

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

YEŞİL SENTEZLE ELDE EDİLEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLER İLE KATKILANDIRILMIŞ AĞIZ
GARGARASININ ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dt. İsmayıl HUSEYNLI

Periodontoloji Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Recep ORBAK

ERZURUM
2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**YEŞİL SENTEZLE ELDE EDİLEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLER
İLE KATKILANDIRILMIŞ AĞIZ GARGARASININ
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt. İsmayıl HUSEYNLI

Tez Savunma Tarihi : 16.06.2023
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Recep ORBAK
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Recep ORBAK
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Turgut DEMİR
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI

Onay

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

Prof. Dr. Recep ORBAK
Fakülte Dekanı

Uzmanlık Tezi
ERZURUM – 2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bitkilerin Tıbbi Açıdan Önemi	3
2.2. <i>Thymbra spicata</i> L.	3
2.2.1. <i>Thymbra spicata</i> L. Bitkisinin Genel Özellikleri, Yapısal Analizi ve Kullanımı... 3	
2.3. Nanoteknoloji.....	5
2.3.1 Dış Hekimliğinde Nanoteknoloji	6
2.4. Nanopartiküller	8
2.4.1. Nanopartiküllerin Sentezlenmesi	9
2.4.2. Yeşil Sentez	11
2.4.3. Metalik Nanopartikül Sentezi	12
2.5. Gümüş (Ag) Nanopartiküller	13
2.5.1. Gümüş Nanopartiküllerin Biyoredüksiyonu	13
2.5.2. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri	14
2.5.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu.....	14
2.5.2.2. X-ışını difraktometresi Analizi	14
2.5.2.3. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre Analizi	14

2.5.2.4. UV-Visible Spektrofotometre Analizi	15
2.5.3. Gümüş Nanopartiküllerin Biyomedikal Uygulamaları	15
2.5.4. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktiviteleri	15
2.6. Diş Hekimliği ve Gümüş Nanopartiküller	16
2.6.1. Oral Mikrobiyoloji	17
2.6.2. Pediyatrik Diş Hekimliği	18
2.6.3. Koruyucu Diş Hekimliği	19
2.6.4. Ortodonti	20
2.6.5. Endodonti	20
2.6.6. Periodontoloji	21
2.6.7. Dental İmplantoloji	21
2.7. Ağız Gargaraları	22
2.7.1. Klorheksidin	23
2.7. Bakteriler	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. <i>T. spicata</i> L. bitki özütünün hazırlanması	27
3.2. AgNP Sentezi	27
3.3. AgNP yapısının karakterizasyonu değerlendirilmesi	28
3.4.1. Agar well difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi	30
4. BULGULAR	33
4.1. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	33
4.1.1. SEM Analizi	33
4.1.2. XRD analizi	33
4.1.3. FTIR analizi	34
4.1.4. UV-Visible Spektrofotometre	35

4.2. Hazırlanan Solüsyonların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi.....	35
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKÇA.....	53
EKLER	79
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	79
EK 2. ETİK KURUL KARARI.....	80



TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezim süresince desteğini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Recep ORBAK’a

Eğitimim boyunca bana her konuda yol gösteren, beni büyük bir sabırla dinleyen ve fikirlerime değer veren Prof. Dr. Turgut DEMİR’e

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan başta Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI’ya, Prof. Dr. Alparslan DİLSİZ’e, Prof. Dr. Taner ARABACI’ya, Dr. Öğr. Üyesi Tuğba AYDIN’a, Dr. Öğr. Üyesi Didem ÖZKAL EMİNOĞLU’na, Dr. Öğr. Üyesi Yelda ÖZKAN KARASU’ya, Dr. Öğr. Üyesi Semanur SEVİNÇ GÜL’e

Tez çalışmamın tüm deneysel süreçlerinde yardımlarını esirgemeyen bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Atatürk Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Nanobilim ve Nanomühendislik Araştırma ve Uygulama Merkezi başkanı Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU’na

Tezimin laboratuvar çalışmalarını gerçekleştiren, desteğini esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Özlem BARIŞ’a

Uzmanlık eğitimim süresince yakın dostluğu, güler yüzlü ve pozitif enerjisi ile yanımda olan ve güzel yarınlar için iyi öğrenciler yetiştireceğine emin olduğum Pedodonti ABD öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Periş ÇELİKEL’e

Fakültedeki eğitim hayatıma birlikte başladığım, beraber çalışmaktan büyük keyif aldığım sevgili dönem arkadaşlarım başta Dt. Gülsüm Dal’a, Dt. Dilek Biçer’e ve Dt. Beyza Nur Şahin’e

Her biri ile çalışmanın bana bir aile ortamını hissettirdiği, tüm asistan arkadaşlarıma, bölüm çalışanlarına ve küçük kardeşim kadar değer verdiğim öğrencilerimize

Hayatımın her anında yanımda olan eğitimim süresince desteğini esirgemeyen,
beni bugünlere getiren, sevgili babama ve anneme, her zaman beni destekleyen
kardeşlerime

Teşekkür ederim.

Dt. İsmayıl HUSEYNLI



ÖZET

Yeşil Sentezle Elde Edilen Gümüş Nanopartiküller İle Katkılandırılmış Ağız Gargarasının Antimikrobiyal Etkinliğinin Araştırılması

Amaç: Periodontal hastalıklar için primer etken mikrobiyal dental plaktır. Periodontal doku sağlığı için etkenin ortadan kaldırılması gereklidir. Bunun için konvansiyonel tedavilerden (cerrahi ve cerrahi olmayan periodontal tedaviler) yararlanılmakta ve ilave olarak ağız gargarası gibi kimyasal ajanlardan da istifade edilmektedir. Günümüze kadar farklı içerikli ağız gargaraları kullanılmıştır. Çalışmamızda da, gümüş nanopartiküller (AgNP) ile katkılandırılmış ağız gargarasının antimikrobiyal etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmamız *C. albicans* (ATCC 10231), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923), *B. cereus* (ATCC 10876) patojenik bakteriler üzerinde yürütüldü. Çalışma 7 farklı gruba ayrıldı. Gruplarda kullanılan gümüş nanopartikülleri yeşil sentez yöntemiyle elde edildi. Grup 1: %2 klorheksidin glukonatın (CHX) kullanıldığı grup (pozitif kontrol grubu), Grup 2: AgNP'lerin kullanıldığı grup, Grup 3: *Thymbra spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup, Grup 4: *Thymbra spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 5: *Thymbra spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 6: *Thymbra spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *Thymbra spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup, Grup 7: %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup (negatif kontrol grubu). Her bir grup için hazırlanan solüsyonlar agar well difüzyon yöntemiyle uygulandı ve 37 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra inhibisyon alanları (İA) mm olarak ölçüldü ve gruplar arası antimikrobiyal etkinlikleri karşılaştırıldı. Ayrıca AgNP'lerin karakterizasyonu için SEM, XRD, FTIR analizleri yapıldı.

Bulgular: AgNP'lerin ve saf yağın ayrıca bunların karışımının *C.albicans* üzerine etkisi, %2 CHX'den daha fazlaydı. Saf yağ *P.aeruginosa* bakterisi hariç diğer bakteriler ve maya mantarına karşı diğer gruplara göre inhibisyon alanı en fazlaydı. Keza %10 çözelti saf yağ gibi *P.aeruginosa* bakterisinde inhibisyon alanı oluşturmadi. %2 çözelti ve %10 DMSO bütün bakterilerde ve maya mantarına karşı antimikrobiyal etki göstermedi. AgNP'ler ve AgNP'lerin saf yağla karışımı tüm patojenler üzerine antimikrobiyal etki gösterdi.

Sonuç: AgNP'ler ve AgNP'lerin saf yağla karışımının araştırmaya konu edilen tüm patojen bakteriler ve maya mantarı üzerine antimikrobiyal etkilerinden dolayı periodontal hastalıkları önleyici ve tedavi edici bir ajan olarak kullanılabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: antimikrobiyal aktivite, gümüş nanopartiküller, klorheksidin, yeşil sentez

ABSTRACT

Investigation Of The Antimicrobial Effectiveness of Mouthwash Doped With Silver Nanoparticles Made By Green Synthesis

Aim: The primary agent for periodontal diseases is microbial dental plaque. Elimination of the factor is necessary for periodontal tissue health. Conventional treatments (surgical and non-surgical periodontal treatments) are used for this, and additionally, chemical agents such as mouthwash are also used. Mouthwashes with different ingredients have been used until today. In our study, it was aimed to investigate the antimicrobial activity of mouthwash doped with silver nanoparticles (AgNP).

Materials and Methods: Our study was carried out on pathogenic bacteria of *C. albicans* (ATCC 10231), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923), *B. cereus* (ATCC 10876). The study was divided into 7 different groups. The silver nanoparticles used in the groups were obtained by the green synthesis method. Group 1: Group using 2% chlorhexidine gluconate (CHX) (positive control group), Group 2: Group using AgNPs, Group 3: Group using pure oil from *Thymbra spicata*, Group 4: Group using *Thymbra spicata* The group using 10% solution of oil, Group 5: Group using 2% solution of oil obtained from *Thymbra spicata*, Group 6: Group using AgNPs synthesized from *Thymbra spicata* and pure oil obtained from *Thymbra spicata*, Group 7: Group using 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) (negative control group). The solutions prepared for each group were applied by the agar well diffusion method, and after 24 hours of incubation at 37 °C, the inhibition areas (IA) were measured in mm and their antimicrobial activities were compared. In addition, SEM, XRD, FTIR analysis were performed for the characterization of AgNPs.

Results: The effect of AgNPs and pure oil as well as their mixture on *C.albicans* was greater than 2% CHX. Except for pure oil *P.aeruginosa* bacteria, the inhibition area was the highest against yeast and other bacteria compared to the other groups. Likewise, 10% solution did not form an inhibition area in *P.aeruginosa* bacteria like pure oil. 2% solution and 10% DMSO did not show antimicrobial activity against all bacteria and yeast. AgNPs and the mixture of AgNPs with pure oil showed antimicrobial effect on all pathogens.

Conclusion: It was concluded that the mixture of AgNPs and AgNPs with pure oil can be used as a preventive and therapeutic agent for periodontal diseases due to its antimicrobial effects on all pathogenic bacteria and yeast fungi.

Keywords: antimicrobial activity, chlorhexidine, green synthesis, silver nanoparticles

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	:	Derece Santigrat
%	:	Yüzde
A.vera	:	Aloe vera
Ag	:	Gümüş
Ag ⁺	:	Gümüş iyonları
AgNP	:	Gümüş Nanopartikül
ATCC	:	The American Type Culture Collection
AZM	:	Azitromisin
B. cereus	:	Bacillus cereus
B. subtilis	:	Bacillus subtilis
C.albicans	:	Candida albicans
CHX	:	Klorheksidin
CİS	:	Cam iyonomer siman
CLR	:	Klaritromisin
cm	:	santimetre
DAYTAM	:	Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
E.coli	:	Escherichia coli
E.faecalis	:	Enterococcus faecalis
FTIR	:	Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
g	:	Gram

IL-6	:	İnterlökin-6
ISO	:	Uluslararası Standardizasyon Örgütü
IZ	:	İnhibisyon alanı
K. pneumoniae	:	Klebsiella pneumoniae
L. Casei	:	Lactobacillus Casei
M	:	Mol
mg	:	Miligram
MIC	:	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
mL	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
mm	:	Milimetre
MTA	:	Mineral trioksit agregat
NaCl	:	Sodyum Klorür
NaOCl	:	Sodyum hipoklorit
nm	:	Nanometre
NNI	:	Ulusal Nanoteknoloji Girişimi
NP	:	Nanopartiküller
NRL	:	Doğal Rubber Membran
P. aeruginosa	:	Pseudomonas aeruginosa
P. gingivalis	:	Porphyromonas gingivalis
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
S. agalactiae	:	Streptococcus agalactiae
S. aureus	:	Staphylococcus aureus
S.mitis	:	Streptococcus mitis
S.mutans	:	Streptococcus mutans

SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskobu
T. capitatus	:	Thymus capitatus
T. spicata	:	Thymbra spicata
TÜBİVES	:	Türkiye Bitkileri Veri Servisi
XRD	:	X-ışını difraktometresi
mg	:	Mikrogram
mm	:	Mikrometre
µg/ml	:	Mikrogram/mililitre
µL	:	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. <i>Thymbra spicata</i> L bitkisinin genel görünümü	3
Şekil 2.2. <i>Thymbra spicata</i> L. türünün Türkiye dağılımı (TÜBİVES)	5
Şekil 2.3. Nanopartiküllerin sentezlenme yöntemleri	9
Şekil 2.4. Nanopartiküllerin sentezlenmesi.....	10
Şekil 2.5. Nanopartiküllerin "aşağıdan yukarıya" ve "yukarıdan aşağıya" sentezlenmesi.....	11
Şekil 2.6. Nanopartikül sentezinin mekanizması	13
Şekil 2.7 Bitki özütlerindeki fitokimyasalların iyonize olan Ag ⁺ metal formunu biyolojik indirgemesi (biyoredüksiyonu)	14
Şekil 3.1. <i>Thymbra spicata</i> L. (zahter) bitkisi	27
Şekil 3.2. Sentezlenmiş AgNP'ler	28
Şekil 3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı	29
Şekil 3.4. X-ışını difraktometresi (XRD) cihazı	29
Şekil 3.5. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre (FTIR) cihazı	29
Şekil 3.6. UV-Visible spektrofotometre (UV-vis) cihazı.....	30
Şekil 3.7. AgNP solüsyonu (A) ve <i>T. spicata</i> 'dan elde edilen saf yağ (B).....	30
Şekil 3.8. Besiyerine ekim yapılmış mikroorganizmaların görünümü.....	31
Şekil 3.9. 6mm çapındaki kuyucukların açılması	31
Şekil 3.10 Etüv Cihazı.....	32
Şekil 4.1 AgNP'lerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü	33
Şekil 4.2. AgNP'lerin XRD analizi	34
Şekil 4.3. AgNP'lerin Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre (FTIR) sonucu	34

Şekil 4.4. AgNP'lerin spektrofotometrik analiz tarama sonucu.....	35
Şekil 4.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> için büyüme inhibisyon alanı	37
Şekil 4.6. <i>Staphylococcus aureus</i> için büyüme inhibisyon alanı	38
Şekil 4.7. <i>Escherichia coli</i> için büyüme inhibisyon alanı	39
Şekil 4.8. <i>Candida albicans</i> için büyüme inhibisyon alanı.....	40
Şekil 4.9. <i>Bacillus cereus</i> için büyüme inhibisyon alanı.....	41



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 4.1. Farklı solüsyonlar arasında ve farklı mikroorganizmalar için inhibisyon bölgesinin karşılaştırılması	36
--	----



1. GİRİŞ

Gümüş, ilk çağlardan beri kullanılan çok yönlü metallerden biridir. Antimikrobiyal özelliğinden dolayı tıbbın çeşitli alanlarında kullanılmıştır.¹ Gümüş, solunum enzimleri üzerine etki ederek mikroorganizmaların ihtiyaç duydukları düzeyde oksijen alımını engelleyerek antibakteriyel etki gösterir.²

Günümüzde biyonanoteknoloji alanında kayda değer gelişmeler olmuştur. Bu çerçevede metalik gümüşten nanopartiküller (AgNP'ler) geliştirilmiştir. AgNP'ler, daha düşük bir konsantrasyonda bile çok sayıda mikroorganizmaya karşı geniş kapsamlı aktivite göstermiştir.³ Ayrıca daha az toksik olması ve mikrobiyal direnç geliştirmemesi nedeniyle kullanımında tercih nedeni olmuştur.⁴

Nanobiyoteknoloji, metalleri belirli metabolik yollarla indirgeme özelliğine sahip metal NP'lerin sentezi ve toplanması için temiz, toksik olmayan ve çevre dostu prosedürlerin geliştirilmesinde zorunlu bir teknik olarak hizmet eder.⁵

Günümüzde, sentez protokollerinde toksik kimyasallar kullanmayan çevre dostu prosesler geliştirmeye yönelik artan bir ihtiyaç vardır. Yeşil sentez yaklaşımları, çevresel toksisite ile ilişkili kimyasal maddeleri içeren geleneksel yöntemlere göre avantajları olan bir yöntemdir. Çözücü ortamın seçimi ve çevre dostu toksik olmayan indirgeyici ve dengeleyici ajanların seçimi, NP'lerin yeşil sentezinde dikkate alınması gereken en önemli konulardır.⁶

Mikrobiyal dental plağın azaltılmasında ağız gargaraları kullanılmaktadır. Klorheksidin gargarasının güçlü antimikrobiyal etkisinden dolayı yapılan çalışmalarda kontrol grubu olarak esas alınmıştır.⁷ Ancak klorheksidin gargarasının renk değişikliği, hoş olmayan tat, kuruluk ve yanma hissi gibi istenmeyen etkileri de göz ardı edilmemelidir. Bu yan etkilerden dolayı pek çok hastada klorheksidin kullanmamaya yönelik eğilim vardır.^{8,9}

Araştırmamızda yeşil sentez yöntemiyle *Thymbra spicata* ekstresinden elde edilen gümüş nanopartiküller (AgNP) ile katkılandırılmış ağız gargarasının antimikrobiyal etkinliğinin araştırılması amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bitkilerin Tıbbi Açıdan Önemi

Bitkiler hem besin maddesi olarak hem de tıbbi amaçlar için eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Artık ülkemiz dahil tüm dünyada bitkiler medikal amaçla uygulanmaya da başlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, medikal amaçlı kullanılan bitkilerin sayısının yaklaşık 20.000 civarında olduğu tespit edilmiştir.¹⁰

Günümüzde kullanılan ilaçların yaklaşık %25'inin bitkilerden elde edildiği tahmin edilmektedir.¹¹ Bitkisel kökenli ilaçların kullanımı ile doğal terapilere olan ilgi önemli ölçüde artmıştır.¹² Özellikle antibiyotikler olmak üzere, konvansiyonel ilaçların, daha çok yan etki, alerji ve direnç insidansına sahip olduğu tespit edilmiştir.^{13,14} Bu nedenle, yaygın ağız ve sistemik hastalıkları önlemek veya tedavi etmek amacıyla giderek daha çok tercih nedeni olmaktadır.¹³

2.2. *Thymbra spicata* L.

