restorasyonları üzerinde *S. mutans* seviyelerinde belirgin azalma sağladığı da Heintze ve Twetman tarafından rapor edilmiştir (Heintze ve ark.,2002). Schaeken ve arkadaşlarının çalışması da, klorheksidin içeren cilaların uzun süreli antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (Schaeken ve ark.,1989). Düzyol ve arkadaşları, çocuklarda CHG içerikli kavite dezenfektanı kullanarak plak tutulumunu engellediklerini ve *Lactobacillus* , *S. mutans* ve *Enterococcus* üzerinde etkili olduğunu bulmuşlardır (Düzyol ve ark.,2021). Ayrıca, CHG'nin diğer maddelerle karşılaştırıldığında *E. faecalis* 'e karşı etkili olduğu da gösterilmiştir (Ekim ve ark.,2016). Çalışmamızda, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının CHG karşısındaki MIC ve MBC değerleri belirlendi. *E. faecalis* için MIC %0,625 olup, MBC hesaplanamadı; bu, CHG'in büyümeyi durdurduğunu ancak bakterisidal etkisinin olmadığını veya çok yüksek konsantrasyonlarda gerçekleştiğini göstermektedir. *S. mutans* için MIC %0,078, MBC %0,3125 olarak tespit edildi; bu, CHG'in *S. mutans* üzerinde daha etkili olduğunu göstermektedir.

E. faecalis'in dirençli yapısı, bu bakterinin klinik tedavisinde zorluk yaratırken, *S. mutans*'in daha duyarlı olması, CHG'in bu patojen üzerinde daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Antiseptik kullanımında, farklı bakterilerin bu tür

farklılıkları dikkate alınmalıdır.

Propolis, doğal bir antimikrobiyal ajan olarak dikkat çekmektedir. Çalışmamızda, propolisin *E. faecalis* suşunda dar bir inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir (Pervari propolis 7.5 mm, ticari propolis 8 mm). *S. mutans* suşunda ise ticari propolis 13 mm, Pervari propolisi 12 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuştur. Propolisin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda genel olarak hedef mikroorganizma, propolis kaynakları ve ekstraksiyon yönteminin antimikrobiyal aktivite üzerinde önemli bir etkisi bulunduğu ortaya koyulmuştur (Stepanović ve ark.,2003;Kartal ve ark.,2003;Kubiliene Ve ark.,2015).Sunulan çalışmada iki farklı kaynaktan elde edilen etanolik propolis ekstraksiyonlarının aynı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinde önemli bir farklılık gözlenmedi. Ancak *E. faecalis* ve *S. mutans* suşları üzerinde aynı propolis disklerinin meydana getirmiş olduğu inhibisyon zon çaplarında önemli farklılık olduğu belirlendi.

Aslan ve arkadaşları, metanol ekstraktlı propolisin en iyi inhibitör etkiyi gösterdiğini saptarken, Alencar ve arkadaşları Brezilya propolisinin etanol ekstraktının yüksek inhibitör etkilerini rapor etmiştir (Arslan ve ark.,2010;Alencar ve ark.,2007). Uzel ve ark. (2005) Türkiye'nin farklı bölgelerden alınan propolis örneklerinin Gram-pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğunu bildirmiştir (Uzel ve ark.,2005). Mevcut çalışmada propolis ekstraksiyonları iki farklı Gram pozitif kok üzerindeki antimikrobiyal etkisi değerlendirildi.

Bu bulgular, propolisin antimikrobiyal etkilerinin coğrafi köken ve bileşime bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir.

Propolisin *S. mutans*'ın büyümesini inhibe ettiği ve glukoziltransferaz enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Hayacibara ve ark.,2005). Apigenin ve trans-trans farnesol gibi bileşenlerin antibiyofilm ve antikaryojenik etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Koo ve ark.,2002). Almanya, Avusturya ve Fransa'dan toplanan propolis örneklerinin antimikrobiyal etkinlikleri de bu bulguları desteklemektedir (Hegazi ve ark.,2000). Seidel ve arkadaşları, propolisin coğrafi ve iklimsel faktörlere bağlı olarak antimikrobiyal potansiyelinin değişebileceğini belirtmiştir (Seidel ve ark.,2008).

M. nigra meyve ekstraktı, çalışmamızda beklenen antimikrobiyal etkiyi göstermemiştir. Disk difüzyon sonuçlarında belirgin bir inhibisyon zonu

oluşturmamıştır. Bu durum, Yiğit ve arkadaşlarının çalışmasıyla çelişmektedir; onlar, *M. nigra* 'nın çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiğini rapor etmiştir (Yiğit ve ark.,2008).Salem ve arkadaşları, *M. nigra* 'nın *E. faecalis* 'e karşı en yüksek etkiyi gösterdiğini bildirmiştir (Salem ve ark.,2022)

Başka çalışmalarda, *M. alba*'dan izole edilen Kuwanon G'nin, diş çürüklerine neden olan *S. mutans* 'a karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Park ve ark.,2003). *M. nigra*'nın etanollü solüsyonunun da bakteri hücre duvarına zarar veren antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Budiman ve ark.,2020). Ancak, bizim çalışmamızda *M. nigra*'nın beklenen antimikrobiyal etkiyi göstermemesi, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, test edilen bakteri suşları ve *M. nigra* örneklerinin coğrafi kökeni gibi faktörlerle açıklanabilir.

Bu çalışma, CHG, propolis ve *M. nigra* ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmekte ve bu doğal ürünlerin potansiyel klinik kullanımını destekleyen bulgular sunmaktadır. Özellikle, CHG'nin hızlı ve güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği, propolisin antimikrobiyal etkilerinin coğrafi köken ve bileşimlere bağlı olarak değişebileceği ve *M. nigra*'nın beklenen etkiyi göstermediği belirlenmiştir. *M. nigra*'nın antimikrobiyal etkileri konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma da CHG, metanolik *M. nigra* ekstraktı ve iki farklı etanolik propolis (ticari propolis ve yerel Pervari propolisi) ekstraktının *E. faecalis* ve *S. mutans* suşları üzerindeki antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon yöntemi ile değerlendirmiştir. Ayrıca, suşların CHG'ye karşı MIC ve MBC değerleri tüp dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuç olarak, CHG 'nin bu çalışmada ortaya koyduğu etkileyici disk difüzyon bulguları, antimikrobiyal potansiyeli bakımından dikkat çekicidir. Tüp dilüsyon yöntemindeki bulgularda ise CHG 'nin *E. faecalis* suşu için MIC değeri %0,625 olarak belirlenmiştir. *S. mutans* suşu, CHG'ye *E. faecalis*'e göre daha duyarlı olup, MIC değeri %0,078 ve MBC değeri %0,3125 olarak tespit edilmiştir.

Propolisin etkisi CHG 'ye göreaz olmasına rağmen etkinlik gösterdiği gözlenmiştir. Ancak, *M. nigra* gibi doğal kaynaklardan elde edilen maddelerin antimikrobiyal potansiyellerinin daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesi, özellikle *M. nigra* ekstraktının zayıf etkisizliği ve propolis kaynakları arasındaki farklılıkların anlaşılması için ileri düzeyde araştırmaların yapılması gereklidir. Ayrıca, bu doğal kaynaklardan elde edilen maddelerin klinik uygulamalarda nasıl kullanılabileceğini anlamak için daha fazla çalışma ve derinlemesine incelemeler yapılmalıdır.