2.2.1. *Thymbra spicata* L. Bitkisinin Genel Özellikleri, Yapısal Analizi ve Kullanımı



Şekil 2.1. *Thymbra spicata* L bitkisinin genel görünümü

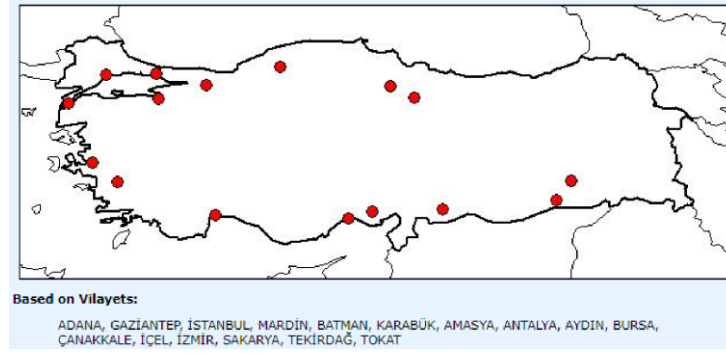
T. spicata L. bitkisi Lamiaceae (Labiatae) familyasına aittir. Trakya, Ege, Akdeniz sahilleri ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde (Şekil 2.2) doğal olarak bulunan *Thymbra spicata* L. *Thymbra* cinsine ait olup, çok yıllık ve çalı formunda yetişmektedir (Şekil 2.1).¹⁵ İngilizce olarak Zaatar adıyla tanınan bu bitki,¹⁶ başka kaynaklarda ; *Thymbra verticillata* L., *Thymbra ambigua* E. D. Clarke olarak anılmıştır.^{17,18} Türkiye'de halk arasında ise *T.spicata* L. “Karabaş kekik” veya “Zahter” olarak bilinmektedir.¹⁹

Genellikle Şanlıurfa, Gaziantep ve Kahramanmaraş illerinde yaygın olarak çay ve baharat şeklinde tüketilmektedir. Kahramanmaraş bölgesinde mide ağrılarında dekoksiyon şeklinde kullanılırken, Afyon bölgesinde ise ağızda oluşan *Herpes* enfeksiyonlarında gargara şeklinde uygulandığı belirtilmiştir.²⁰

Bitkinin uçucu yağ oranı % 1-2 arasında olup, önemli bir kısmını ise karvakrol oluşturmaktadır. Bu madde suda çözündüğü için, çay şeklinde hazırlanarak tüketildiğinde soğuk algınlığı, öksürük ve mide ağrıları gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Bakteri ve mantarlara karşı önemli bir antibiyotik etkiye sahip olması içerdiği fenolik bileşiklerle ilgilidir.¹⁵

Kekiğin uçucu yağı, karvakroldan ilave, γ -terpinen ve psimen gibi uçucu bileşenleri de içerisinde barındırdığı belirtilmiştir. Ayrıca uçucu yağı içeriğinde eser miktarda mircen, α -terpinen, bornylacetate, borneol ve timol bulundurmaktadır.²¹ Tüm bu içeriklerin kekiğin antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiparaziter etkilerinin güçlü kıldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır.²²

Nitekim kekik özlü gargaraların antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığında, klorheksidin gibi güçlü bir antiseptik etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu anlamda yapılan bir çalışmada çocukların tükürüğündeki toplam bakteri sayısını önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir.²³



Şekil 2.2. *Thymbra spicata* L. türünün Türkiye dağılımı (TÜBİVES)

2.3. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji kelimesini ilk defa tanımlayan, 1974 yılında, Japon profesörü Norio Taniguchi'dır. Norio Taniguchi nanoteknolojiyi “maddelerin atom seviyesinde ayrılma, yeniden şekil verilmesi ve sağlamlaştırma prosedürü” diye tanımlamıştır.²⁴

Nanoteknoloji çağımızın en umut vaat eden teknolojilerinden biridir. Maddeyi nanometre boyutunda gözlemleyerek, ölçerek, manipüle ederek, birleştirerek, kontrolünü sağlayarak ve üreterek nanobilim teorisini pratik uygulamalara dönüştürme yeteneğidir.²⁵ Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI), nanoteknoloji'nin tanımını “nano boyutta (1 ila 100 nm) uygulanan, eşsiz fenomenlerin kimya, fizik ve biyolojiden tıp, mühendislik ve elektroniğe kadar birçok alanda yeni uygulamalara olanak sağladığı mühendislik ve teknoloji bilimi” olarak bildirmiştir.²⁵

Nanobiyoteknoloji, cihazların üretilmesi ve kurulmasında hızla büyüyen bir bilimsel alandır. Nanobiyoteknolojideki önemli bir araştırma alanı, çeşitli kimyasal yapılara, boyutlara ve morfolojilere ve kontrollü dağılımlara sahip NP'lerin sentezidir. Nanobiyoteknoloji, geniş uygulamaları sebebiyle küresel ilgi gören malzeme bilimi alanlarında modern nanoteknolojinin temel bir bölümü ve çözülmemiş yeni bir çağ olarak ortaya çıkmıştır. Biyoloji, biyokimya, kimya, mühendislik, fizik ve tıp kurallarını içeren biyolojik sistemlerde NP'lerin araştırma amaçlı kullanımından kaynaklanan multidisipliner bir yaklaşımdır. Dahası nanobiyoteknoloji, metalleri belirli metabolik

yollarla indirgeme özelliğine sahip metal NP'lerin sentezi ve toplanması için temiz, toksik olmayan ve çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesinde gerekli bir teknik olarak hizmet eder.^{5,26-30}

Nano boyutlarda malzemelerin yüzey/hacim nispetinin artması gibi özelliğinin olması nanoteknolojiyi diğer alanlardan ayırır ve bu sebepten malzemenin tümüne göre yüzeydeki atomların oranının artması elde edilebilmektedir. Bu yüzden malzemenin özelliklerinde büyük değişiklikler elde edilmektedir.³¹

Nanoteknoloji temelde teşhis, ilaç dağılımı ve doku mühendisliği³² alanlarında medikal uygulamalara sahiptir.

Biyomalzemeler ve biyoteknolojideki başarı artışı, nano boyutlu partiküllerin elde edilmesiyle hastalıkları önlenme, teşhis etme ve tedavi etme bilimi olan nanotıp adı verilen yeni bir bilim dalının gelişmesini sağlamıştır.^{33,34}

2.3.1. Diş Hekimliğinde Nanoteknoloji

Yeni “nano diş hekimliği” alanı, diş hekimliğinde giderek artan nanoteknoloji üretiminin ve uygulamasının bir sonucudur.³⁵ “Nano diş hekimliği” nin gelişimi, doku mühendisliği ve nano robotlar dahil olmak üzere nanomalzemeler ve biyoteknolojilerin uygulanmasıyla neredeyse mükemmel ağız sağlığına izin vermektedir.³³

“Nano diş hekimliği”nin bilinen en önemli avantajları:

- 1. Koruyucu etki:** Diş macunlarında ve gargaralarda nano-boyutlu partiküller kullanılması,
- 2. Hastalıkların teşhisi:** İmmünofloresana dayalı nano boyutlu kuantum noktaları kullanılarak spesifik bakterilerin etiketlenmesi sonucu bunların tanımlanmasının ve uzaklaştırılmasının kolaylaştırması,

3. **Restoratif diş hekimliği:** Termal genleşme ve polimerizasyon büzülmesini azaltan ve nano doldurucular kullanarak kompozitlerin cilalanabilirliğini, sertliğini ve aşınma direncini arttırılması,
4. **Rejeneratif diş hekimliği:** Yönlendirilmiş doku rejenerasyonun, doku mühendisliğinin, sinir rejenerasyonun sağlanması,
5. **Rehabilite edici diş hekimliği:** Titanyum ile nanotekstüre edilmiş implant yüzeyi kullanan diş implantlarının kullanılması,³⁶
6. Nanorobotlar kullanılarak nanoanestezinin yapılması,
7. Oral kanserin tümörün yakınına veya içine yerleştirilen nanokabuklar ve nanoparçacık kaplı, radyoaktif kaynaklarla tedavisi ile ilgili bilim dallarının oluşturulması.^{32,33,36-39}

Diş hekimliğindeki yeni tedavi fırsatları arasında lokal anestezi, dişlerin yeniden doğallaştırılması, diş kole hassasiyetinin kalıcı tedavisi, tek bir klinik ziyareti sırasında ortodontik tedavinin tamamlanması, kovalent bağlı elmasize enamel ve çürükleri yok eden ve hatta çürüğün yerleştiği dişlerde defektleri onaran mekanik dentifrobotlar (nanorobotik diş macunu) yardımıyla sürekli ağız sağlığı bakımı yer alır.⁴⁰

Osteoblast proliferasyonu, implant yüzeyinde nano-boyutlu partiküllerin oluşturulmasıyla indüklenmiştir.^{41,42} İmplant yüzeyinin nano ölçekte pürüzlendirilmesi, dokuda oluşan hücresel yanıt için önemlidir.^{43,44} Birçok çalışma, implant yüzeyinin nanotopografisinin osteojenik hücreleri önemli ölçüde etkilediğini ve nano ölçekli yüzey morfolojisinin osteoblast adezyonunu yükselttiğini göstermiştir. Nano ölçek yüzey morfolojisi alanı büyütür ve böylelikle biyolojik ortamla reaksiyona girebilen arttırılmış bir implant yüzey alanı elde edilir.^{45,46}

Nanoteknolojide yapılan çalışmalarda, organik bileşikler (başlıca kollajen) içeren ve inorganik bileşiklerle güçlendirilmiş kemik üzerinde bulunan doğal yapıyı taklit eder.

Nanokristaller, kristaller arasında mevcut olan nano gözenekler ile gevşek bir mikroyapı sergiler. Gözeneklerin yüzeyleri, silika moleküllerinin ilave edilmesi sebebiyle proteini absorbe edecek şekilde değiştirilir. Hidroksiapatit nanopartiküller uygulanarak kemik defektleri tedavi edilebilir.⁴⁷

Nanoteknolojinin diş hekimliği alanında, daha yaygın şekilde uygulama alanı olacağı düşünülmektedir. Önümüzdeki yıllarda nanoteknolojinin hedefleri sıralanacak olursa;

- Lokal anestezi uygulamasında mikron boyutlarda dental robotları kapsayan milyonlarca aktif analjezili koloidal bir yapıya sahip süspansiyonun diş etine damlatılması ve nanorobotların diş eti sulkusuna hareketi ve ağrı hissedilmeden istenilen yere yönlendirilmesi ile anestezinin elde edilmesi;
- Periodontal dokuların ortodontik robotlarla hareketi;
- Lokal organik materyalleri kullanan nanorobotlar yardımıyla hızlı ve stabil şekilde dentin tübüllerinin kapatılması sonucu dentin hassasiyetinin tedavi edilebilmesi;
- Dişlerin renatüralizasyonu ile doğal dentisyondan ayırt edilemez yapıların oluşturulması;
- Dental implant yüzeylerinde nano boyutlu partiküller meydana getirerek osteoblast proliferasyonunun indüklenmesi ve artmış implant yüzey alanı elde edilmesi;
- Ağız kanserlerinin teşhis ve tedavisinde güncel metotların gelişimi.⁴⁸⁻⁵¹

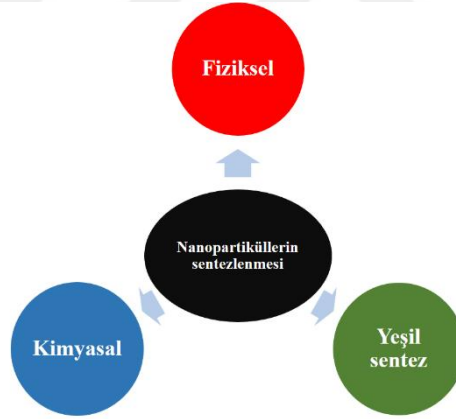
2.4. Nanopartiküller

Nanopartiküller, bir nanoyapının oluşturulmasının önemli bir parçasıdır. Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) nanopartikülleri “1-100 nm çapında bir parçacık” olarak tanımlamıştır. Nanopartiküller, metaller, metal oksitler, silikatlar, oksit

olmayan seramikler, polimerler, organikler, karbon ve biyomoleküller olmak üzere farklı kimyasal yapıya sahip malzemelerden oluşabilmektedir. Küre, silindir, trombosit, tübüler vb. yapısal şekiller oluşturarak birçok farklı morfolojiye sahip nanopartiküller bulunabilmektedir. Genellikle yüzey modifikasyonları ile tasarlanan nanopartiküller, kullanılacakları belirli uygulamaların ihtiyaçlarını karşılamak için uyarlanmıştır. Biyomedikal alanlarda nanopartiküller, manyetik rezonans ve bilgisayarlı tomografi gibi moleküler görüntüleme sistemlerinde, ilaç salınımı ve ilaç salınım sistemleri geliştirmede, hedef gen veya hücreye yönelik teşhis ve tedavilerde, aşı geliştirmede ve biyomalzemelerde takviye malzemesi olarak kullanılmaktadır.^{52,53}

2.4.1. Nanopartiküllerin Sentezlenmesi

Metal NP'lerin sentezlenmesinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik (yeşil) olmak üzere 3 yöntemi bulunmaktadır (Şekil 2.3).

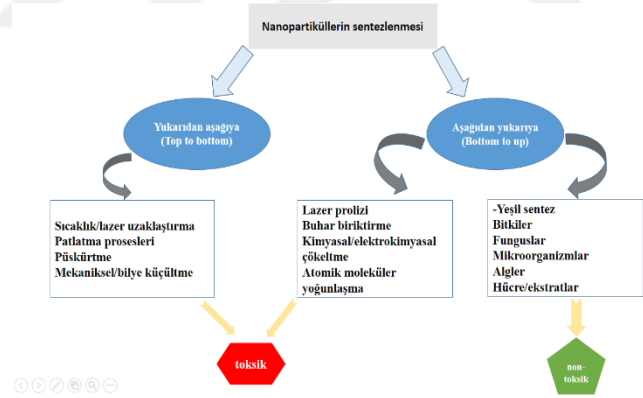


Şekil 2.3. Nanopartiküllerin sentezlenme yöntemleri

Fiziksel yöntemlerde NP'ler, atmosferik basınçta bir tüp fırını kullanılarak buharlaşma yoğunlaştırma yoluyla hazırlanmaktadır.⁵⁴ Fiziksel yöntemlerin hızlı olması, indirgeyici ajan olarak ışın kullanılması, dar boyutta NP sağlaması ve tehlikeli kimyasallar içermemesi gibi avantajları olsa da, pahalı ekipmanlara gereksinim olması (örn. lazerler), düşük verim ve yüksek maliyetlerine sebep olan yüksek enerji tüketimi, çözücü kirliliği ve homojen dağılım görülmemesi gibi dezavantajları da mevcuttur.⁵⁵

Kimyasal sentez yönteminde; kimyasal indirgeme, elektrokimyasal, ısınlama ve proliz yöntemleri uygulanmaktadır. Bu işlemler için indirgeyici ve stabilizeyi koruyucu ajanlar kullanılmaktadır. İndirgeyici ajanlar arasında askorbik asit, alkol, borohidrit sodyum sitrat ve hidrazin bulunmaktadır.⁵⁶ Kimyasal yöntemler üretim için nispeten ucuz olsa da, çevreye zararlı toksik kimyasalların kullanılması en önemli dezavantajdır. Medikal kullanımında sınırlı olması kimyasalların NP yüzeyine adsorbe olmasıyla açıklanmıştır.⁵⁷

Nanopartiküllerin yeşil sentezle elde edilmesi ise günümüzde en çok tercih edilen bir yöntemdir. Araştırmalar, yeşil sentezin nanopartikül üretimindeki başarısının yüksek olması, maliyetin az olması ve karakterizasyon kolaylığı gibi avantajlarını göstermiştir.⁵⁸ Nanopartiküllerin sentezlenmesinde kullanılan kimyasal ve fiziksel metotlar, toksik metabolize ürünleri oluşturmalarına rağmen, yeşil sentezle elde edilen nanopartiküllerde böyle bir olumsuzluk bildirilmemiştir (Şekil 2.4).

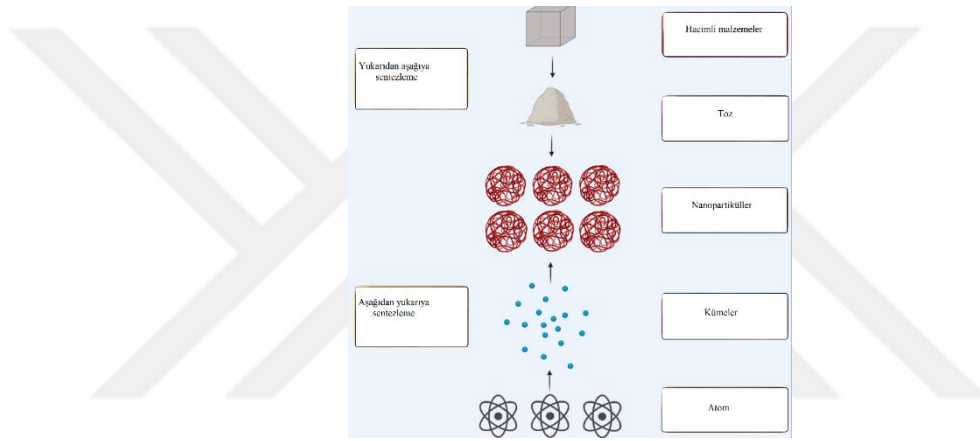


Şekil 2.4. Nanopartiküllerin sentezlenmesi

Tüm nanopartiküllerin “yukarıdan aşağıya”(top-down) veya “aşağıdan yukarıya”(bottom-up) olmak üzere iki yaklaşımla sentezlenmesi mümkündür. Fiziksel yöntemde yukarıdan aşağıya sentezleme yaklaşımı olurken, kimyasal ve yeşil sentez yönteminde aşağıdan yukarıya olmaktadır (Şekil 2.5).

Yukarıdan aşağıya metodolojisinde, uygun dökme malzeme, öğütme, püskürtme, termal/lazer ablasyon vb. gibi farklı teknikler kullanılarak boyut küçültme yoluyla daha küçük ince parçacıklara ayrılır.

Aşağıdan yukarıya metodolojisinde, nanopartiküller kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılarak atomların kendiliğinden bir araya gelerek nano-boyutlu parçacıklara dönüşen yeni çekirdeklere dönüşmesi ile sentezlenir. İlaveten, "aşağıdan yukarıya" yöntemler kimyasal indirgeme, elektrokimyasal yöntemler ve sono ayrışma yöntemlerini de içerir.⁵⁹



Şekil 2.5. Nanopartiküllerin "aşağıdan yukarıya" ve "yukarıdan aşağıya" sentezlenmesi⁶⁰

2.4.2. Yeşil Sentez

Bitkilerle yapılan AgNP'lerin sentez çalışmaları (yeşil sentez) "aşağıdan yukarıya" sentez yaklaşımıyla gerçekleştirilir. Biyolojik yöntemler dışında diğer yöntemlerin sentez süreçleri hem pahalıdır, hem de toksik kimyasalları içermesi bakımından insan sağlığına ve çevreye zararlıdır.^{61,62}

Nanopartiküllerin bitki bazlı yeşil sentezi bitki özütü ile bir metal tuzunun indirgenmesinin oda sıcaklığında birkaç saat içinde tamamlandığı zahmetsiz bir yöntem olarak kabul edilir.⁶³ İnsan sağlığı ve çevre için faydalı olmayan ve toksik olan daha fazla kimyasalın kullanılması, partikül reaktivitesini ve toksisitesini artırabilir. Bu sebeplerle de insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sebep olabilirler.⁶⁴ Tüm bunlar göz önüne

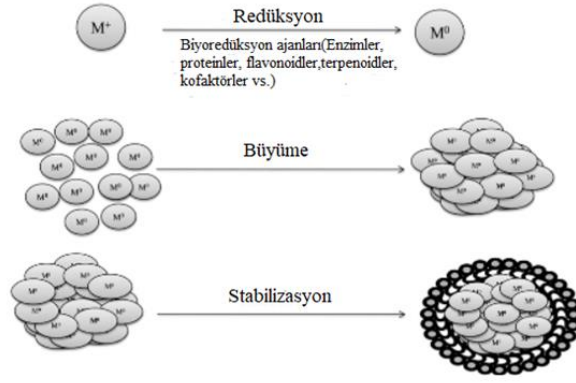
alındığında, nanopartiküllerin toksisitesini azalttığı için yeşil sentez yöntemi tercih edilmektedir. Vitaminlerin, amino asitlerin, bitki ekstralarının kullanımı günümüzdeki araştırmalarda popülerlik kazanmıştır.⁶⁵

Bitki yaprağı ekstralarında fitokimyasallar bulunmaktadır ve bunlar daha uzun inkübasyon süresi gerektiren mantar ve bakterilere kıyasla metal iyonlarını çok daha kısa bir sürede indirgenme potansiyeline sahiptir.⁶⁶ Ana fitokimyasallar, nanopartiküllerin biyo-redüksiyonundan sorumlu olan flavonlar, terpenoidler, karbonhidratlar, ketonlar, aldehitler, karboksilik asitler ve amidler bitkilerde bulunmaktadır.⁶⁷ Bitki yaprağı özütünün bileşimi, bitkilerin farklı konsantrasyon seviyelerinde fitokimyasallar içermesi nanopartikül sentezini etkilemektedir ve nanopartikül sentezinde önemli bir faktördür.^{68,69}