7. ÖNERİLER

Bu bulgular, özellikle CHG 'nin hızlı ama sınırlı bir antimikrobiyal etki gösterdiği, *M. nigra*'nın etkisiz olduğu ve propolis ekstraktlarının suşlara bağlı olarak değişen etkiler gösterdiği sonucunu ortaya koymaktadır. Gelecekteki çalışmalar, bu doğal kaynaklardan elde edilen bileşenlerin mikroorganizmalara etkilerini daha ayrıntılı bir şekilde anlamak ve bu bulguların klinik uygulamalara nasıl yansıtılabileceğini değerlendirmek açısından önemli olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abachi, S., Lee, S., & Rupasinghe, H. P. (2016). Molecular mechanisms of inhibition of *Streptococcus* species by phytochemicals. *Molecules*, 21(2), 215. <https://doi.org/10.3390/molecules21020215>
- Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101, 1383-1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.013>
- Ainamo, J., Nieminen, A., & Westerlund, U. (1990). Optimal dosage of chlorhexidine acetate in chewing gum. *Journal of Clinical Periodontology*, 17(10), 729-733. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1990.tb01087.x>
- Alencar, S. M., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., et al. (2007). Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 278-283. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.005>
- Ankara Üniversitesi Açık Ders Malzemeleri. (n.d.). Retrieved July 11, 2024, from <https://acikders.ankara.edu.tr/mod/resource/view.php?id=11292>
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2012). The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 10(4), 266-278. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2761>
- Arslan, S., Perçin, D., Silici, S., & Özgür, E. R. (2010). Farklı çözücülerle hazırlanan propolis özütlerinin *Mutans Streptokoklar* üzerine *in vitro* antimikrobiyal etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19(1), 68-73.
- Bae, S. H., & Suh, H. J. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT Food Science and Technology*, 40, 955-962. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.05.001>
- Bankova, V., & Marcucci, M. C. (2000). Standardization of propolis: Present status and perspectives. *Bee World*, 81(4), 182-188. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2000.11099552>
- Baydaş, B., & Kavrut, F. (2005). Ortodontik tedavi gören bireylerde farklı gargaraların ağız sağlığına etkilerinin değerlendirilmesi. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 15, 1-12.
- Baylan, O. (2019). *Enterokok Enfeksiyonlarında İmmünopatogenez ve Virülans Faktörleri* [Immunopathogenesis and virulence factors in enterococcal infections]. *Nobel Med*, 15, 5-16.
- Beighton, D., Russell, R. R., & Hayday, H. (1981). The isolation and characterization of *Streptococcus mutans* serotype h from dental plaque of monkeys (*Macaca fascicularis*). *Microbiology*, 124(2), 271-279. <https://doi.org/10.1099/00221287-124-2-271>
- Berchier, C. E., Slot, D. E., & Van der Weijden, G. A. (2010). The efficacy of 0.12% chlorhexidine mouthrinse compared with 0.2% on plaque accumulation and

- periodontal parameters: A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(9), 829-839. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01583.x>
- Berkowitz, R. J. (2003). Acquisition and transmission of mutans streptococci. *Journal of the California Dental Association*, 31(2), 135-138.
- Bosio, K., Avanzini, C., D'Avolio, A., Ozino, O., & Savoia, D. (2000). In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 31, 174-177. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2000.00798.x>
- Budiman, A., & Aulifa, D. L. (2020). Antibacterial activity and mode of action of Black Mulberry (*Morus nigra*) fruits extract against *Streptococcus mutans*. *Pharmacognosy Journal*, 12(6s). <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12s.102>
- Budtz-Jørgensen, E., & Løe, H. (1972). Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. *European Journal of Oral Sciences*, 80(6), 457-464. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1972.tb00820.x>
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36, 347-363. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)00145-](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-)
- Chen, H., Pu, J., Liu, D., Yu, W., Shao, Y., Yang, G., ... & He, N. (2016). Anti-inflammatory and antinociceptive properties of flavonoids from the fruits of black mulberry (*Morus nigra* L.). *PLOS ONE*, 11(4), e0153080. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153080>
- Clarke, J. K. (1924). On the bacterial factor in the etiology of dental caries. *British Journal of Experimental Pathology*, 5, 141-147.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Coykendall, A. L. (1983). *Streptococcus sobrinus* nom. Rev. And *Streptococcus ferus* nom. Rev.: Habitat of these and other mutans streptococci. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 33, 883-885. <https://doi.org/10.1099/00207713-33-4-883>
- Cui, T., Luo, W., Xu, L., et al. (2019). Progress of antimicrobial discovery against the major cariogenic pathogen *Streptococcus mutans*. *Current Issues in Molecular Biology*, 32, 601-644. <https://doi.org/10.21775/cimb.032.601>
- Çelik, C., Uysal, E. B., Gözel, M. G., Bakıcı, M. Z., & Elaldı, N. (2013). Kan Dolaşımı İnfeksiyonlarından İzole Edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* Bakterilerinin Antimikrobiyal Direnç Paterni [Antimicrobial resistance pattern of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from bloodstream infections]. *FLORA*, 18, 83-89.
- Çelik, Y. (2023). Karadut (*Morus nigra*) içeriği ve oral mukozit bakımı. *Anadolu*