2.4.3. Metalik Nanopartikül Sentezi

Metalik nanopartikül sentezinin üç fazı vardır (Şekil 2.6):

- 1- *Aktivasyon fazı*: Metal iyonlarının/tuzlarının biyo-redüksiyonu ve indirgenmiş metal iyonlarının çekirdeklenme süreci,
- 2- *Büyüme fazı*: Çözelti içindeki daha küçük parçacıkların çözüldüğü ve yüzey alanı oranının en aza indirildiği termodinamik açıdan daha kararlı bir duruma ulaşmak için daha büyük parçacıklar üzerinde birikmesi olarak tanımlanan *Ostwald olgunlaşması* olarak kabul edilen bir süreç⁷⁰
- 3- *Stabilizasyon fazı*: Nanopartiküllerin son şeklini tamamlaması⁷¹



Şekil 2.6. Nanopartikül sentezinin mekanizması⁷²

2.5. Gümüş (Ag) Nanopartiküller

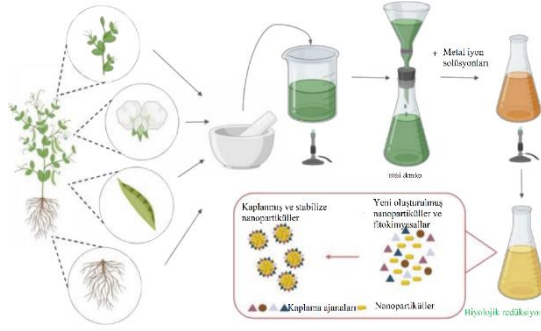
Biyomedikal alanda metalik nanopartiküller arasında antimikrobiyal özellikleri nedeniyle en yaygın kullanılanı gümüş nanopartiküllerdir.⁷³ AgNP'in, bakterilerin çeşitli DNA aktivitelerini devre dışı bırakarak mikroorganizmaları öldürdüğü bildirilmiştir.⁷⁴

AgNP'ler düşük toksisite ve güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olmasından dolayı araştırmalara konu olmuştur.⁷⁵⁻⁸⁰ Nano boyutlu AgNP'lerin daha geniş yüzey alanı vardır ve mikroorganizmanın DNA'ya bağlanarak bakteriyel replikasyonun durdurulmasını sağlayarak güçlü antimikrobiyal aktivite gösterir.⁸¹

AgNP'ler antifungal, antienflamatuar, antimikrobiyal, antiviral, antianjiyogenez ve antitrombosit etkiye sahiptir.⁸² AgNP'ler, kardiyovasküler implantlar, yara pansumanları, kateterler, ortopedik implantlar, diş kompozitleri, nanobiyosensör gibi tedavi uygulamalarda antibakteriyel kaplama malzemesi olarak geniş miktarda kullanılmaktadır.⁸³

2.5.1. Gümüş Nanopartiküllerin Biyoredüksiyonu

Bitki özütlerinde bulunan fitokimyasallar (fenolik bileşikler, alkol grupları gibi) sulu bir yapı içinde iyonize olan “+” yüklü metalleri indirgeyerek “0” formunda ki NP'lerin oluşmasına etki ederler (Şekil 2.7).^{84,85}



Şekil 2.7 Bitki özütlerindeki fitokimyasalların iyonize olan Ag⁺ metal formunu biyolojik indirgemesi (biyoredüksiyonu)⁸⁶

2.5.2. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri

2.5.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), yüksek enerji demetleriyle çok küçük bir alana odaklanarak yüzeyin taranması ile yüzeyden saçılan ikincil elektronların tarama pozisyonuna göre dedektörle algılanması ve numunenin morfolojik ve topografik görüntü alma yöntemidir.⁸⁷

2.5.2.2. X-ışını difraktometresi Analizi

X-ışını difraktometresi (XRD), her bir kristal yapının kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak X –ışınlarını kendine özgü bir düzen içerisinde kırması temeline dayanmaktadır. Her bir kristal fazında bu kırınım profilleri bir çeşit parmak izi gibi o kristali tanımlar. X-ışını difraktometresi analiz yöntemi analiz esnasında numuneyi tahrip etmez ve çok az miktardaki numunelerin dahi (sıvı, toz, kristal ve film halindeki) analizlerinin yapılmasına imkan vermektedir.

Genel olarak AgNP’lerin XRD deseni ve boyutu (111), (200), (220) ve (311) açıları ve bu açılarının değerleri ile gösterilmektedir.⁸⁸

2.5.2.3. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre Analizi

Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre Analizi (FTIR) bir malzemenin numunelerine kızılötesi radyasyonun (IR) uygulanmasıyla gerçekleştirilir. Malzeme tarafından absorbe edilen kızılötesi bölgedeki dalga boylarının aralığını ölçer. Her

maddenin kendine özel bir spektrumu bulunmaktadır. Bu kapsamda madde hakkında daha detaylı bilgi alınmaktadır. Farklı moleküler bağlardan oluşan veri, farklı titreşim frekanslarını temsil etmektedir.⁸⁹

2.5.2.4. UV-Visible Spektrofotometre Analizi

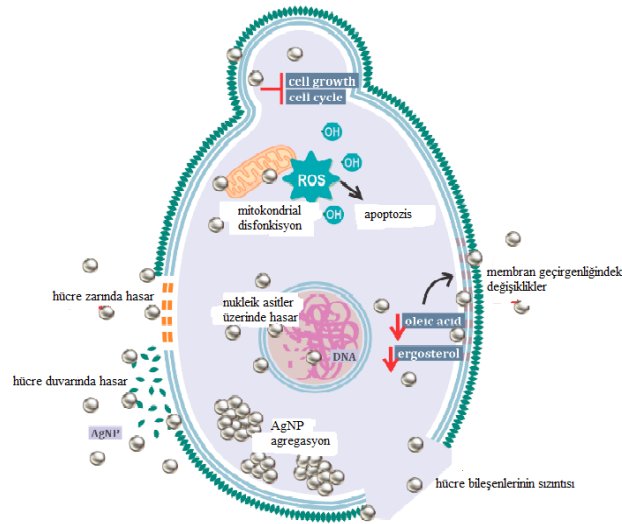
Nanopartiküllerin sentez aşamasında NP'lerin oluşumunu belirlemek için 300-800 nm arasında dalga boyu taramaları yapıp gümüşün karakteristik maksimum dalga boyları inceleyen bir yöntemdir.⁹⁰ AgNP'ler, ışığın belirli dalga boyları ile güçlü bir şekilde etkileşime girmelerini sağlayan benzersiz optik özelliklere sahiptir.⁹¹ Ek olarak, UV-vis spektroskopisi hızlı, kolay, basit, hassas, farklı nanopartikül türleri için seçicidir, ölçüm için yalnızca kısa bir süreye ihtiyaç duyar.

2.5.3. Gümüş Nanopartiküllerin Biyomedikal Uygulamaları

AgNP'lerin biyomedikal uygulamalarda ilaç endüstrisi, antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal ajan, antienflamatuar ve antidiyabetik olarak kullanımları için birçok çalışma mevcuttur.⁹²⁻⁹⁵

2.5.4. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

AgNP'lerin antimikrobiyal etkisinin incelenmesi üzerine birçok çalışma mevcuttur.^{87,96-98} AgNP'ler sulu yapıda iyonize olduktan sonra hücre ile elektrostatik kuvvet aracılığı ile etkileşime geçerler. Hücre membranının geçirgenliğini bozup, ROS artışına sebep olurlar. Bu türlere afinitesi olan biyomoleküllerin yapılarını ve fonksiyonlarını bozarlar. Hücre sonuç olarak bu çoklu olumsuz etkiler karşısında apoptozise uğrar (Şekil 2.8).⁹⁹



Şekil 2.8. AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin şematik gösterimi¹⁰⁰

2.6. Diş Hekimliği ve Gümüş Nanopartiküller

Gümüş diş hekimliğinde 19. yüzyıldan beri kullanılmaktadır ve temel olarak gümüş iyonlarının antimikrobiyal potansiyeli sebebiyle farklı uygulamalara sahiptir.¹⁰¹ Bununla birlikte, 21. yüzyılda nanoteknolojinin ortaya çıkışı, temel olarak gümüş iyonlarının aşamalı olarak salınması nedeniyle antimikrobiyal etkiye sahip olan AgNP'ler aracılığıyla diş hekimliğinde gümüş kullanımına yeni bir bakış açısı getirmiştir.^{102–105}

Gümüş içeren diğer ürünler gibi AgNP'lerin biyolojik aktivitesi, suyun varlığında redoks reaksiyonlarının bir sonucu olarak gümüşün aşamalı olarak salınması yoluyla meydana gelir.¹⁰⁶ Ek olarak, bakteri, mantar ve virüslere karşı antiproliferatif etki, 10 nm'den küçük boyutların daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu nanopartikül boyutu ve şekli ile ilgilidir.¹⁰⁷ Boyut ve şekillerdeki farklılık, nanopartiküllerin farklı nano-iyonik menşei ile açıklanabilir.¹⁰⁸

Diş hekimliğinde gümüş nanopartiküller, Chitalac-Ag¹⁰⁹, AgNP-metil polimetilmetakrilat,^{104,110} amorf kalsiyum AgNP-fosfat¹¹¹ ve florürler (Nano Gümüş Florür)¹¹² gibi kompozitlerle birlikte kullanılır. AgNP'ler veya gümüş plazma şeklinde tek başına da kullanılabilir.^{113,114}

Diş hekimliğinde, AgNP'lerin direkt kullanımı, ağız boşluğundaki patojenik mikroorganizmaların dezenfeksiyonu amaçlamaktadır. Bu partiküllerin temel kullanımı profilaktik etkilerine dayanmaktadır.¹⁰⁰

AgNP'ler, çeşitli mikroorganizmalara karşı önemli antimikrobiyal aktiviteleri olduğu için birçok alanda başarıyla uygulanmıştır.¹⁰⁰ Bu nedenle, antimikrobiyal maddelerin dental biyomalzemelere dahil edilmesi bazı araştırmacılar tarafından benimsenen bir strateji olduğu için, AgNP'ler diş hekimliğinde uygulanmak üzere umut verici bir bileşik olarak ortaya çıkmıştır.^{115,116} AgNP'lerin birçok ilaca dirençli mikroorganizmalara karşı etkili olduğu önceden kanıtlanmıştır.^{117,118} Bununla birlikte, AgNP'ler diş hekimliğinde ticari kullanımı başlangıç aşamasındadır ve içeriğinde AgNP'ler içeren yalnızca üç ürün ticari olarak mevcuttur: Bunlar; Dental adeziv (NanoCare Gold DNT™)¹¹⁹; Novaron AG300 (Toagosei Co Ltd., Tokyo, Japonya)¹²⁰; ve Siler (GuttaFlow™ Coltène-Whaledent)^{121,122}'dir.

Diş hekimliğinde yapılan çalışmalar, AgNP'lerin, ağız mikrobiyolojisi, koruyucu diş hekimliği, protetik diş tedavisi, ortodonti, endodonti ve periodontoloji gibi farklı uzmanlık alanlarında kullanıldığını göstermiştir.¹⁰⁰ Ek olarak, bazı çalışmalar, en yaygın oral patojenlere karşı antimikrobiyal etkilerini test ederek AgNP'lerin kullanım potansiyelini araştırmıştır. AgNP'nin farklı diş hekimliği uzmanlık dallarında ve sonraki alanlarda kullanımına bakıldığında, ağırlıklı olarak protetik diş tedavisi (%25,6) ve ağız mikrobiyolojisi (%19,5) yer almaktadır. Periodontolojide ise; bu oran %3,7'dir.¹⁰⁰

2.6.1. Oral Mikrobiyoloji

Ağız boşluğu, 700'den fazla bakteri türü¹²³ mantar, virüs ve protozoanın¹²⁴ yaşadığı bir ortamdır. Bu ortamda bulunan mikroorganizma topluluğu sağlıklı ve hastalık durumlarının belirleyici faktörüdür.^{123,125,126} Ağız ve sistemik sağlığın sürdürülmesi için ağız mikroflora dengesi önemlidir.¹²³

Çalışmalar, AgNP'nin *Streptococcus mutans*^{102,127-130}, *Staphylococcus aureus*^{127,130-134}, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*¹²⁸, *Streptococcus sanguinis*¹⁰², *Enterococcus faecalis*^{130,134} ve *Actinomyces actinomycetemcomitans*¹⁰²'ye karşı antibakteriyel aktivite uyguladığını ortaya koymuştur. Ayrıca, AgNP'ler *E. faecalis*, *S. aureus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus mutans* biyofilmalarının oluşmasını da engeller.¹³⁵ Nanopartiküller, planktonik, agarda büyütülmüş veya biyofilm kültürlerinde Gr⁺ ve Gr⁻ bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemektedir. Kalın, koruyucu dış peptidoglikan katmanlarına rağmen Gr⁺ bakteriler, gümüşün antimikrobiyal etkisine karşı çok savunmasızdır.¹³⁵ *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif bakteriler, gümüşün antimikrobiyal etkisine karşı direnç gösteremez.¹³¹⁻¹³⁵

Nanogümüşün antimikrobiyal etkinliği, gümüş nanoparçacıkların boyutuyla ters orantılıdır.¹³⁶ Daha küçük çaplı AgNP'ler, daha büyük partiküllere göre daha iyi biyofilm inhibisyon sonuçları sunar.¹³⁷ AgNP'ler *S. mutans*¹³⁷ ve *Streptococcus oralis* biyofilmalarına karşı da etkilidir.¹³⁸ Bununla birlikte, daha büyük AgNP'lerin, farklı dental plak mikroorganizmalarına karşı önemli antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu ve düşük konsantrasyonlarda bile uygun bakteri üremesi inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir.¹³⁷ Biyolojik olarak sentezlenmiş AgNP'ler (sentezde soğan ve domates kullanılarak), büyük olduğu düşünülen (26,2 ila 33,3 nm) boyutlarda, muhtemelen flavonoidlerin ve terpenoidlerin yüksek konsantrasyonundan dolayı *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.¹³⁹

2.6.2. Pediatrik Diş Hekimliği

Pediatrik Diş Hekimliği, özel sağlık ihtiyacı olanlar dahil olmak üzere, bebekler ve ergenlik dönemine kadar olan çocuklar için hem primer hem de kapsamlı koruyucu ve iyileştirici ağız sağlığı bakımı sağlayan yaşla tanımlanmış bir uzmanlık alanıdır.¹⁴⁰

Cam iyonomer siman (CİS) pediatrik diş hekimliğinde birçok kullanıma sahip olduğu ve florür salınımı ve depolama kapasitesi ile bilinir. Bu salınım, florür bakteriyel enzim enolazını inhibe ettiği için simanı çürük önleyici bir madde yapar. Ancak, bu malzemenin çürük önleyici etkisini sürdürmesi için zaman zaman florür ile doldurulması gerekir. Bu nedenle, CİS'in daha uzun süreli antimikrobiyal ajanlarla birleştirilmesi, bu simanın ağız hastalıklarıyla mücadelede daha etkili olmasını sağlayacaktır.¹⁰⁰ CİS ve AgNP arasındaki ilişki, Gr+ ve Gr- bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye sahip olan bir biyomateryal üretti.^{105,119} Araştırmacılar, antimikrobiyal etkinin, siman matrisinde oksidatif çözünmeye sebep olan, diş çürüklerinin karşısını alan ve oral biyofilmlerin gelişimini önleyen gümüş iyonlarının salınmasıyla gerçekleştiğine düşünmektedirler. Bu malzemelerin birleşimi, ticari CİS gibi mekanik parametreler sunar.¹⁰⁵

AgNP'lerle ilişkili dentin adezivleri, yüzey ıslanmasını ve koheziv bozuklukları arttırdığı bildirilmiştir.¹⁴¹ Self-etching adezivler ve AgNP'ler, *S. mutans*'a karşı etkisi denendiğinde, adezivin rezine dönüşmesinden ödün vermeden antimikrobiyal aktivite belirlenmiş¹⁴² ve AgNP dahil edilmesi, antibakteriyel aktiviteyi daha dayanıklı hale getirilmiştir. Doğrudan antibakteriyel ihtiyaçlar için kullanılabileceği belirlenmiştir.¹⁴³

AgNP'ler ile ilişkili iki aşamalı adeziv sistemler, self-etch/AgNP'ye göre daha yüksek gerilim mukavemeti sonuçları göstermiştir.¹⁴⁴ AgNP'lerin tozu, alkollü AgNP solüsyonundan hem antimikrobiyal aktivitede hem de self-etching adezivin dönüşüm derecesinde daha iyi sonuçlar gösterdiği rapor edilmiştir.¹⁴² AgNP'nin dezenfektanların içeriğine eklenmesi, biyouyumluluğa sahip ve diş pulpasından kök hücrelere sitotoksitesi olmayan ticari ürünler (Nanocare Gold) üretilmesine yol açmıştır.¹¹⁹

2.6.3. Koruyucu Diş Hekimliği

Gümüş iyonları çürük lezyonlara sızarak ve yoğunlaşarak mine sertleşmesine sebep olabilir. Başlangıç lezyonların remineralizasyonu için diş hekimleri rutinde sodyum

florür verniği kullanır. Bununla birlikte, sodyum florür verniğe %5 nanogümüş ilave edildiğinde, artık dişlerde metalik bir tat veya ağırlı ülserasyonlar olmaksızın çürük lezyonlarının ilerlemesinin %77'lik bir inhibisyonu olduğu tespit edilmiştir.¹⁴⁵ Gümüş Nanoflorürün (NSF) uygulaması kolaydır, yılda yalnızca bir kez uygulanabilir, uygun bir maliyet-fayda oranına sahiptir ve sodyum flor verniği ¹⁰⁸ veya geleneksel gümüş bileşiği Gümüş Diamin Florür (SDF) ile değiştirmek için kullanılabilir. NSF, *S. mutans* biyofilminin büyümesini engellediği ve ayrıca çürük aktivitesini durdurduğu için bakteriyostatik bir ajandır. Bu sebeple çocukların dişlerini lekelemeden koruyucu tedavi olarak kullanılabilir.^{112,146}

2.6.4. Ortodonti

AgNP tedavisi, ortodontik tedavi gören hastalarda azalmış bir demineralizasyon ve *E. coli*, *L. casei*, *S. aureus*, *S. mutans*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.¹⁴⁷ AgNP, *S. mutans*'a karşı tellerde ve braketlerde yapışmaz biyolojik özellikler sergilemiştir.^{131,137,148}

Nanopartiküller ayrıca akrilik rezinlere, ortodontik cihazların taban plakalarına eklenmiş ve biyofilm oluşumunu ve planktonik büyümeyi engellediği tespit edilmiştir.¹²⁸ %21 AgNP ve biyopolimer ile tedavi edilen titanyum mikro-implantlar, oluşan biyofilmin metabolik aktivitesini ve bakteriyel asit üretimini azaltabilen ortodontik simantasyonda kullanılan AgNP ve CİS kompozitlerinin yanı sıra antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.^{102,149}

2.6.5. Endodonti

Apikal periodontitis, mikroorganizmaların kolonizasyonunun bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Pulpa nekrozedir, bu enfeksiyondan bitişik kemik de olumsuz olarak etkilenmektedir.¹⁵⁰ Apikaldeki enfeksiyondan en çok fakültatif anaerobik Gr⁺ bir bakteri olarak *E. faecalis* sorumlu tutulmaktadır. Bu mikroorganizma tedavilere

dirençlidir. AgNP'nin kompozitlerle birleşimi, gümüş iyonlarının salınması yoluyla *E. faecalis* biyofilmini bozar.¹⁵¹ AgNP'ler, son endodontik irrigatörler olarak kullanıldıklarında, %2,5 sodyum hipoklorit ile tedaviye benzer bir etkiyle antimikrobiyal etki sergilemiştir.¹⁵²

AgNP ile ilişkili kalsiyum bazlı siman ve mineral trioksit agregatı (MTA), *E. coli*, *Actinomyces spp.*, *S. mutans*, *E. faecalis* ve *C. albicans* izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Gümüş parçacıkları, endodontik patların antibakteriyel özelliklerini artırabilir oldukları ve mikroorganizmaların diş yüzeyine yapışmasını azaltabildiği rapor edilmiştir.¹⁵³

2.6.6. Periodontoloji

AgNP'lerin etkisi, diş çürüğüne sebep olan mikroorganizmalarla sınırlı değildir. Aynı zamanda, ağız boşluğunun diğer hücreleri ve dokuları için de aktif olabilirler. Bu sebeple, AgNP'lerin insan diş eti fibroblastları ve insan oral keratinositleri üzerindeki etkisini gösteren bazı çalışmalar mevcuttur.¹⁵⁴⁻¹⁵⁶

AgNP'leri kapatma taktiği, yüzey işlevselleştirmesi oluşturarak biyouyumluluğu geliştirebilir.¹⁵⁵ Lipoik asit veya polietilen glikol ile kaplı 10 nm boyutundaki nanopartiküllerin, toksik olmayan konsantrasyonlarda (<50 µg/ml) insan diş eti fibroblastlarına karşı sitotoksik etkileri azalttı ve metisilin dirençli *S. epidermidis* ve *S. mutans* biyofilmlerini inhibe ederek bariz antimikrobiyal aktivite potansiyele sahip oldukları belirlenmiştir.¹⁵⁵

2.6.7. Dental İmplantoloji

İmplant başarısızlığının en yaygın sebeplerinden biri, dental implantların yüzeylerinde bakteriyel biyofilm meydana gelmesinden kaynaklanan peri-implantitistir. Yüzey nanotopografisinin modifikasyonunun implantlara bakteri adezyonunu etkilediği öne sürülmüştür.¹⁵⁷

AgNP bazlı kompozitlerle işlenen titanyum diskler, bazı çatlaklar göstermesine rağmen, biyofilm yapışmasını ve mikroorganizmalar tarafından laktat üretimini azaltmıştır.¹⁵⁷ Titanyum diskler hidroksiapatit ve AgNP ile kaplandığında *E. coli*'ye karşı güçlü etkinlik göstermişleridir.¹⁵⁸

Altıgen bağlantılı implantların yüzeyine bir AgNP süspansiyonu uygulanırken, üreticinin tavsiyesinden daha düşük torklar kullanıldığında *C. albicans* kontaminasyonu azaltığı belirlenmiştir.¹⁵⁹

Alternatif olarak, Silver Plazma tekniği ile elde edilen implantlar, asitle elde edilenlerden daha iyi osteointegrasyon sonuçlar göstermişlerdir.¹¹³ Başka bir çalışmada, uygun gümüş plazma koşulları uygulandığında, hiyerarşik mikro/nanoyapılara sahip titanyum implantların hem Gr+ olan *S. aureus*'a, hem de Gr- olan *F. nucleatum*'a karşı antibakteriyel etkilere sahip olabileceğini belirlemişlerdir.¹¹⁴ AgNP'ler ile emdirilmiş membranın yönlendirilmiş doku rejenerasyonda gerilme mukavemetini arttırdığı ve biyomalzemenin lif çapını en aza indirdiği belirlenmiştir.¹⁶⁰ AgNP'lerin NRL (Doğal Rubber Membran) ile ilişkisi, sitotoksiteyi azaltmış ve %98 hücre canlılığı göstermiştir.¹⁶¹

2.7. Ağız Gargaraları

Diş fırçalama ve diş ipi ile mekanik plak kontrolü, ağız hijyeni ve periodontal sağlığı korumak için en çok tavsiye edilen ve etkili yöntemlerdir.¹⁶² Mekanik plak kontrolünü desteklemek için, özellikle diş fırçalamada daha az ulaşılabilir olan alanlarda plak biyofilminin büyümesini engellemek için diş macunları ve gargaralar gibi kimyasal plak kontrol ajanlarına farklı antimikrobiyal ajanlar dahil edilmektedir.¹⁶³ Diş macunları ve gargaralar gibi ağız bakım ürünlerinin uygulanması periodontal hastalıkları önlemenin en önemli yoludur. Kimyasal plak kontrol ajanları, ağız boşluğunda, fırçalamalar arasında ağız hijyenini korumalarını sağlayan iyi bir kalıcılığa sahiptir.^{164–166}

Diş macunlarında ve gargaralarda çeşitli antimikrobiyal ajanlar veya bileşikler kullanılmaktadır ve bunların plağı kontrol etme ve gingivitis ve periodontitis önlemede etkinlikleri gösterilmiştir. Bu alandaki çalışmalar günümüzde de devam etmektedir.¹⁶⁴⁻

166

2.7.1. Klorheksidin

Klorheksidin (CHX), bakteriyostatik ve bakterisit etkiye sahip bir bisbiguaniddir.¹⁶⁷ En çok çalışılan ve en etkili anti-plak ve anti-gingivitis ajanıdır ve “altın standart” olarak kabul edilen anti-plak ajan olarak tanımlanmaktadır.¹⁶⁸ CHX, gram pozitif ve gram negatif bakterilere, mayalara ve virüslere karşı etkili geniş spektrumlu bir antiseptik ajandır.¹⁶⁹ Katyonik bir molekül olan CHX, bakterilerin negatif yüklü membran fosfolipidlerine spesifik olmayan şekilde bağlanır.¹⁷⁰ Çok düşük konsantrasyonlarda (%0,02-0,06) bakteriyostatik ve daha yüksek konsantrasyonlarda (%0,12-0,20) bakterisidal etkiye sahiptir. Anında bakterisit etkisine ilaveten, CHX oral mukozaya bağlanarak yavaş ve uzun süreli bir antibakteriyel etki sağlamaktadır.^{171,172}

CHX, diş hekimliğinde yaygın olarak uygulanmaktadır. Ağız gargaraları (%0,02–0,3), jeller (%0,12–1), spreylere (%0,12–0,2) ve diş vernikleri (%1, %10, %40) olarak farklı yüzdelerde içeriklerinde bulunmaktadır. Diş macunlarının içeriğinde de yer almaktadır.^{168,173}

Geçici tat değişikliği (disguzi) ve diş pigmentasyonu gibi lokal olumsuz etkiler CHX'in uzun süreli kullanımı ile ilişkilendirilmektedir. Hasta uyumunu etkileyen, dişlerde, dilde ve ayrıca protetik kuronlarda estetik olmayan kahverengimsi pigmentler oluşturabilir.^{174,175} Ayrıca *in vitro* olarak insan hücrelerine karşı apoptoz ve nekrotik hücre ölümüne neden olabilen sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu gösteren bazı çalışmalar da mevcuttur.¹⁷⁶

2.7. Bakteriler

Staphylococcus aureus

S. aureus çapı 0.5-1.5 µm, hareketsiz, fakültatif anaerop, yüksek miktarda tuz içeren besiyerlerinde (%10 NaCl) ve 18-40°C geniş ısı aralıklarında üreyebilen katalaz ve koagülaz pozitif koklardır.¹⁷⁷

Stafilokoklar koagülaz üretimi, protein A varlığı ve N-asetilglukozamin içeren türe özgül ribitol teikoik asit (polisakkarit A) ile tanımlanır. Çok sayıda toksin ve hidrolitik enzimleri içeren virülans faktörleri, konak dokularına tutunmayı sağlayan ve fagositozdan koruyan yapısal komponentler bulunmaktadır.¹⁷⁷

S.aureus için bildirilen izolasyon oranları, çalışılan popölasyona göre değişir ve sağlıklı yetişkin dişli ağız boşluklarında taşıyıcılık oranları %24-%84 arasında bildirilmiştir.^{178,179} Ayrıca, bu mikroorganizma bir dizi belirli oral enfeksiyona (örn. angular keilit¹⁸⁰, parotitis¹⁸¹, stafilokokal mukozitis¹⁸²) sebep olur. Son zamanlarda, *S aureus*'un dental implant başarısızlığında da rolü olabileceği öne sürölmüştür.^{183,184}

Esheria coli

E. coli Gr- bakteri olup, katalaz pozitif, oksidaz negatif, aerob ya da fakültatif anaerobtur. Çoğunlukla hareketli, sporsuz 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm boyutlarında, düzgün omak tarzında bir bakteridir.¹⁸⁵ *E. coli*'nin önemli biyokimyasal özelliğı glikozdan asit ve gaz oluşturmastır.¹⁸⁶

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa hareketli, düz veya hafif kıvrımlı, Gr- , aerob basillerdir. Karakteristik olarak çiftler halinde bulunurlar.¹⁷⁷ Bu bakterinin flajella, pili, lipopolisakkarit, aljinat kapsöl gibi adezinleri, ekzotoksin A, piyosiyenin, elastaz, proteaz, fosfolipaz C, ekzoenzim S ve T toksinleri ve enzimleri gibi çeşitli virülans faktörlere sahiptir.¹⁷⁷

Candida albicans

Tek hücreli, küre, oval veya silindirik, 2-8 x 3-15 µm boyutlarında morfolojik yapıya sahip mikroorganizmalar olup tomurcuklarla çoğalırlar. Kandidalar farklı pH derecelerine adaptasyon sağlayabilirler, farklı yüzeylere yapışırlar, enzimler üretirler ve immün sistemden etkilenmemek için morfolojik şekillerini değiştirebilirler.¹⁸⁷

C. albicans, ortama bağlı olarak hem hif hem de maya formlarında bulunabilen dimorfik bir mantardır. Candida türleri, ağız boşluğundaki yaygın normal flora olarak bilinmektedir; ancak, hafif düzeyden sistemik yaşamı tehdit eden hastalıklara kadar değişen fırsatçı enfeksiyonlara sebep olabilir.¹⁸⁸

Candida kolonizasyonu ağız boşluğunda, oral kandidiyaz gelişimine yol açan bağışıklığı baskılanmış kişilerde artar. Ayrıca ağız kuruluğu, sigara, diş protezleri, diş çürükleri, şeker hastalığı ve kanser tedavisi gibi konakçı faktörlerin olması da hastalık sürecini hızlandırır. *C.albicans*, biyofilm ve hif oluşturma ve hidrolitik enzimler ve kandidializin üretme kabiliyetinin oluşturmaları bu enfeksiyonun primer nedensel ajanıdır.¹⁸⁹

Psödomembranöz kandida enfeksiyonu en yaygın formudur. Eitelin sadece üst tabakası enfekte olduğundan dolayı, ağız mukozasında hafif kazıma ile kolayca ayrılabilen beyaz lekeler veya plaklarla karakterizedir. Tat alma bozuklukları ve ağızda kötü bir tadın olması önemli bulgularındandır.¹⁹⁰

Bacillus cereus

B.cereus, toksin üreten fakültatif anaerobik Gr+ bir bakteridir. Bu bakteriler çevrede yaygın olarak bulunur ve gıdaları kontamine edebilir. Yutulduğunda ise toksini, gastrointestinal sistem hastalıklarına sebep olabilir.¹⁹¹ *B.cereus* doku nekrozu ile karakterize olan nomada sıklıkla bulunur. Lezyonlardan yayılan özel koku spesifiktir.¹⁹²

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu'nun 22.09.2022 tarihli 72 sayılı onayı ile yapıldı. Çalışmada kullanılan *T. spicata*'dan elde edilen saf yağın temini ve AgNP'lerin sentezi Atatürk Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanobilim bölümü Laboratuvarında gerçekleştirildi. Kullanılan mikroorganizmalar Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edildi. *In vitro* deneyleri de aynı laboratuvarda gerçekleştirildi.

Araştırmamız 7 grupta yürütüldü.

Grup 1. Pozitif kontrol grubu; %2 Klorheksidin kullanılan grup

Grup 2. AgNP solüsyonunun kullanıldığı grup

Grup 3. *Thymbra spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup

Grup 4. *Thymbra spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup

Grup 5. *Thymbra spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup

Grup 6. *Thymbra spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *Thymbra spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup

Grup 7. Negatif kontrol grubu; %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup.

Yedi farklı gruba ayrılan araştırmamızda aşağıdaki listede yer alan belirli mikroorganizmalar değerlendirilmiştir.

- *Candida albicans* (ATCC 10231)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
- *Bacillus cereus* (ATCC 10876)

3.1. *T. spicata* L. bitki özütünün hazırlanması

Thymbra spicata L. (zahter) bitkisi Edirne/Türkiye’den temin edildi ve Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik ABD’da bitki tanılanması sağlandı (Şekil 3.1).

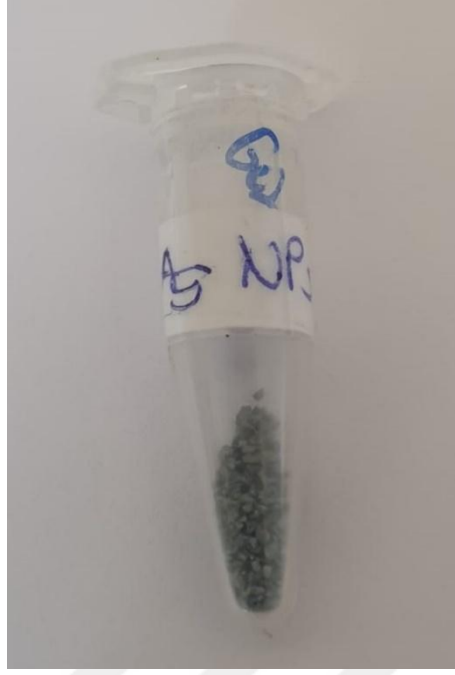
Zahter (*T. Spicata*) bitkisi önce çeşme suyu ile daha sonra saf su ile işleme tabi tutuldu. 25 g zahter (*T. Spicata*) bitkisi öğütücü kullanılarak öğütüldü ve öğütülmüş zahter bitkisi 250 ml distile su ile 80°C’de 30 dakika kaynatıldı. Daha sonra 2 saat süresinde muhafaza edildi. Daha sonra karışım santrifüjlendi ve bitki homojenatı önce süzgeç kağıdından daha sonra 0.2 µm Millipore membran filtre ile süzüldü. Süzüntü ekstraktı 4°C’de saklandı ve AgNP’lerin sentezi için indirgeyici ajan olarak kullanıldı.



Şekil 3.1. *Thymbra spicata* L. (zahter) bitkisi

3.2. AgNP Sentezi

AgNP’lerin yeşil sentezi için 0,1 M AgNO₃ içeren 300 mL çözelti hazırlandı. Çözeltiye 10 mL zahter (*T. Spicata*) bitki ekstresi eklendi. 2 saat süresinde geri soğutucu altında 85 °C’de muhafaza edildi. Ardından teflon tüp içerisinde konularak reaktör içerisine yerleştirilerek 180-195 °C’de 4 saat boyunca AgNP’lerin boyutlarının indirgenmesi amacıyla hidrotermal reaksiyon gerçekleştirildi. Çöken AgNP’ler önce saf su ile daha sonra etil alkol ile yıkandıktan sonra 60 °C’de etüvde 48 saat kurutulduktan sonra nemsiz ortamda saklandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Sentezlenmiş AgNP'ler

3.3. AgNP yapısının karakterizasyonu değerlendirilmesi

Sentezlenen AgNP'lerin yapısal ve morfolojik karakterizasyonu SEM (Zeiss marka Sigma 300 model taramalı elektron mikroskop cihazı) ile değerlendirildi (Şekil 3.3). Ayrıca AgNP'lerin yapısal ve morfolojik karakterizasyonunun değerlendirilmesinde 3 farklı metottan da yararlanıldı. X-ışını difraktometresi (XRD) analizi için PANalytical Empyrean X-Ray Difraktometresi (UK) cihazı (Şekil 3.4), Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre (FTIR) analizi için, Bruker VERTEX 70v cihazı (Şekil 3.5), UV-Visible spektrofotometre (UV-vis) analizi için de Shimadzu UV-3600 Plus cihazı (Şekil 3.6) kullanıldı.

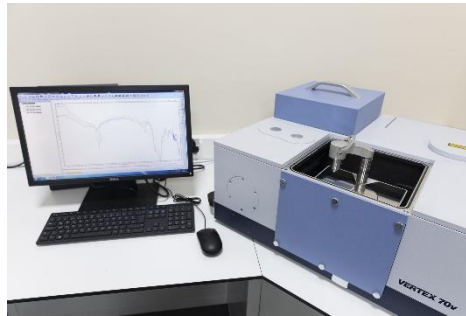
Tüm bu analizler Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DAYTAM) yürütüldü.



Şekil 3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı



Şekil 3.4. X-ışını difraktometresi (XRD) cihazı



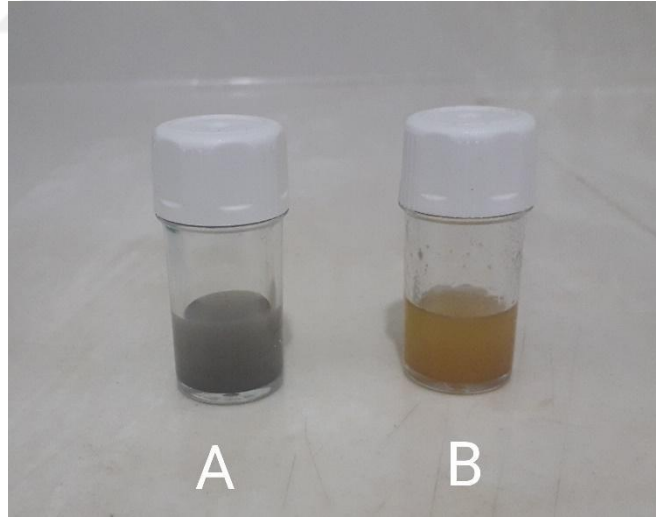
Şekil 3.5. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre (FTIR) cihazı



Şekil 3.6. UV-Visible spektrofotometre (UV-vis) cihazı

3.4.1. Agar well difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi

Sentezlenen AgNP tozu distille suyla çözülerek, 50 µg/ml konsantrasyonda hazırlandı. Bitkinin saf yağı %2 ve %10 şeklinde dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü ve partiküllerin duyarlılık modelinde araştırmamızda esas aldığımız bakteriler kullanıldı. (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Candida albicans*) (Şekil 3.7).



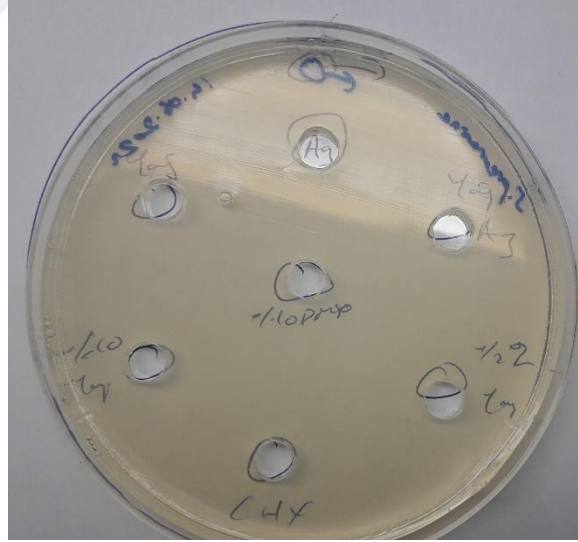
Şekil 3.7. AgNP solüsyonu (A) ve *T. spicata*'dan elde edilen saf yağ (B)

Hazırlanan solüsyonların antibakteriyel aktiviteleri agar well difüzyon yöntemi izlenerek belirlendi. Petri plaklarındaki standart besiyerlerine (Mueller Hinton agar) test mikroorganizmaları ekildi (Şekil 3.8) ve kullanılan tüm agar plaklarına steril paslanmaz çelik mantar delici yardımıyla her biri 6 mm çapında yedi agar kuyucuğu açıldı (Şekil

3.9). Solüsyonlar otomatik pipetle açılan kuyucuklara $\sim 50 \mu\text{L}$ dolduruldu. 24 saat 37°C 'de etüv cihazında inkübe edildi (Şekil 3.10). Bu işlemin ardından petri plaklarında gözlemlenen inhibisyon zon çapları (mm) kaydedildi. Zon çaplarının büyüklükleri karşılaştırma olarak değerlendirildi.