Tıbbı Dergisi, 2(2), 13-17.

- Çetinkaya Sardan, Y. (2002). Enterokoklarla Gelişen İnfeksiyonlar [Infections caused by enterococci]. *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi*, 5, 61-67.
- Davies, G., Francis, J., Mart'in, A., Rose, F., & Swain, G. (1954). 1:6-di-4'-chlorophenyldiguanidohexane ("hibitane"). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 9(2), 192-196.
- de Soet, J. J., van Loveren, C., Lammens, A. J., Pavicić, M. J., Homburg, C. H., ten Cate, J. M., & de Graaff, J. (1991). Differences in cariogenicity between fresh isolates of *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 25(2), 116-122. <https://doi.org/10.1159/000261423>
- Dığrak, M., Yılmaz, Ö., Çelik, S., & Yıldız, S. (1995). Propolisteki yağ asitleri ve antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar [Fatty acids in propolis and their antimicrobial effects: In vitro studies]. *Gıda*, 20(4), 249-255.
- Diani, M., Ariafar, M. N., & Akçelik, N. (2016). İnsan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturan enterokokal biyofilm yapısının doğası [The nature of enterococcal biofilm structure posing risks to human and animal health]. *Turkish Journal of Dental Sciences*, 73, 71-80.
- Düzyol, E., Gürbüz, T., & Barıř, Ö. (2021). Antimicrobial efficacy of ozone therapy on cariogenic bacteria. *Meandros Medical and Dental Journal*, 22, 1-7. <https://doi.org/10.4274/meandros.galenos.2021.44134>
- Ekim, ř. N. A., Erdemir, A., Kaya, O. E., & Çiftçi, H. (2016). Alternatif irrigasyon solüsyonu olarak gümüş nanoparçacıkların *Enterococcus faecalis* üzerine antibakteriyel etkisi. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi Dergisi*, 26(2).
- Elmacı, Y., & Altug, T. (2002). Flavour evaluation of three black mulberry (*Morus nigra*) cultivars using GC/MS, chemical and sensory data. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 632-635. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1093>
- Eroğlu, H. E., Tatlışen, A., & Özkul, Y. (2004). Mesane kanserli doku kültürlerindeki mikronükleus üzerine propolis ve mitomisin-c 'nin etkileri [Effects of propolis and mitomycin-c on micronucleus in bladder cancer tissue cultures]. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 15-20.
- Facklam, R. R., & Teixeria, L. M. (1998). *Enterococcus*. In L. Collier, A. Balows, & M. Sussman (Eds.), *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol 2 (Systematic Bacteriology)* (9th ed., pp. 669-682). Edward Arnold.
- Fardal, O., & Turnbull, R. S. (1986). A review on the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *Journal of the American Dental Association*, 112, 863-869.
- Gehlen, I., Netuschil, L., Berg, R., Reich, E., & Katsaros, C. (2000). The influence of