Şekil 3.8. Besiyerine ekim yapılmış mikroorganizmaların görünümü



Şekil 3.9. 6mm çapındaki kuyucukların açılması



Şekil 3.10 Etüv Cihazı

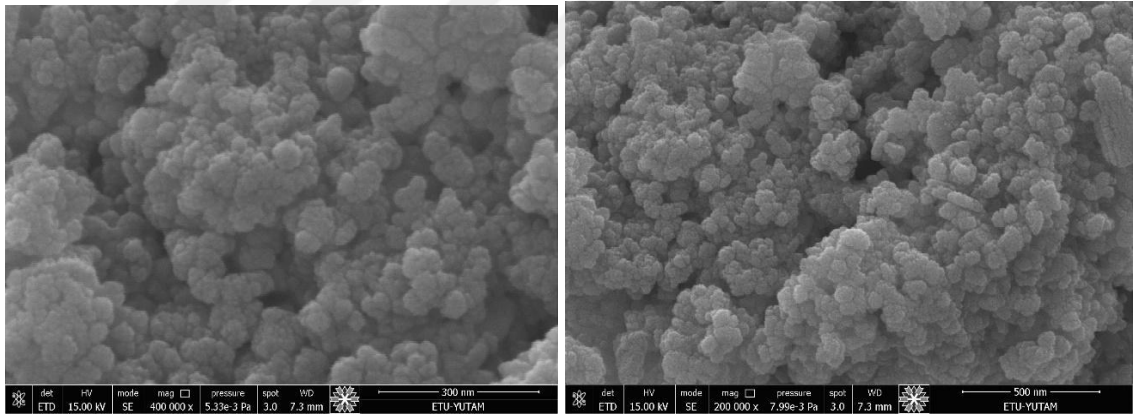
4. BULGULAR

4.1. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

AgNP'leri *T. spicata* L. ekstraktı indirgen ajan olarak kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edildi. Çalışmada kullanılan ve yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'leri SEM analizi, FTIR analizi, XRD analizi ve UV spektroskopi teknikleri kullanılarak karakterize edildi.

4.1.1. SEM Analizi

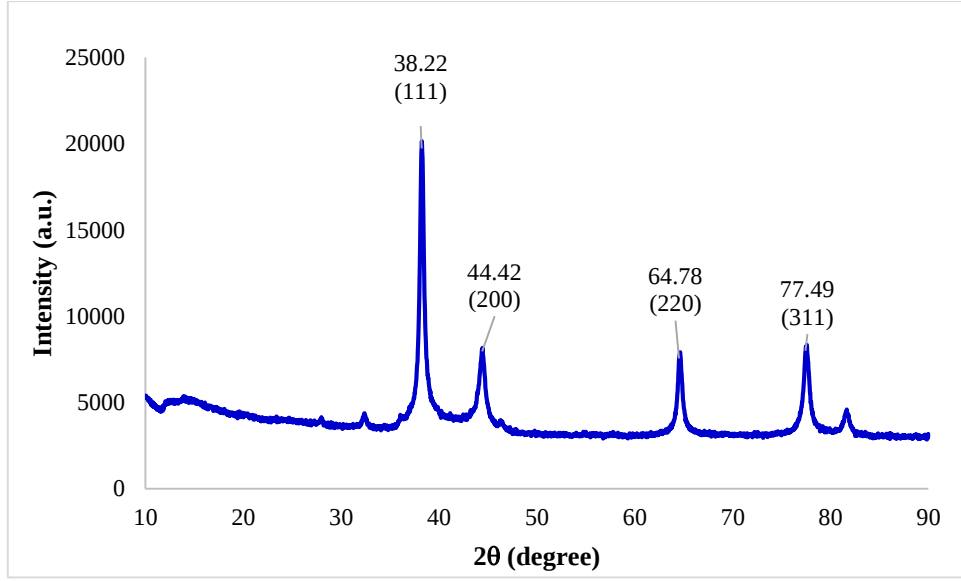
T. spicata L. ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin morfolojisini ve boyut detayını belirlemek için SEM analizi yapıldı ve SEM analiz görüntüleri Şekil 4.1'de verildi. Elde edilen SEM görüntülerinden AgNP'lerin spiral-küresel yapıda oldukları ve 12 – 60 nm boyutlarında AgNP'lerin sentezlendiği belirlendi. SEM analizinde AgNP'lerin agrega oldukları tespit edildi.



Şekil 4.1 AgNP'lerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü

4.1.2. XRD analizi

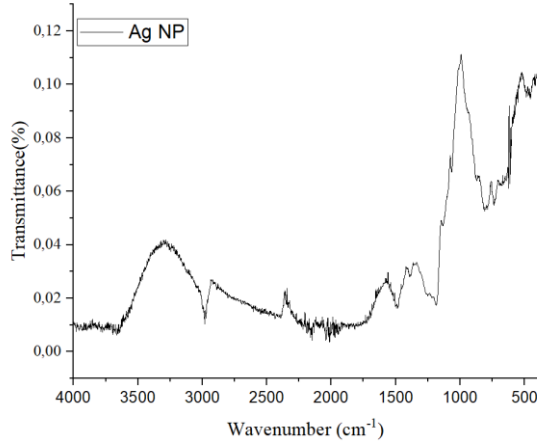
AgNP'lerin XRD deseni ve boyutu (111), (200), (220) ve (311) açıları ve bu açılar noktaların değerleri ile gösterildi.



Şekil 4.2. AgNP'lerin XRD analizi

AgNP'lere ait X-ışını kırınım desenleri Şekil 4.2'te verildi. Elde edilen bulgulara göre AgNP'lerin nanokristal yapısı net olarak görülmektedir. XRD desenleri, (111), (200), (220) ve (311)'e karşılık gelen (2θ) 38.22°, 44.42°, 64.78° ve 77.49° açılarında dört yoğun tepe noktası belirlendi.¹⁹³

4.1.3. FTIR analizi



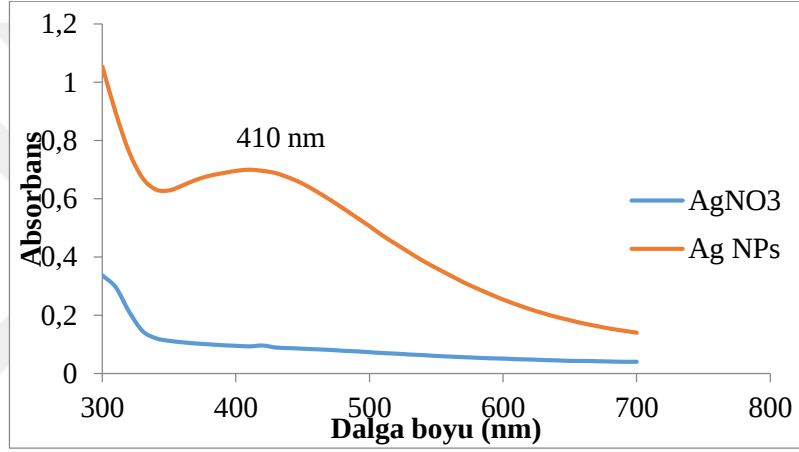
Şekil 4.3. AgNP'lerin Fourier Dönüştümlü Infrared Spektrofotometre (FTIR) sonucu

T. spicata L. ekstresi kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'lerinin FTIR spektrumları Şekil 4.3'te gösterilmiştir. FTIR spektrumunda 3300, 2160, 1630, 611 ve 504 cm⁻¹'de bantlar gösterilmiştir. 3300 cm⁻¹'deki yaygın bantlar

yapıdaki su kaynaklı O-H esnemesine karşılık gelmektedir. 2160 cm^{-1} 'deki zayıf bant, -C=N gerilmesinden kaynaklanmaktadır. 1630 cm^{-1} 'deki keskin bant amin gruplarında yer alan -N-H esnemelerine ait bantlara aittir. 611 ve 504 cm^{-1} 'de yer alan gerilmelere ait bantlar -N-H ve C-Cl ait titreşimlerine atanabilir. AgNP'lerin IR spektrumunda, 1367 cm^{-1} 'de gözlemlenen bant -C-O yapısındaki gerilmeye karşılık gelmektedir.¹⁹⁴⁻¹⁹⁶

4.1.4. UV-Visible Spektrofotometre

AgNP'lerin dalga boyu analizi sonucunda 410 nm'de oluştuğunu gösteren yayvan pik elde edildi.



Şekil 4.4. AgNP'lerin spektrofotometrik analiz tarama sonucu

Şekil 4.4'de AgNO₃ ve AgNP'lere ait UV spektrumları görülmektedir. UV spektrumunda yer alan 410 nm'deki pik AgNP'lerin karakteristik yüzey plazmonuna aittir ve AgNP'lerin varlığını net bir şekilde göstermektedir.

4.2. Hazırlanan Solüsyonların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, *T. spicata* ekstraktından elde edilen AgNP'lerin, saf yağı, yağlı çözeltilerinin ve klorheksidinin antimikrobiyal etkinliğini görmek için patojen bakteriler olan *P.aeruginosa*, *B.cereus*, *E. coli*, *S. aureus* ve maya mantarı olan *C.albicans*'a karşı agar well difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi.

Araştırmamızda kullanmış olduğumuz bakterilerin üremesine karşı inhibisyon alanın değerlendirilmesinde daha önceki literatürlerde kullanılan parametreler doğrultusunda değerler kategorize edildi (Tablo 4.1).

Bu tablo irdelendiğinde (24 saat inkübasyonda elde edilen inhibisyon test sonuçları); Grup 7 ve Grup 5 patojenler üzerinde inhibisyon alanı oluşturmadı ve antimikrobiyal etki göstermedi.

Grup 2, bakterilere ve mantara karşı bir inhibitör alanın varlığını gösterdi. Ancak ortaya çıkan inhibisyon alanı, klorheksidinde üretilen inhibisyon alanından daha küçüktü.

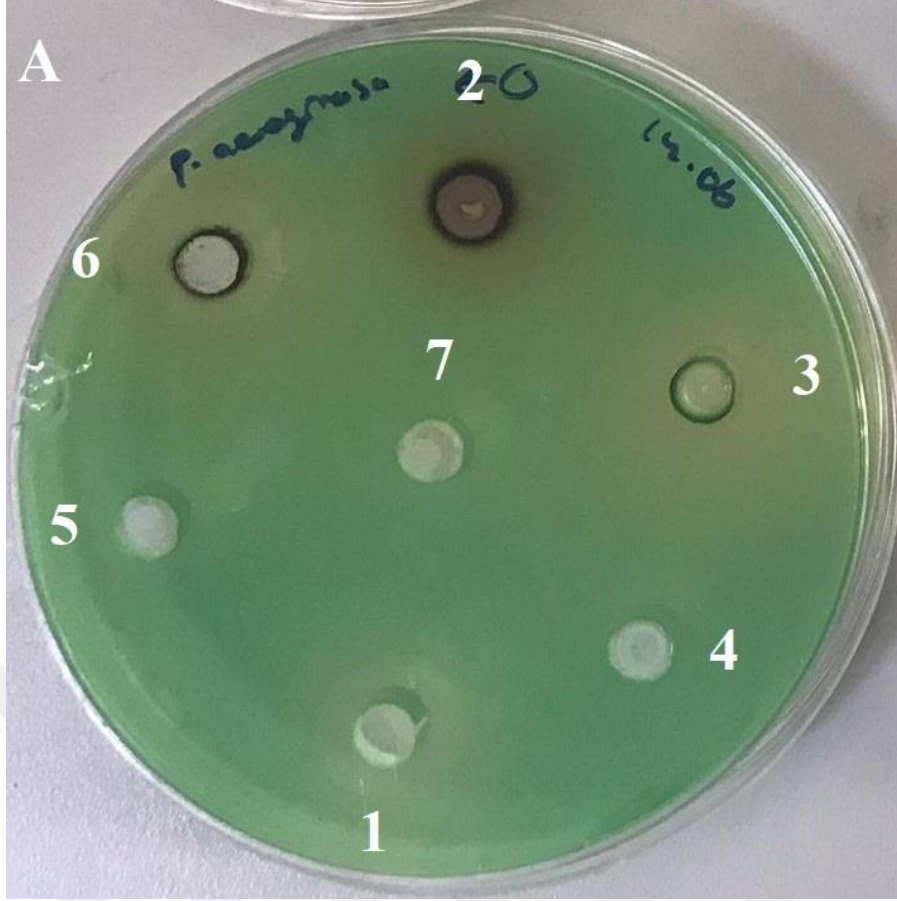
Grup 3, *P. aeruginosa* 'ya karşı etkili olmamasına rağmen, diğer patojenlere en büyük inhibisyon alanı oluşturdu.

Grup 4, *P. aeruginosa* 'ya etkili olmadı. İnhibisyon alanı kapsamında kontrol grubuyla Grup 4 mukayese edildiğinde *B. cereus* hariç diğer patojen mikroorganizmalara karşı etkisi zayıftı.

Grup 6, inhibisyon alanı kapsamında kontrol grubuyla mukayesesinde *C.albicans* 'a karşı daha etkili bulundu. Diğer patojenlerde ise kontrol grubu daha etkiliydi. Grup 6 patojenlere karşı Grup 2'den fazla antimikrobiyal etki gösterdi.

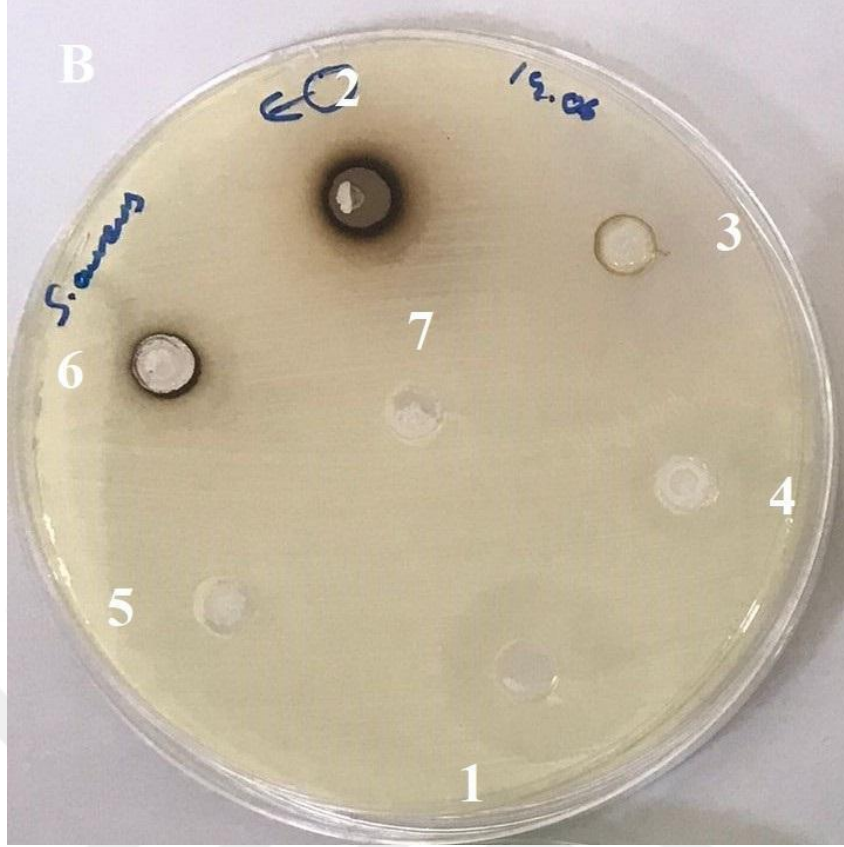
Tablo 4.1. Farklı solüsyonlar arasında ve farklı mikroorganizmalar için inhibisyon bölgesinin karşılaştırılması

Mikroorganizmalar	<u>Grup 1</u> Klorheksidin (CHX) (pozitif kontrol)	<u>Grup 2</u> AgNP'ler	<u>Grup 3</u> <i>T.Spicata</i> yağı (saf)	<u>Grup 4</u> <i>T.Spicata</i> yağlı çözelti (%10)	<u>Grup 5</u> <i>T.Spicata</i> yağlı çözelti (%2)	<u>Grup 6</u> AgNP'ler+ <i>T.Spicata</i> yağı (saf)	<u>Grup 7</u> DMSO(%10) (negatif kontrol)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	10	-	-	-	11	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	10	21	9	-	11	-
<i>Escherichia coli</i>	14	9	22	13	-	10	-
<i>Candida albicans</i>	19	20	32	11	-	20	-
<i>Bacillus cereus</i>	19	12	28	20	-	14	-



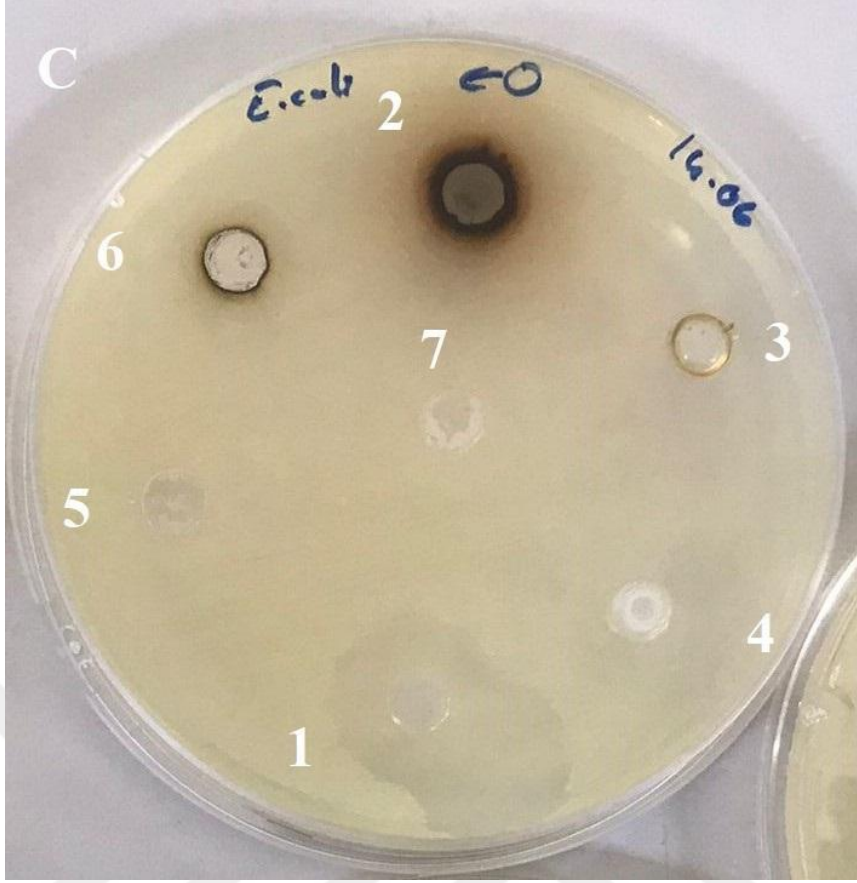
Şekil 4.5 *Pseudomonas aeruginosa* için büyüme inhibisyon alanı

Grup 1. Pozitif kontrol grubu; %2 Klorheksidin kullanılan grup, Grup 2. AgNP solüsyonunun kullanıldığı grup, Grup 3. *T. spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup, Grup 4. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 5. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 6. *T. spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *T. spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup, Grup 7. Negatif kontrol grubu; %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup.