- a 0.2% chlorhexidine mouthrinse on plaque regrowth in orthodontic patients. A randomized prospective study. Part I: Clinical parameters. *Journal of Orofacial Orthopedics*, 61, 54-62. <https://doi.org/10.1007/BF03033077>
- Gibbons, R. (1984). Microbial ecology adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. *Journal of Dental Research*, 63(3), 378-385.
- Gjeramo, P., Bonesvoll, P., & Rolla, G. (1974). Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Archives of Oral Biology*, 19(11), 1031-1034. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(74\)90023-0](https://doi.org/10.1016/0003-9969(74)90023-0)
- Grenier, D. (1996). Effect of chlorhexidine on the adherence properties of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical Periodontology*, 23(2), 140-142. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1996.tb00524.x>
- Güngör, N., & Sengül, M. (2008). Antioxidant activity, total phenolic content and selected physicochemical properties of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Properties*, 11, 44-52. <https://doi.org/10.1080/10942910701589192>
- Hasnamudhia, F., Bachtiar, E. W., Sahlan, M., & Soekanto, S. A. (2017). The effect of CPP-ACP-propolis chewing gum on calcium and phosphate ion release on caries-active subjects' saliva and the formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *Journal of Physics: Conference Series*, 884(1), 012137. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/884/1/012137>
- Hayacibara, M. F., et al. (2005). In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.002>
- Hegazi, A. G., Abd El Hady, F. K., & Abd Allah, F. A. (2000). Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. *Zeitschrift für Naturforschung*, 55, 70-75.
- Heintze, S. D., & Twetman, S. (2002). Interdental mutans streptococci suppression in vivo: A comparison of different chlorhexidine regimens in relation to restorative material. *American Journal of Dentistry*, 15, 103-108.
- Hennessy, T. (1977). Antibacterial properties of Hibitane. *Journal of Clinical Periodontology*, 4, 36-48. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1977.tb01838.x>
- Jain, I., Jain, P., Bisht, D., Sharma, A., Srivastava, B., & Gupta, N. (2015). Use of traditional Indian plants in the inhibition of caries-causing bacteria--*Streptococcus mutans*. *Brazilian Dental Journal*, 26(2), 110-115. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201300091>
- Kartal, M., Yıldız, S., Kaya, S., Kurucu, S., & Topçu, G. (2003). Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(1), 69-73. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00072-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00072-2)

- Khinda, V. I., et al. (2017). Clinical and practical implications of storage media used for tooth avulsion. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 10(2), 158-165. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1448>
- Khurshid, Z., et al. (2017). Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *Journal of Dental Research Dental Clinics Dental Prospects*, 11(4), 265-274. <https://doi.org/10.15171/joddd.2017.041>
- Kırmusaoğlu, S. (2019). Streptokoklar ve Enterokoklar [Streptococci and enterococci]. In A. D. Us & A. Başustaoğlu (Eds.), *Sherris Tıbbi Mikrobiyoloji* (pp. 473-499). Hipokrat Yayıncılık.
- Klimik Derneği. (2012). Enfeksiyon Kontrolü Rehberi. Retrieved May 20, 2015, from <http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenber, P. C., & Winn, W. C. (Eds.). (1997). The Gram-positive Cocci Part II: Streptococci, Enterococci, and "Streptococcus-like" Bacteria. In *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (5th ed., pp. 577-649).
- Koo, H., Pearson, S. K., Scott-Anne, K., et al. (2002). Effects of apigenin and t-farnesol on glucosyltransferase activity, biofilm viability and caries development in rats. *Oral Microbiology and Immunology*, 17(6), 337-343. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.2002.170601.x>
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., ... & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, Article 156. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0663-6>
- Küşümler, A. S., & Çelebi, A. (2021). Propolis ve sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 19(1), 89-97. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.912388>
- Lei, L., Long, L., Yang, X., et al. (2019). The VicRK Two-Component System Regulates *Streptococcus mutans* Virulence. *Current Issues in Molecular Biology*, 32, 167-200. <https://doi.org/10.21775/cimb.032.167>
- Lin, Y., Chen, J., Zhou, X., & Li, Y. (2021). Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(5), 667-677. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1923746>
- Loesche, W. J. (1996). Microbiology of dental decay and periodontal disease. In S. Baron, et al. (Eds.), *Baron's Medical Microbiology* (4th ed., pp. 141-147). University of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1.
- Marcenes, W., Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Flaxman, A., Naghavi, M., Lopez, A., et al. (2013). Global burden of oral conditions in 1990-2010: A systematic analysis. *Journal of Dental Research*, 92(7), 592-597. <https://doi.org/10.1177/0022034513490168>

- Mattigatti, S., Ratnakar, P., Moturi, S., Varma, S., & Rairam, S. (2012). Antimicrobial effect of conventional root canal medicaments vs propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 13(3), 305-309. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1091>
- Meral, R., & Doğan, İ. S. (2012). Karadut (*Morus nigra*) katkılı ekmeğin antioksidan aktivitesi ve fenolik kompozisyonu. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2(4), 43-48. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/jist/issue/7932/104344>
- Moellering, R. C., Jr. (2005). *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. In G. L. Mandell, J. E. Bennett, & R. Dolin (Eds.), *Principles and Practice of Infectious Diseases* (5th ed., pp. 2411-2421). Churchill Livingstone.
- Moran, J., Addy, M., & Newcombe, R. (1997). A 4-day plaque regrowth study comparing an essential oil mouthrinse with a triclosan mouthrinse. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9), 636-639. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00290.x>
- Mustafa, A. (2015). *Temel Mikrobiyoloji*. Medisan Yayınları.
- Nallapareddy, S. R., Singh, K. V., Sillanpää, J., Garsin, D. A., Höök, M., Erlandsen, S. L., et al. (2006). Endocarditis and biofilm-associated pili of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Clinical Investigation*, 116(10), 2799-2807. <https://doi.org/10.1172/JCI29021>
- Oppegaard, O., Mylvaganam, H., & Kittang, B. R. (2015). Betahaemolytic group A, C and G streptococcal infections in Western Norway: A 15 year retrospective survey. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(2), 171-177. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.10.019>
- Oruç, H. H., Sorucu, A., Ünal, H. H., & Aydın, L. (2017). Mevsim ve Rakımın Propolisteki Biyolojik Olarak Aktif Belirli Fenolik Bileşiklerin Düzeylerine Etkisi ve Propolisin Kısmi Standardizasyonu [Effect of season and altitude on levels of biologically active phenolic compounds in propolis and partial standardization of propolis]. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 64, 13-20.
- Paganelli, F. L., Willems, R. J., & Leavis, H. L. (2012). Optimizing future treatment of enterococcal infections: Attacking the biofilm? *Trends in Microbiology*, 20(1), 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.11.005>
- Park, K. M., et al. (2003). Kuwanon G: An antibacterial agent from the root bark of *Morus alba* against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3), 181-185. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00326-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00326-1)
- Park, S. Y., Shin, Y. P., Kim, C. H., Park, H. J., Seong, Y. S., Kim, B. S., et al. (2008). Immune evasion of *Enterococcus faecalis* by an extracellular gelatinase that cleaves C3 and iC3b. *Journal of Immunology*, 181(9),

6328-6336. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.9.6328>

- Pietta, P. G., Gardana, C., & Pietta, A. M. (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73(Suppl. 1), 7–20. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00032-7](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00032-7)
- Pinheiro, E. T., et al. (2004). Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. *International Endodontic Journal*, 37(11), 756-763. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2004.00855.x>
- Rajoo, M., Parolia, A., Pau, A., & Amalraj, F. D. (2014). The role of propolis in inflammation and orofacial pain: A review. *Annual Research & Review in Biology*, 4(4), 651-664. Retrieved from <https://www.journalarrb.com/index.php/ARRB/article/view/2515>
- Rathnayake, I. U., Hargreaves, M., & Huygens, F. (2012). Antibiotic resistance and virulence traits in clinical and environmental *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(5), 326-333. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.05.007>
- Roberts, W. R., & Addy, M. (1981). Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexetidine. Relevance to mode of action. *Journal of Clinical Periodontology*, 8(4), 295-310. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1981.tb02028.x>
- Salem, M. A., Salama, M. M., Ezzat, S. M., & Hashem, Y. A. (2022). Comparative metabolite profiling of four polyphenol rich *Morus* leaves extracts in relation to their antibiofilm activity against *Enterococcus faecalis*. *Scientific Reports*, 12(1), Article 20168. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-42095-2>
- Salman, H. A., Senthilkumar, R., Imran, K., & Selvam, K. P. (2017). Isolation and typing of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* from caries-active subjects. *Contemporary Clinical Dentistry*, 8(4), 587-593. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_337_17
- Schaeken, M. J. M., & De Haan, P. (1989). Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. *Journal of Dental Research*, 68(2), 119-123. <https://doi.org/10.1177/00220345890680020501>
- Scheie, A. A. (2003). The role of antimicrobials. In O. Fejerskov & E. A. M. Kidd (Eds.), *Dental caries: The disease and its clinical management* (pp. 179-188). Oxford: Blackwell Munksgaard.
- Seidel, V., Peyfoon, E., Watson, D. G., & Fearnley, J. (2008). Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. *Phytotherapy Research*, 22, 1256-1263. <https://doi.org/10.1002/ptr.2466>
- Sorucu, A., & Oruç, H. H. (2019). Determination of biologically active phenolic compounds in propolis by LC–MS/MS according to seasons and altitudes.