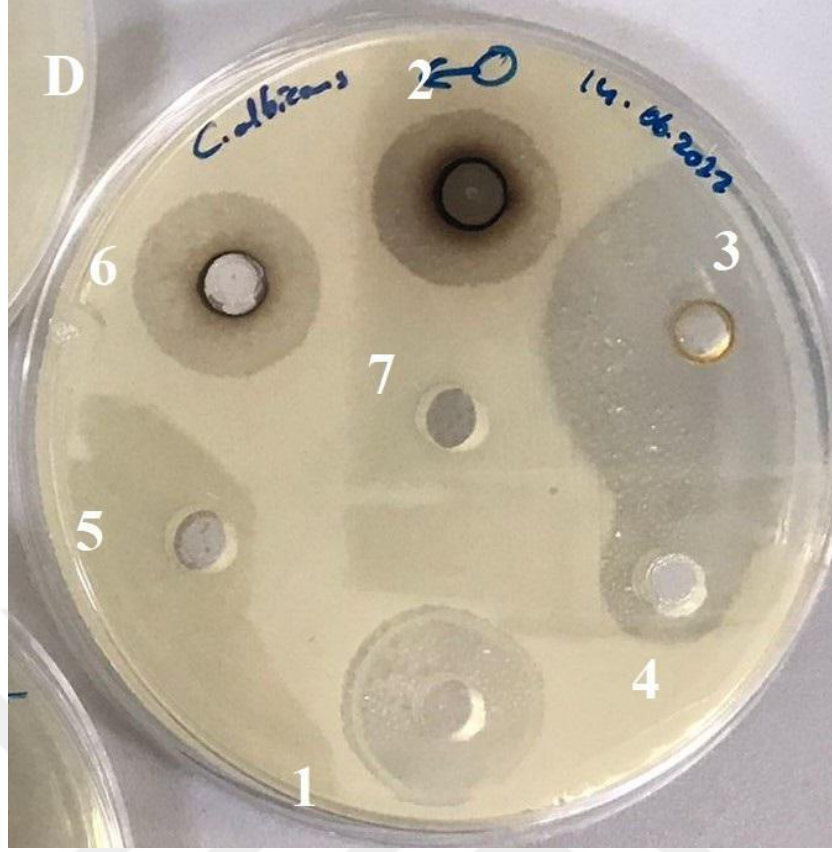
Şekil 4.6. *Staphylococcus aureus* için büyüme inhibisyon alanı

Grup 1. Pozitif kontrol grubu; %2 Klorheksidin kullanılan grup, Grup 2. AgNP solüsyonunun kullanıldığı grup, Grup 3. *T. spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup, Grup 4. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 5. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 6. *T. spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *T. spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup, Grup 7. Negatif kontrol grubu; %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup.



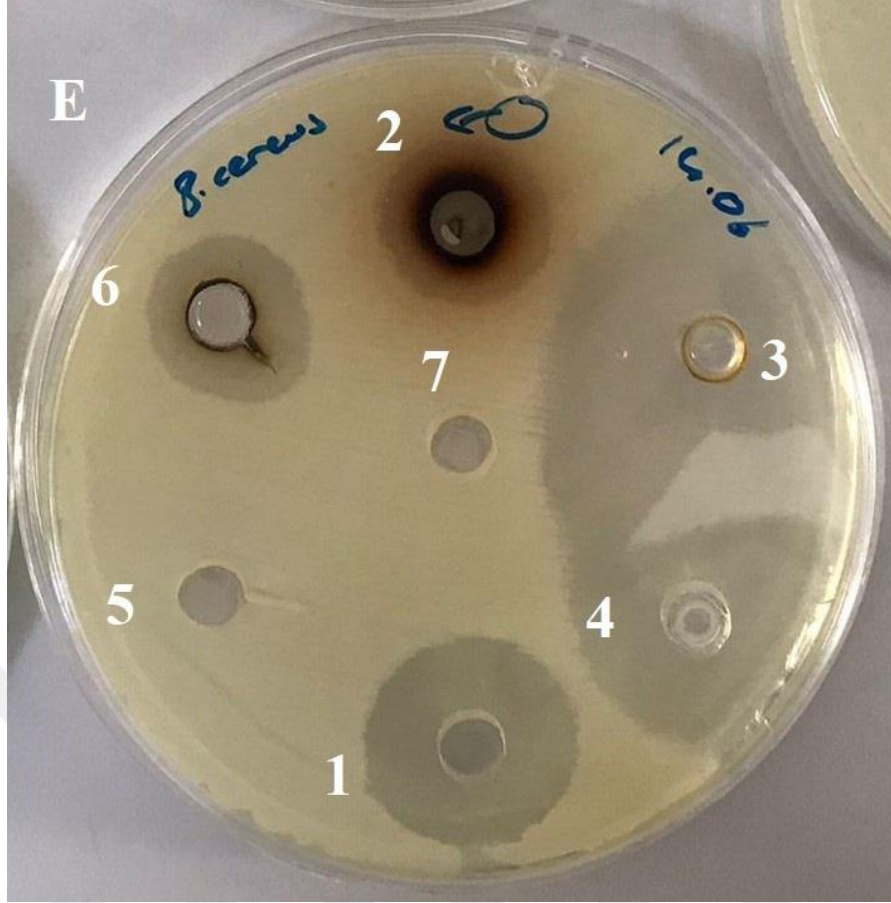
Şekil 4.7. *Escherichia coli* için büyüme inhibisyon alanı

Grup 1. Pozitif kontrol grubu; %2 Klorheksidin kullanılan grup, Grup 2. AgNP solüsyonunun kullanıldığı grup, Grup 3. *T. spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup, Grup 4. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 5. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 6. *T. spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *T. spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup, Grup 7. Negatif kontrol grubu; %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup.



Şekil 4.8. *Candida albicans* için büyüme inhibisyon alanı

Grup 1. Pozitif kontrol grubu; %2 Klorheksidin kullanılan grup, Grup 2. AgNP solüsyonunun kullanıldığı grup, Grup 3. *T. spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup, Grup 4. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 5. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 6. *T. spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *T. spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup, Grup 7. Negatif kontrol grubu; %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup.



Şekil 4.9. *Bacillus cereus* için büyüme inhibisyon alanı

Grup 1. Pozitif kontrol grubu; %2 Klorheksidin kullanılan grup, Grup 2. AgNP solüsyonunun kullanıldığı grup, Grup 3. *T. spicata*'dan elde edilen saf yağın kullanıldığı grup, Grup 4. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %10 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 5. *T. spicata*'dan elde edilen yağın %2 çözeltisinin kullanıldığı grup, Grup 6. *T. spicata*'dan sentezlenen AgNP'ler ve *T. spicata*'dan elde edilen saf yağı karışımının kullanıldığı grup, Grup 7. Negatif kontrol grubu; %10 dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı grup.

5. TARTIŞMA

Günümüze kadar oral mikrofloradaki patojen mikroorganizmaların elimine edilmesi üzerine kullanılan çok sayıda antibakteriyel ajanlar kullanılmıştır. Antibiyotiklerin ve antiseptiklerin bazı istenmeyen yan etkilerinden dolayı, arayışlar devam etmektedir. Bu bağlamda araştırmamızda patojen mikroorganizma (bakteriler ve maya mantarı) üzerine *T. spicata* bitkisinden yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal etkinliğini araştırılması planlandı, elde edilen veriler farklı gruplarda karşılaştırılmalı olarak değerlendirildi.

Patojen mikroorganizmaların zararlı etkilerinden korunmak için sistemik olarak antibiyotiklerin kullanımı çok yaygındır. Ancak istenmeyen yan etkilerinden dolayı, antibakteriyel ajanların lokal kullanımını tercih edilmeye başlanmıştır.¹⁹⁷ Bu antibakteriyel ajanların patojenik mikroorganizmaları inaktive etmedeki etkinlikleri gösterilmiştir. Bu ajanlardan en çok kullanılan klorheksidindir.¹⁹⁸ Ancak tat alma duyu bozukluğu (disguzi), dişlerde, dilde ve protetik kuronlarda estetik olmayan kahverengimsi pigmentler oluşturması klorheksidinin olumsuz etkileridir.^{174,175}

Yapılan birçok *in vitro* çalışmalarda % 2 klorheksidin pozitif kontrol için kullanıldığı tespit edilmiştir.¹⁹⁹⁻²⁰¹ Araştırmamızda literatürlere benzer çalışma düzeneği oluşturuldu, pozitif kontrol grubu olarak % 2 klorheksidin grubu seçildi.

Antiseptik, antimikrobiyal ve antioksidatif özelliklerinden dolayı kekik bitkisi yüzyıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır.^{202,203}

Yavuz ve ark.²⁰⁴ kekik bitkisinin alt türü olan *Thymus capitatus* uçucu (esansiyel) yağının ve onun gargara preformülasyonlarının antimikrobiyal etkisini incelemiştir. *T. capitatus* esansiyel yağının üç farklı konsantrasyonu ile basit hazırlama yöntemi kullanılarak preformülasyonlar hazırlanmıştır. Bu bileşenler ve esansiyel yağ, sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktivite çalışmaları için *in vitro*

olarak test edilmiştir. Tüm gargara formülasyonları uçucu yağdan daha etkili bulunmuş ve standart antimikrobiyal ajanların (siprofloksasin ve mikonazol) değerleri ile karşılaştırıldığında önemli bir etki gözlenmiştir. Farklı bir çalışmada da kekiğin bir diğer alt türü olan *Thymbra capitata* esansiyel yağının *Candida* türlerine karşı aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada karvakrol (%75) açısından zengin *T. capitata* esansiyel yağı, güçlü bir anti-*Candida* etkisi gösterdiği bildirilmiştir.²⁰⁵

Yine başka bir çalışmada kekiğin bir alt türü olan *Thymus vulgaris* ekstraktının klorheksidinle mukayeseli olarak, *Streptococcus mutans* üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada antimikrobiyal etkisi *in vivo* olarak gösterilmiştir.²⁰⁶ Sonuç olarak, *T. vulgaris* ekstraktı *S. mutans*'a karşı önemli bir antimikrobiyal aktivite göstermesine rağmen, klorheksidin daha fazla bakteri türünün tükürükte azaltmada daha etkili olduğu vurgulanmıştır.

Bizim araştırmamızda kekiğin bir başka alt türü olan *T. spicata* L. bitkisinin ekstresinden elde edilen saf yağ ve yağlı çözeltilerinden yararlanıldı. Keza daha önceki bir çalışmada *T. spicata* L. bitkisinin esansiyel yağlarının beş farklı konsantrasyonun (0.2, 2, 4, 10 ve 20 µl/ml) iki Gr+ bakteri (*S. agalactiae* ve *S. aureus*) ve iki Gr- bakteri (*E. coli* ve *K. pneumoniae*) üzerindeki antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Yağların hem Gr+ hem de Gr- bakterilere karşı aktif olduğunu ortaya çıkarmıştır.²⁰⁷ Araştırmamızda da kullanmış olduğumuz *T. spicata* L. bitkisinin ekstresinden elde edilen saf yağ ve yağlı çözeltilerinin Gr+ bakterilerden *S.aerus*'a ve Gr- bakterilerden *E.coli* üzerine benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmamızda maya mantarı *C.albicans*'a, patojen Gr+ bakteri olan *B.cereus*'a karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edildi.

Saidi ve ark.²⁰⁷ 2012'deki *in vitro* olarak yaptığı çalışmasında disk difüzyon yöntemi kullanmıştır. Araştırmamızda ise agar well difüzyon yöntemini tercih edildi.

Literatür taramasında kekik bitkisinin alt türü olan *T. spicata* L.'nin patojenler üzerine antibakteriyel etkisini gösteren sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Onun için sınırlı literatür tartışmasını yapmamıza rağmen, araştırmamıza konu olan gruplar arası değerlendirme esas alındı.

AgNP'lerin iyi bir antibakteriyel yeteneğe sahip olup olmadığını değerlendirmek için antimikrobiyal testlerden yararlanılmıştır. Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için kullanılan testlerde inhibisyon alanları esas alınmıştır. İnhibisyon alanın değeri daha önceki literatürlerde yararlanılan gruplandırmalar esasında yürütüldü. Literatürün vurguladığı gibi bizim inhibisyon alanlarımızın çapları da 5 mm'den küçük ise zayıf, 5-10 mm arası orta, 10-20 mm arası güçlü ve 20 mm den daha büyük ise çok güçlü olarak sınıflandırıldı.²⁰⁸

Biyosentezlenmiş AgNP'lerin antimikrobiyal araştırmalarının çoğu, agar well difüzyon yöntemiyle incelenmiştir.^{199-201,209} Keza çalışmamızda da benzer yöntem kullanıldı

AgNP'lerin elde edilmesi için farklı yöntemler denenmiştir. Nanopartiküllerin sentezlenmesinde kullanılan geleneksel yöntemler (kimyasal ve fiziksel metotlar) toksik metabolize ürünleri oluşturduğu için çevre üzerinde olumsuzluklar meydana getirmektedir.²¹⁰ Araştırmalar yeşil sentezin, nanopartikül üretimindeki başarısının yüksek olması, maliyetin az olması ve karakterizasyon kolaylığı gibi avantajları sebebi ile geleneksel metotlara göre daha etkili olduğunu göstermiştir.⁵⁸ Çalışmamızda da literatürlerle uyumlu olarak yeşil sentez yöntemi tercih edildi.

AgNP'ler başka bitkilerden de sentezlenebilir. Araştırmamızda AgNP'leri *T. spicata* L. bitkisinin ekstresinden yeşil sentez yöntemiyle elde edilirken, Garibo ve ark.²¹¹ ise AgNP'lerini *Lysiloma acapulcensis* ekstresinden yine aynı metotla elde etmişlerdir.

Çalışmada kullanmış olduğumuz mikroorganizmalar daha önce Garibo ve ark. tarafından da AgNP'lerin antibakteriyel etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

Garibo ve ark.²¹¹ 2020 yılındaki yine bu çalışmasında ilave olarak, AgNP'lerin elde edilmesinde kullanılan yeşil sentez yöntemini geleneksel yöntemlerle de karşılaştırmışlar. Yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin, geleneksel yöntemlerden biri olan kimyasal olan yöntemle elde edilen AgNP'lerden daha düşük konsantrasyonlarda bile *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı daha güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiğini vurgulamıştır.

Nanoteknolojinin temeli, malzemelerin boyutları nanometre aralığına (1–100 nm) düşürüldüğünde, malzemelerin özelliklerinin önemli ölçüde değişmesi gerçeğinde yatmaktadır. AgNP'lerin karakterizasyon teknikleri, nanopartiküllerin morfolojisinin ve boyutlarının daha iyi anlaşılmasını sağlar.²¹² Malzemenin yapısal karakterizasyonu gerçekleştirmek ve yapıdaki fonksiyonel grupları tanımlamak için FTIR spektroskopisi yaygın olarak kullanılmaktadır.^{194–196} Aynı zamanda XRD desenleri, (111), (200), (220) ve (311)'e karşılık gelen (2 θ) 38.22°, 44.42°, 64.78° ve 77.49° açılarında dört yoğun tepe noktası belirlenmektedir.¹⁹³ Çalışmamızın farklı karakterizasyon tekniklerinin sonuçlarına göre, SEM görüntülemesinde AgNP'lerin küre şeklinde, 12-60 nm boyutlarında olduğunu, FTIR spektrumunda fonksiyonel grupların varlığı, XRD tepe noktası değerleri ve şiddetlerinin aynı olduğu tespit edildi.

Diğer bir değerlendirmemizde UV spektrumunda yer alan 410 nm'deki pik AgNP'lerin varlığını net bir şekilde gösterildi. Sonuçlarımız literatür bulguları ile uyumludur.^{195,213}

Araştırmamızın bir bölümü de *C.albicans* üzerinde yoğunlaşmıştır. Kandida kaynaklı protez stomatiti hastalarda ağırlı, ciddi rahatsızlıklar gözlenmektedir. Literatürde tedavi amaçlı sentezlenmiş AgNP'ler içeren akrilik protez yumuşak astarının

antifungal özelliğini gösteren bir *in situ* çalışma da mevcuttur.²¹⁴ Çalışmanın çıktılarına göz atıldığında, *in situ* sentezlenen AgNP'leri içeren akrilik yumuşak astarın doğrudan temas yoluyla *C. albicans*'ın etkin kontrolü tespit edilmiştir. Bu çalışma, *in situ* sentezlenen AgNP'lerin, protez stomatitini tedavi etmek ve önlemek için akrilik protez yumuşak astarını modifiye etmede etkili bir strateji olabileceğini düşündürmektedir.²¹⁴

Yapılan başka bir *in vitro* çalışmada endodontik patojenler (*C. albicans*, *E. faecalis*, *K. Pneumoniae*) üzerine hem AgNP'lerin kullanımının hem %2 CHX glukonatin kullanımının, hem de bunların kombinasyonunun kullanımının antimikrobiyal etkinliği değerlendirilmiştir.²¹⁵

Kombine solüsyonunun (CHX ve AgNP karışımından elde edilen), tek başına kullanılan CHX veya AgNP'lerine kıyasla daha yüksek antibakteriyel etkinliği gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca en çok etkilenen mikroorganizmanın *C. albicans* olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da AgNP'lerin ve AgNP+*T. spicata* saf yağı karışımının *C.albicans* üzerine CHX'den daha çok etki ettiği tespit edildi.

Luckie ve ark.²¹⁶ biyolojik olarak sentezlenmiş AgNP'lerin ve klorheksidinin *S. mutans* ve *L. Casei*'ye karşı antibakteriyel etkisini değerlendirmiştir. Bu çalışmada AgNP'lerin hem *L. casei* hem de *S. mutans*'ı klorheksidinden daha iyi inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. 1 mg/ml konsantrasyondaki AgNP'ler, 20 mg/ml klorheksidin glukonata kıyasla istatistiksel olarak önemli antibakteriyel etki göstermiştir. Araştırmamızda yararlandığımız mikroorganizmalar bu çalışmayla aynı olmamakla birlikte AgNP'lerinin antibakteriyel etkisini göstermesi açısından önemlidir. Keza çalışmamızda AgNP'lerin *C. albicans*'a karşı etkisi klorheksidinle kıyasla daha fazla antibakteriyel etkili olduğu bulundu.

Panpaliya ve ark.¹⁹⁹ 2019 yılında yaptığı çalışmada ise beş farklı oral patojenik bakteriye (*S. mutans*, *S. oralis*, *L.acidophilus*, *L.fermentum* ve *C.albicans*) karşı

AgNP'lerin klorheksidine oranla antimikrobiyal özelliği *in vitro* olarak değerlendirmiştir. AgNP'ler, klorheksidine kıyasla beş kattan daha az konsantrasyonla daha iyi bakteriyostatik ve bakterisidal etki sergilediği tespit edilmiştir. Araştırmamızda da farklı Gr+, Gr- bakteriler kullanılması ilave, *C.albicans* da ele alınmıştır. Bakteriler üzerinde AgNP'lerin antibakteriyel etkisi klorheksidine kıyasla az olmakla birlikte, *C.albicans*'a karşı antibakteriyel etkisi klorheksidinden daha fazlaydı.