- Journal of Food Measurement and Characterization, 13(3), 2461-2469.
<https://doi.org/10.1007/s11694-019-00199-4>
- Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I., & Švabić-Vlahović, M. (2003). Propolisin in vitro antimikrobiyal aktivitesi ve propolis ile antimikrobiyal ilaçlar arasındaki sinerji. Mikrobiyolojik Araştırmalar, 158(4), 353-357.
- Sterer, N., & Rubinstein, Y. (2006). Effect of various natural medicinals on salivary protein putrefaction and malodor production. Quintessence International, 37, 653-658.
- Stuart, C. H., Schwartz, S. A., Beeson, T. J., & Owatz, C. B. (2006). Enterococcus faecalis: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. Journal of Endodontics, 32(2), 93-98.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.049>
- Şahinler, N. (2000). Arı Ürünleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi [Importance of bee products for human health]. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 5(1-2), 139-148.
- Teixeira, L. A., & Facklam, R. R. (2003). Enterococcus. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, & R. H. Tenover (Eds.), Manual of Clinical Microbiology (8th ed., pp. 422-433). ASM Press.
- Thomas, V. C., Hiromasa, Y., Harms, N., Thurlow, L., Tomich, J., & Hancock, L. E. (2009). A fratricidal mechanism is responsible for e-DNA release and contributes to biofilm development of Enterococcus faecalis. Molecular Microbiology, 72(5), 1022-1036.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06705.x>
- Uzel, A., Sorkun, K., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö., & Salih, B. (2005). Chemical composition and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiological Research, 160, 189-195.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.11.003>
- Yılmaz, S. (2020). Aerobik Gram-Pozitif Koklar [Aerobic Gram-Positive Cocci]. In A. D. Us & A. Başustaoglu (Eds.), Diş Hekimliğinde Mikrobiyoloji (pp. 89-99). Hipokrat Yayıncılık.
- Yiğit, D., & Yiğit, N. (2008). Antibacterial activity of black mulberry (Morus nigra) fruits and leaves. Erzincan University Journal of Science and Technology, 1(1), 39-48.
- Yiğit, N., Yiğit, D., Özgen, U., & Aktaş, A. E. (2007). Kara dut (Morus nigra L.)'un antikandidal aktivitesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 37(3), 169-173.
- Yüce, A., Karaman, M., Gülay, Z., & Yulug, N. (1999). Yenidoganlarda vankomisin dirençli enterokokların fekal taşıyıcılığı [Fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci in newborns]. ANKEM Derg, 13, 7-11.
- Zhu, W., Liu, S., Zhuang, P., Liu, J., Wang, Y., & Lin, H. (2017). Characterization of acid-tolerance-associated small RNAs in clinical isolates of Streptococcus mutans: Potential biomarkers for caries prevention. Molecular Medicine

Reports, 16(6), 9242-9250. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7663>

Zoletti, G. O., Siqueira, J. F. Jr, & Santos, K. R. (2006). Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. *Journal of Endodontics*, 32(8), 722-726. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2006.02.007>