Başka bir çalışma yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'ler (sentezde nim, soğan ve domates kullanılarak) muhtemelen flavonoidlerin ve terpenoidlerin yüksek konsantrasyonundan dolayı *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir¹³⁹. Çalışmamızda da yeşil sentez yöntemi kullanılarak, *T. spicata* L. bitkisinden AgNP'ler elde edildi ve klorheksidinle karşılaştırıldı. Elde edilen AgNP'ler *S. aureus*'a karşı etki gösterse de, klorheksidinle kıyaslandığında zayıf antibakteriyel etki gösterdi.

Majeed ve ark.²¹⁷ yaptığı bir çalışmada *Salix Alba*'nın kabuk özütü kullanılarak yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin dış plağından izole edilen bakterilere karşı antimikrobiyal etkisini araştırmıştır. Dış çürüğü oluşturan bakteriler *Lactobacillus sp*, *Streptococcus sp.* ve *Staphylococcus sp.* ve farklı referans suşlarla karşılaştırılmıştır. Biyolojik olarak sentezlenen bu AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi, disk difüzyonu ile değerlendirilmiş ve bakteri izolatlarına karşı iyi bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca bu nanopartiküller, bu çalışma sırasında amoksisilin, tetrasiklin ve siprofloksasin gibi farklı antibiyotiklerle birlikte oldukça önemli aktivite göstermiştir.

Rashad ve ark.¹³⁰ *S.mutans*, *S. aureus* and *E. faecalis* gibi oral patojenlere karşı *Spirulina platensis* özütü kullanılarak biyosentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi araştırmıştır. Sonuçlar, *Spirulina* özütü kullanılarak biyosentezlenen AgNP'lerin, test edilen üç bakteriye karşı iyi antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu

göstermiştir. Aynı zamanda çalışmamızda AgNP'ler de *S. aureus*'a antimikrobiyal etki gösterdi.

Ejder meyvesinin (*Hylocereus polyrhizus*) kabuk ekstraktından AgNP sentezi ve antiseptik gargara olarak potansiyelini gösteren bir çalışmada hazırlanan gargaranın *S. aureus* ve *E. coli*'ye pozitif kontrol grubundan daha etkili olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada pozitif kontrol grubu olarak gentamisin kullanılmıştır.²⁰⁸ Bizim çalışmamızda AgNP'ler ve AgNP + saf *T.spicata* L. saf yağı karışımı pozitif kontrol grubumuzla (klorheksidin) karşılaştırıldığında, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi zayıf oldu.

Yapılan bir çalışma *Clitoria ternatea*'nın bitki özü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi değerlendirmiştir. Gr+ bakterilere (*B. subtilis* ve *S. aureus*) ve ayrıca Gr- bakterilere (*E. coli* ve *K. pneumoniae*) karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Sulu ekstraktlarını antibakteriyel etkisi çok düşüktü. Bu çalışmada, AgNP'ler test edilen patojenlere karşı daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir.²¹⁸

AgNP'lerin *E. coli* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi ve etki mekanizması, AgNP'lerle muameleden sonra bakteri hücrelerinin büyümesini, geçirgenliğini ve morfolojisini analiz ederek araştırılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (1.25, 2.5, 5, and 10 µg/ml) AgNP'lerin *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Deneysel sonuçlar, 10 µg/ml AgNP'lerin, *E. coli* büyümesini tamamen engelleyebileceğini göstermiştir.¹³³

Sondi ve ark.²¹⁹ AgNP'lerin *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi, Gr- bakteriler için bir model olarak araştırmıştır. Sonuçlar, tedavi edilen *E. coli* hücrelerinin hasar gördüğünü ve bakterinin hücre duvarında "çukurlar" oluştuğunu doğrularken, AgNP'lerin bakteri zarında biriktiği bulunmuş ve bu partiküllerin etkili bir bakterisit

olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da AgNP'lerin *E.coli* üzerinde antibakteriyel etki gösterdi.

ALHarthi ve arkadaşları²⁰⁹ yaptığı bir çalışmada *Commiphora myrrh* (mür) bitkisini AgNP'ler karıştırarak *P. gingivalis* üzerinde antimikrobiyal etkisini incelemiştir. Çalışmada dört solüsyonun antimikrobiyal özelliklerini karşılaştırılmıştır: a) plasebo solüsyonu, b) mür solüsyonu (MS), c) AgNP'lerle karıştırılmış MS (M-AgNP) ve d) tek başına AgNP süspansiyonu. Hazırlanan solüsyon/süspansiyon, agar disk difüzyon yöntemiyle uygulanmış ve inhibisyon bölgeleri (IZ'ler) 24 saat (zaman 1), 48 saat (zaman 2) ve 72 saat (zaman 3) sonra ölçülmüştür. Bu çalışmada M-AgNP'nin gerçekten de *P. gingivalis*'e karşı MS ve AgNP'ye kıyasla 48 saat inkübasyondan sonra üstün antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ancak 24 saat sonra göstermediğini rapor edilmiştir. Ayrıca, artan antimikrobiyal aktivite 72 saatte durmuştur. Tek başına AgNP'lerin, antimikrobiyal etki göstermediğini tespit edilmiştir. Çalışmamızda AgNP'lerle karıştırılmış *T. spicata* L. bitkisinin saf yağ karışımının patojenlere karşı antimikrobiyal etkisini tespit ettik. Ayrıca AgNP'ler de patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdi.

Başka bir çalışmada da *Artocarpus heterophyllus* tohum özünü kullanarak AgNP'lerin yeşil sentez yöntemiyle sentezleyerek antibakteriyel aktivitesini değerlendirilmiştir. Bu şekilde elde edilen AgNP'ler, Gr+ (*B. cereus*, *B. subtilis* ve *S. aureus*) ve Gr- (*P.aeruginosa*) mikroorganizmalara karşı oldukça güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir²²⁰. Yaptığımız çalışmada yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'ler *B. cereus*, *S. aureus* ve *P.aeruginosa*'a karşı antimikrobiyal etkisi tespit edildi.

Farklı bir çalışmada *Portulacaria afra* bitki özü kullanılarak AgNP'leri yeşil sentez yöntemiyle sentezleyerek, disk difüzyon metodu kullanılarak antibakteriyel ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Mevcut bulgulardan, bitkinin yaprak ekstresi

kullanılarak biyosentezlenen AgNP'lerin hem Gr+ (*B. subtilis*, *S. aureus*, *S. faecalis*) hem de Gr- bakterilere (*E. coli*, *N. gonore*, *P. aeruginosa*) karşı potansiyel antibakteriyel etki gösterdiği sonucuna varılabilirliğini öne sürülmüştür.²²¹ Bizim çalışmamızda da AgNP'lerin *E. coli*, *S. aureus* ve *P.aeruginosa*'a karşı antimikrobiyal aktivitesini tespit ettik.

Haripriya ve ark.²²² inatçı endodontik enfeksiyonlarda *Aloe vera* bitkisinden elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesini kalsiyum hidroksitle karşılaştırmıştır. *A. vera* jeli ve *A. vera*'dan elde edilen AgNP'leri, 500 µg, 1000 µg ve 2000 µg konsantrasyon elde etmek için distille suyla seyreltilmiştir. Antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirmesi için disk difüzyon yapılmıştır. Sonuç olarak, *A. vera*'nın AgNP'leri, antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışmamızda *T. spicata* L. bitkisinden sentezlenen AgNP'ler 50 µg/ml konsantrasyon elde etmek için distille suyla seyreltilmiş ve antimikrobiyal etki gösterdi.

Yukarıdaki çalışmalardan ilave farklı bitkilerden yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'lerin farklı bakteri ve mantarlar üzerine antimikrobiyal etkisini gösteren derleme de mevcuttur.²²³

Farklı bir çalışmada yeşil sentez metoduyla sentezlenmiş ve ilaç karışımı (azitromisin (AZM) ve klaritromisin (CLR)) AgNP'lerin antimikrobiyal etkinliği değerlendirilmiştir.²²⁴ Antimikrobiyal aktiviteleri, diş çürüğü ve periodontal hastalığa neden olan *S.mutans*, *S.aureus*, *L.acidophilus*, *M.luteus*, *B.subtilis*, *E.coli*, *P.aeruginosa* ve *C.albicans* gibi mikroorganizmalara karşı değerlendirilmiştir. Her test AgNP'ler, AZM, CLR, AgNP'ler (100 µg), AZM + AgNP'ler, CLR + AgNP'ler (50 µg + 50 µg) şeklinde hazırlanmıştır. Sonuç olarak, AgNP'ler ve ilaçla karışımı AgNP'ler, önemli bir antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir. Çalışmada AgNP'ler ve antibiyotiklerin (Azitromisin ve Klaritromisin) kombinasyonu, diş çürüğü ve periodontal hastalığa neden

olan mikroorganizmalara karşı sinerjistik bir antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu öne sürülmüştür.²²⁴ Çalışmamızda AgNP'ler + *T. spicata* L. saf yağı karışımı tüm bakteri ve maya mantarına karşı antibakteriyel ve antifungal olarak etkili oldu. Biz de bu karışımının sinerjistik etkinliğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. *Thymbra spicata*'dan elde edilen bitki özleri, uygun maliyetli, güvenli ve çevre dostu bir süreç olan AgNP'leri elde etmek için kullanıldı.
2. AgNP'ler ve AgNP'lerin *T. spicata*'nın saf yağla karışımının araştırmaya konu edilen tüm patojen bakteriler ve maya mantarı üzerine antimikrobiyal etkilerinden dolayı ağız gargarası formülasyonunda kullanılabilir.
3. Ancak AgNP'ler kullanılmadan önce toksisitesinin kontrol edilmesi gerekir.
4. Çalışmamız sınırlı sayıda patojen mikroorganizma üzerinde yürütüldüğü için, ağız boşluğunda hastalık sebebi olabilecek diğer patojenler üzerinde de ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

1. State-Of-The-Science Review: Everything NanoSilver and More | Science Inventory | US EPA. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?Lab=NERL&dirEntryId=226785&fed_org_id=770&SIType=PR&TIMSType=Published+Report&showC.
2. Studies of Silver Nanoparticles Effects on Micro-organisms | Theivasanthi Thirugnanasambandan - Academia.edu. https://www.academia.edu/7826646/Studies_of_Silver_Nanoparticles_Effects_on_Micro_organisms.
3. Wu, D., Fan, W., Kishen, A., Gutmann, J. L. & Fan, B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J. Endod.* **40**, 285–290 (2014).
4. (PDF) Synthesis of plant-mediated silver nano particles using medicinal plant extract and evaluation of its anti microbial activities. https://www.researchgate.net/publication/266211182_Synthesis_of_plant-mediated_silver_nano_particles_using_medicinal_plant_extract_and_evaluation_of_its_anti_microbial_activities.
5. Colvin, V. L., Schlamp, M. C. & Alivisatos, A. P. Light-emitting diodes made from cadmium selenide nanocrystals and a semiconducting polymer. *Nat.* **370**, 354–357 (1994).
6. Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V. & Zolfaghari, B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res. Pharm. Sci.* **9**, 385 (2014).
7. Rosin, M. *et al.* Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J. Clin. Periodontol.* **28**, 1121–1126 (2001).
8. Effect of applying chlorhexidine antibacterial agent on the shear bond strength of

- orthodontic brackets - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8863968/>.
9. Al-Otaibi, M. *et al.* Subgingival plaque microbiota in Saudi Arabians after use of miswak chewing stick and toothbrush. *J. Clin. Periodontol.* **31**, 1048–1053 (2004).
 10. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi » Makale » Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/kastorman/issue/17236/180072>.
 11. Biodiversidade como fonte de medicamentos. http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252003000300022.
 12. Arada, J. M. G. & Perez, Z. C. Phytotherapy in Dentistry: Survey of Products of Plant Origin for Health Oral. *Brazilian J. Implantol. Heal. Sci.* **1**, 35–40 (2019).
 13. Wu, Y. H., Kuraji, R., Taya, Y., Ito, H. & Numabe, Y. Effects of theaflavins on tissue inflammation and bone resorption on experimental periodontitis in rats. *J. Periodontal Res.* **53**, 1009 (2018).
 14. Isola, G., Polizzi, A., Santonocito, S., Alibrandi, A. & Ferlito, S. Expression of Salivary and Serum Malondialdehyde and Lipid Profile of Patients with Periodontitis and Coronary Heart Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, Vol. 20, Page 6061 **20**, 6061 (2019).
 15. KIZIL, S. & TONÇER, Ö. DEĞİŞİK AZOT DOZLARININ FLORADAN TOPLANAN KARABAŞ KEKİK (*Thymbra spicata* var. *spicata* L.)’in BAZI AGRONOMİK VE KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ. *ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derg.* **13**, (2016).
 16. Best Practices and Tools for Increasing Productivity and Competitiveness in the Production Sectors: Assessment of Zaatar Productivity and Competitiveness in Lebanon. <https://archive.unescwa.org/publications/best-practices-and-tools->

increasing-productivity-and-competitiveness-production-sectors.

17. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Volume 7 on JSTOR.
<https://www.jstor.org/stable/10.3366/j.ctvxcrhxxk>.
18. Thymbra spicata L. — The Plant List.
<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-204350>.
19. Inan, M., Kırpık, M., Alpaslan Kaya, D. & Kirici, S. Effect of Harvest Time on Essential Oil Composition of Thymbra spicata L. Growing in Flora of Adıyaman Essential / aromatic oils for animal diets View project Determination of Leaf and Seed Yield With Yield Components of Rocket (Eruca sativa Mill.) in the Çukurova Conditions View project.
20. Honda, G. *et al.* Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *J. Ethnopharmacol.* **53**, 75–87 (1996).
21. Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. & Karadoğan, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. *FOOD Control* **15**, 169–172 (2004).
22. Thyme | The Genus Thymus | Elisabeth Stahl-Biskup, Francisco Saez | Ta.
<https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.4324/9780203216859/thyme-francisco-saez-elisabeth-stahl-biskup>.
23. Abdel Hameed, R. G., Mostafa, M. H. & El-Malt, M. A. Evaluation of the Antimicrobial Effect of Thyme Extract on Streptococcus Mutans. *Al-Azhar Dent. J. Girls* **7**, 313–318 (2020).
24. Proceedings of the International Conference on Supercomputing. *Proceedings of the International Conference on Supercomputing* 18–23 (2018).
25. Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M. & Rizzolio, F. The History of

- Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* **25**, E112–E112 (2019).
26. Wang, Y. & Herron, N. Nanometer-sized semiconductor clusters: Materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties. *J. Phys. Chem.* **95**, 525–532 (1991).
 27. Schmid, G. Large metal clusters and colloids - Metals in the embryonic state. *Prog. Colloid Polym. Sci.* **111**, 52–57 (1998).
 28. Hoffman, A. J., Mills, G., Yee, H. & Hoffmann, M. R. Q-sized CdS: Synthesis, characterization, and efficiency of photoinitiation of polymerization of several vinylic monomers. *J. Phys. Chem.* **96**, 5546–5552 (1992).
 29. Hamilton, J. F. & Baetzold, R. C. Catalysis by Small Metal Clusters. *Science* (80-.). **205**, 1213–1220 (1979).
 30. Mansur, H. S. *et al.* Photoelectrochemical properties of ‘Q-state’ CdS particles in arachidic acid Langmuir–Blodgett films. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **91**, 665–672 (1995).
 31. Beykaya, M. *et al.* Bitkisel Özütlere Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma An Investigation on Synthesis of Silver-Nanoparticles (AgNP) and their Antimicrobial effectiveness by using Herbal Extracts. doi:10.5578/fmbd.34220.
 32. Abiodun-Solanke, I., Ajayi, D. & Arigbede, A. Nanotechnology and its Application in Dentistry. *Ann. Med. Health Sci. Res.* **4**, S171 (2014).
 33. Freitas, R. A. Nanodentistry. *J. Am. Dent. Assoc.* **131**, 1559–1565 (2000).
 34. Nanomedicine : European Science Foundation.
<http://archives.esf.org/coordinating-research/forward-looks/biomedical-sciences-med/completed-forward-looks-in-biomedical-sciences/nanomedicine.html>.

35. The Advantages and Disadvantages of Nanotechnology – Romanian Journal of Oral Rehabilitation. <https://www.rjor.ro/the-advantages-and-disadvantages-of-nanotechnology/>.
36. Khaleelahmed Bhavikatti, S., Bhardwaj, S. & Prabhuji, M. L. V. Current applications of nanotechnology in dentistry: a review.
37. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial Text with EEA relevance - Publications Office of the EU. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/17af73d9-da70-4a46-a421-c62e3d1df6ce/language-en>.
38. Silva, G. A. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surg. Neurol.* **61**, 216–220 (2004).
39. Shetty, N. J., Swati, P. & David, K. Nanorobots: Future in dentistry. *Saudi Dent. J.* **25**, 49 (2013).
40. Rybachuk, A. Nanotechnology and nanoparticles in dentistry. (2009).
41. Kasaj, A. *et al.* Ability of nanocrystalline hydroxyapatite paste to promote human periodontal ligament cell proliferation. *J. Oral Sci.* **50**, 279–285 (2008).
42. Tetè, S. *et al.* A macro- and nanostructure evaluation of a novel dental implant. *Implant Dent.* **17**, 309–320 (2008).
43. Braceras, I., De Maeztu, M. A., Alava, J. I. & Gay-Escoda, C. In vivo low-density bone apposition on different implant surface materials. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **38**, 274–278 (2009).
44. Ellingsen, J. E., Thomsen, P. & Lyngstadaas, S. P. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontol. 2000* **41**, 136–156 (2006).
45. Park, J. W., Kim, H. K., Kim, Y. J., An, C. H. & Hanawa, T. Enhanced osteoconductivity of micro-structured titanium implants (XiVE S CELLplus) by

- addition of surface calcium chemistry: a histomorphometric study in the rabbit femur. *Clin. Oral Implants Res.* **20**, 684–690 (2009).
46. The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18807559/>.
 47. Kumar, S. & Vijayalakshmi, R. Nanotechnology in dentistry. *Indian J. Dent. Res.* **17**, 62–65 (2006).
 48. Nanotechnology-the Era Of Molecular Dentistry.: EKUAL Keşif. <https://eds.s.ebscohost.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=6556be37-9ccd-493a-bfe4-e867f7fe7d76%40redis>.
 49. Bhardwaj, A. *et al.* Nanotechnology in dentistry: Present and future. *J. Int. Oral Heal. JIOH* **6**, 121 (2014).
 50. Kanaparthi R, Kanaparthi A. The changing face of dentistry: nanotechnology. *Int J Nanomedicine* 2011; **6**: 2799-2804. - Google'da Ara. <https://www.google.com/search?q=Kanaparthi+R%2C+Kanaparthi+A.+The+changing+face+of+dentistry%3A+nanotechnology.+Int+J+Nanomedicine+2011%3B+6%3A+2799-2804.&aq=chrome..69i57.1764j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>.
 51. Mantri, S. S. & Mantri, S. The nano era in dentistry. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* **4**, 39 (2013).
 52. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17245366/>.
 53. Corrêa, J. M. *et al.* Silver nanoparticles in dental biomaterials. *Int. J. Biomater.* **2015**, (2015).

54. Magnusson, M. H., Deppert, K., Malm, J. O., Bovin, J. O. & Samuelson, L. Size-selected gold nanoparticles by aerosol technology. *Nanostructured Mater.* **12**, 45–48 (1999).
55. Shameli, K. *et al.* Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *Int. J. Nanomedicine* **5**, 875 (2010).
56. Ge, L. *et al.* Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *Int. J. Nanomedicine* **9**, 2399 (2014).
57. (PDF) Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract *Azadirachta indica* and to study its anti-bacterial and antioxidant property. https://www.researchgate.net/publication/276849300_Green_synthesis_of_silver_nanoparticles_from_leaf_extract_Azadirachta_indica_and_to_study_its_anti-bacterial_and_antioxidant_property.
58. Abdelghany, T. M. *et al.* Recent Advances in Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications: About Future Directions. A Review. *Bionanoscience* **8**, 5–16 (2018).
59. Gour, A. & Jain, N. K. Advances in green synthesis of nanoparticles. *Nanomedicine, Biotechnol.* **47**, 844–851 (2019).
60. Huston, M., DeBella, M., DiBella, M. & Gupta, A. Green synthesis of nanomaterials. *Nanomaterials* **11**, (2021).
61. Agre, ban. mo. & Ali, B. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from crust of *Cucurbita Maxima* L. (red pumpkin. (2020).
62. Das, G., Shin, H. S., Kumar, A., Vishnuprasad, C. N. & Patra, J. K. Photo-mediated optimized synthesis of silver nanoparticles using the extracts of outer shell fibre of *Cocos nucifera* L. fruit and detection of its antioxidant, cytotoxicity and

- antibacterial potential. *Saudi J. Biol. Sci.* **28**, 980–987 (2021).
63. Nadaroglu, H., Gungor, A. A., Ince, S. & Babagil, A. Green synthesis and characterisation of platinum nanoparticles using quail egg yolk. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **172**, 43–47 (2017).
 64. Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H. & Singh, S. C. Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnol. Lett.* **38**, 545–560 (2016).
 65. Baruwati, B., Polshettiwar, V. & Varma, R. S. Glutathione promoted expeditious green synthesis of silver nanoparticles in water using microwaves. *Green Chem.* **11**, 926–930 (2009).
 66. Jha, A. K., Prasad, K., Kumar, V. & Prasad, K. Biosynthesis of silver nanoparticles using Eclipta leaf. *Biotechnol. Prog.* **25**, 1476–1479 (2009).
 67. Katti, K. S., Katti, D. R. & Bedabibhas, M. Biomimetic Lessons Learnt from Nacre. *Biomimetics Learn. from Nat.* 534 (2010).
 68. Li, X., Xu, H., Chen, Z. S. & Chen, G. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *J. Nanomater.* **2011**, (2011).
 69. Mukunthan, K. S. & Balaji, S. Cashew Apple Juice (*Anacardium occidentale* L.) Speeds Up the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Sage* **4**, 71–79 (2012).
 70. Cosmetic Science and Technology. Theoretical Principles and Applications [1st Edition] 9780128020548, 9780128020050 - DOKUMEN.PUB. 39–76 <https://dokumen.pub/cosmetic-science-and-technology-theoretical-principles-and-applications-1st-edition-9780128020548-9780128020050.html> (2017).
 71. Singh, A. K., Talat, M., Singh, D. P. & Srivastava, O. N. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group. *J. Nanoparticle Res.* **12**, 1667–1675 (2010).
 72. Mittal, A. K., Chisti, Y. & Banerjee, U. C. Synthesis of metallic nanoparticles

- using plant extracts. *Biotechnol. Adv.* **31**, 346–356 (2013).
73. Fathi-Achachelouei, M. *et al.* Use of Nanoparticles in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **7**, 113 (2019).
74. Wright, J. B., Lam, K. & Burrell, R. E. Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance: a role for topical silver treatment. *Am. J. Infect. Control* **26**, 572–577 (1998).
75. Walder, B., Pittet, D. & Tramèr, M. R. Prevention of bloodstream infections with central venous catheters treated with anti-infective agents depends on catheter type and insertion time: evidence from a meta-analysis. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **23**, 748–756 (2002).
76. Gaonkar, T. A., Sampath, L. A. & Modak, S. M. Evaluation of the antimicrobial efficacy of urinary catheters impregnated with antiseptics in an in vitro urinary tract model. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **24**, 506–513 (2003).
77. Li, Y., Leung, P., Yao, L., Song, Q. W. & Newton, E. Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles. *J. Hosp. Infect.* **62**, 58–63 (2006).
78. Chen, X. & Schluesener, H. J. Nanosilver: a nanoparticle in medical application. *Toxicol. Lett.* **176**, 1–12 (2008).
79. Egger, S., Lehmann, R. P., Height, M. J., Loessner, M. J. & Schuppler, M. Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 2973–2976 (2009).
80. Haghgoo, R., Sadari, H., Eskandari, M., Haghshenas, H. & Rezvani, M. Evaluation of the Antimicrobial Effect of Conventional and Nanosilver-Containing Varnishes on Oral Streptococci. *J. Dent.* **15**, 57 (2014).
81. Leaper, D. J. Silver dressings: their role in wound management. *Int. Wound J.* **3**, 282–294 (2006).

82. Wiley, B. J. *et al.* Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis. *J. Phys. Chem. B* **110**, 15666–15675 (2006).
83. He, W., Liu, X., Kienzle, A., Müller, W. E. G. & Feng, Q. In vitro uptake of silver nanoparticles and their toxicity in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **16**, 219–228 (2016).
84. Arumai Selvan, D., Mahendiran, D., Senthil Kumar, R. & Kalilur Rahiman, A. Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. *J. Photochem. Photobiol. B.* **180**, 243–252 (2018).
85. Remya, R. R., Rajasree, S. R. R., Aranganathan, L. & Suman, T. Y. An investigation on cytotoxic effect of bioactive AgNPs synthesized using Cassia fistula flower extract on breast cancer cell MCF-7. *Biotechnol. Reports* **8**, 110 (2015).
86. Yazdanian, M. *et al.* The Potential Application of Green-Synthesized Metal Nanoparticles in Dentistry: A Comprehensive Review. *Bioinorg. Chem. Appl.* **2022**, (2022).
87. Ali, M. *et al.* Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Artemisia absinthium aqueous extract--A comprehensive study. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **58**, 359–365 (2016).
88. Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Mohanty, S. K. & Sinniah, U. R. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using fruit extract of Momordica cymbalaria and assessment of their in vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **151**, 939–944 (2015).

89. Satpathy, S., Patra, A., Ahirwar, B. & Delwar Hussain, M. Antioxidant and anticancer activities of green synthesized silver nanoparticles using aqueous extract of tubers of *Pueraria tuberosa*. *Artif. cells, nanomedicine, Biotechnol.* **46**, S71–S85 (2018).
90. Some, S. *et al.* Effect of feed supplementation with biosynthesized silver nanoparticles using leaf extract of *Morus indica* L. V1 on *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Sci. Rep.* **9**, 14839–14839 (2019).
91. Kumar, V. *et al.* Photoinduced green synthesis of silver nanoparticles with highly effective antibacterial and hydrogen peroxide sensing properties. *J. Photochem. Photobiol. B.* **162**, 374–385 (2016).
92. Garzoli, S. *et al.* Headspace/GC–MS Analysis and Investigation of Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Essential Oils and Hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller. *Foods 2021, Vol. 10, Page 1768* **10**, 1768 (2021).
93. Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L. & Debut, A. Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. *Saudi J. Biol. Sci.* **24**, 45–50 (2017).
94. Murali, M. *et al.* Plant-Mediated Zinc Oxide Nanoparticles: Advances in the New Millennium towards Understanding Their Therapeutic Role in Biomedical Applications. *Pharm. 2021, Vol. 13, Page 1662* **13**, 1662 (2021).
95. Srikar, S. K. *et al.* Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. *Green Sustain. Chem.* **6**, 34–56 (2016).
96. Ferreyra Maillard, A. P. V., Dalmasso, P. R., López de Mishima, B. A. & Hollmann, A. Interaction of green silver nanoparticles with model membranes: possible role in the antibacterial activity. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **171**, 320–

326 (2018).

97. Mohmed, A., Hassan, S., Fouda, A., Elgamal, M. & Salem, S. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus* sp. and Evaluation of their Antibacterial and Cytotoxicity. *J. Appl. Life Sci. Int.* **11**, 1–12 (2017).
98. Shao, Y. *et al.* Green synthesis of sodium alginate-silver nanoparticles and their antibacterial activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **111**, 1281–1292 (2018).
99. Durán, N. *et al.* Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine* **12**, 789–799 (2016).
100. Fernandez, C. C. *et al.* Applications of Silver Nanoparticles in Dentistry: Advances and Technological Innovation. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 1–21 (2021).
101. Peng, J. J. Y., Botelho, M. G. & Matinlinna, J. P. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *J. Dent.* **40**, 531–541 (2012).
102. Venugopal, A. *et al.* Incorporation of silver nanoparticles on the surface of orthodontic microimplants to achieve antimicrobial properties. *Korean J. Orthod.* **47**, 3 (2017).
103. Fernandes, G. L. *et al.* Nanosynthesis of Silver-Calcium Glycerophosphate: Promising Association against Oral Pathogens. *Antibiot. 2018, Vol. 7, Page 52* **7**, 52 (2018).
104. De Matteis, V. *et al.* Silver Nanoparticles Addition in Poly(Methyl Methacrylate) Dental Matrix: Topographic and Antimycotic Studies. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, (2019).
105. Paiva, L. *et al.* Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *J. Dent.* **69**, 102–109 (2018).
106. Lee, Y. J. *et al.* Ion-release kinetics and ecotoxicity effects of silver nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* **31**, 155–159 (2012).

107. Żarowska, B., Koźlecki, T., Piegza, M., Jaros-Koźlecka, K. & Robak, M. New Look on Antifungal Activity of Silver Nanoparticles (AgNPs). *Polish J. Microbiol.* **68**, 515 (2019).
108. Nozari, A., Ajami, S., Rafiei, A. & Niazi, E. Impact of Nano Hydroxyapatite, Nano Silver Fluoride and Sodium Fluoride Varnish on Primary Teeth Enamel Remineralization: An In Vitro Study. *J. Clin. Diagn. Res.* **11**, ZC97–ZC100 (2017).
109. Cataldi, A. *et al.* Adhesion of human gingival fibroblasts/*Streptococcus mitis* co-culture on the nanocomposite system Chitlac-nAg. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **27**, (2016).
110. Acosta-Torres, L. S., Mendieta, I., Nuñez-Anita, R. E., Cajero-Juárez, M. & Castaño, V. M. Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *Int. J. Nanomedicine* **7**, 4777–4786 (2012).
111. Cheng, L. *et al.* One-year water-ageing of calcium phosphate composite containing nano-silver and quaternary ammonium to inhibit biofilms. *Int. J. Oral Sci.* **8**, 172–181 (2016).
112. Freire, P. L. L. *et al.* AgNPs: The New Allies Against *S. Mutans* Biofilm - A Pilot Clinical Trial and Microbiological Assay. *Braz. Dent. J.* **28**, 417–422 (2017).
113. Qiao, S. *et al.* Ag-plasma modification enhances bone apposition around titanium dental implants: an animal study in Labrador dogs. *Int. J. Nanomedicine* **10**, 653 (2015).
114. Zhu, Y. *et al.* Hierarchical micro/nanostructured titanium with balanced actions to bacterial and mammalian cells for dental implants. *Int. J. Nanomedicine* **10**, 6659 (2015).
115. Brennan, S. A. *et al.* Silver nanoparticles and their orthopaedic applications. *Bone*

- Joint J.* **97-B**, 582–589 (2015).
116. Zhang, Y. *et al.* Tantalum Nitride-Decorated Titanium with Enhanced Resistance to Microbiologically Induced Corrosion and Mechanical Property for Dental Application. *PLoS One* **10**, (2015).
 117. Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., del Turrent, L. C. I. & Padilla, C. R. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 615–621 (2010).
 118. Panáček, A. *et al.* Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nat. Nanotechnol.* **13**, 65–71 (2018).
 119. Porenczuk, A. *et al.* An initial evaluation of cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a disinfection liquid containing silver nanoparticles alone and combined with a glass-ionomer cement and dentin bonding systems. *Adv. Clin. Exp. Med.* **28**, 75–83 (2019).
 120. Kiriya, T. *et al.* Antibacterial properties of a self-cured acrylic resin composed of a polymer coated with a silver-containing organic composite antibacterial agent. *Dent. Mater. J.* **32**, 679–687 (2013).
 121. De-Deus, G., Brandão, M. C., Fidel, R. A. S. & Fidel, S. R. The sealing ability of GuttaFlow in oval-shaped canals: an ex vivo study using a polymicrobial leakage model. *Int. Endod. J.* **40**, 794–799 (2007).
 122. Patil, P. *et al.* A comparison of apical sealing ability between GuttaFlow and AH plus: An in vitro study. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* **6**, 377–382 (2016).
 123. Zarco, M. F., Vess, T. J. & Ginsburg, G. S. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis.* **18**, 109–120 (2012).
 124. Sampaio-Maia, B., Caldas, I. M., Pereira, M. L., Pérez-Mongiovi, D. & Araujo, R.

- The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. *Adv. Appl. Microbiol.* **97**, 171–210 (2016).
125. Position paper of The American Academy of Periodontology: periodontal disease as a potential risk factor for systemic diseases - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9706864/>.
 126. Garcia, R. I., Henshaw, M. M. & Krall, E. A. Relationship between periodontal disease and systemic health. *Periodontol. 2000* **25**, 21–36 (2001).
 127. Gupta, S., Jangir, O. P. & Sharma, M. The Green Synthesis, Characterization And Evaluation Of Antioxidant And Antimicrobial Efficacy Of Silver&Gold Nanospheres Synthesized From Wheat Bran. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **9**, 103–105 (2016).
 128. Ghorbanzadeh, R., Pourakbari, B. & Bahador, A. Effects of Baseplates of Orthodontic Appliances with in situ generated Silver Nanoparticles on Cariogenic Bacteria: A Randomized, Double-blind Cross-over Clinical Trial. *J. Contemp. Dent. Pract.* **16**, 291–298 (2015).
 129. Guo, C. *et al.* Poly-l-lysine/Sodium Alginate Coating Loading Nanosilver for Improving the Antibacterial Effect and Inducing Mineralization of Dental Implants. *ACS Omega* **5**, 10562 (2020).
 130. Rashad, S., El-Chaghaby, G. A. & Elchaghaby, M. A. Antibacterial activity of silver nanoparticles biosynthesized using *Spirulina platensis* microalgae extract against oral pathogens. **23**, 261–266 (2019).
 131. Jasso-Ruiz, I. *et al.* Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles on Orthodontic Brackets: A New Alternative in the Prevention of White Spots. *Coatings 2019, Vol. 9, Page 480* **9**, 480 (2019).
 132. Zannella, C. *et al.* Antibacterial Activity of Indolicidin-Coated Silver

- Nanoparticles in Oral Disease. *Appl. Sci.* 2020, Vol. 10, Page 1837 **10**, 1837 (2020).
133. Li, W. R. *et al.* Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**, 1115–1122 (2010).
 134. Krishnaveni, T. & Ramasubbu, A. Synthesis and characterization of biomimetic hydroxy apatite-silver impregnated soy protein isolate nanocomposites for dental implantations. *Asian J. Chem.* **29**, 2634–2638 (2017).
 135. Schwass, D. R., Lyons, K. M., Love, R., Tompkins, G. R. & Meledandri, C. J. Antimicrobial Activity of a Colloidal AgNP Suspension Demonstrated In Vitro against Monoculture Biofilms: Toward a Novel Tooth Disinfectant for Treating Dental Caries. *Adv. Dent. Res.* **29**, 117–123 (2018).
 136. Besinis, A., De Peralta, T. & Handy, R. D. The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant chlorhexidine on *Streptococcus mutans* using a suite of bioassays. *Nanotoxicology* **8**, 1–16 (2014).
 137. Espinosa-Cristóbal, L. F. *et al.* Antimicrobial and Substantivity Properties of Silver Nanoparticles against Oral Microbiomes Clinically Isolated from Young and Young-Adult Patients. *J. Nanomater.* **2019**, (2019).
 138. Cabal, B. *et al.* Inhibitory effect on in vitro *Streptococcus oralis* biofilm of a soda-lime glass containing silver nanoparticles coating on titanium alloy. *PLoS One* **7**, (2012).
 139. Chand, K. *et al.* Green synthesis characterization and antimicrobial activity against: *Staphylococcus aureus* of silver nanoparticles using extracts of neem, onion and tomato. *RSC Adv.* **9**, 17002–17015 (2019).
 140. Recognized Dental Specialties | National Commission on Recognition of Dental

Specialties and Certifying Boards. <https://ncrdscb.ada.org/recognized-dental-specialties>.

141. Torres-Méndez, F. *et al.* Effects of silver nanoparticles on the bonding of three adhesive systems to fluorotic enamel. *Dent. Mater. J.* **36**, 266–274 (2017).
142. Mohammed, H. F. & Riad, M. I. The effect of silver nanoparticles incorporation in the self-etch adhesive system on its antibacterial activity and degree of conversion: an *in-vitro* study. *F1000Research* 2019 8244 **8**, 244 (2019).
143. Keskar, M., Sabatini, C., Cheng, C. & Swihart, M. T. Synthesis and characterization of silver nanoparticle-loaded amorphous calcium phosphate microspheres for dental applications. *Nanoscale Adv.* **1**, 627–635 (2019).
144. Koohpeima, F., Mokhtari, M. J. & Khalafi, S. The effect of silver nanoparticles on composite shear bond strength to dentin with different adhesion protocols. *J. Appl. Oral Sci.* **25**, 367 (2017).
145. Tirupathi, S., Nirmala, S. V. S. G., Rajasekhar, S. & Nuvvula, S. Comparative cariostatic efficacy of a novel Nano-silver fluoride varnish with 38% silver diamine fluoride varnish a double-blind randomized clinical trial. *J. Clin. Exp. Dent.* **11**, e105–e112 (2019).
146. Dos Santos, V. E. *et al.* A new ‘silver-bullet’ to treat caries in children--nano silver fluoride: a randomised clinical trial. *J. Dent.* **42**, 945–951 (2014).
147. Hernández-Gómora, A. E. *et al.* Biosynthesis of Silver Nanoparticles on Orthodontic Elastomeric Modules: Evaluation of Mechanical and Antibacterial Properties. *Molecules* **22**, (2017).
148. Metin-Gürsoy, G., Taner, L. & Akca, G. Nanosilver coated orthodontic brackets: in vivo antibacterial properties and ion release. *Eur. J. Orthod.* **39**, 9–16 (2017).
149. Wang, Y., Zhang, Y. & Miron, R. J. Health, Maintenance, and Recovery of Soft

- Tissues around Implants. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* **18**, 618–634 (2016).
150. Kim, K. J. *et al.* Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *Biometals* **22**, 235–242 (2009).
 151. Fan, W., Wu, D., Ma, T. & Fan, B. Ag-loaded mesoporous bioactive glasses against *Enterococcus faecalis* biofilm in root canal of human teeth. *Dent. Mater. J.* **34**, 54–60 (2015).
 152. González-Luna, P. I. *et al.* Bactericide Effect of Silver Nanoparticles as a Final Irrigation Agent in Endodontics on *Enterococcus faecalis*: An Ex Vivo Study. *J. Nanomater.* **2016**, (2016).
 153. Jonaidi-Jafari, N., Izadi, M. & Javidi, P. The effects of silver nanoparticles on antimicrobial activity of ProRoot mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). *J. Clin. Exp. Dent.* **8**, e22–e26 (2016).
 154. Inkielewicz-Stepniak, I., Santos-Martinez, M. J., Medina, C. & Radomski, M. W. Pharmacological and toxicological effects of co-exposure of human gingival fibroblasts to silver nanoparticles and sodium fluoride. *Int. J. Nanomedicine* **9**, 1677 (2014).
 155. Niska, K. *et al.* Capping Agent-Dependent Toxicity and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles: An In Vitro Study. Concerns about Potential Application in Dental Practice. *Int. J. Med. Sci.* **13**, 772 (2016).
 156. Sasabe, E., Tomomura, A., Kitamura, N. & Yamamoto, T. Metal nanoparticles-induced activation of NLRP3 inflammasome in human oral keratinocytes is a possible mechanism of oral lichenoid lesions. *Toxicol. In Vitro* **62**, (2020).
 157. Besinis, A., Hadi, S. D., Le, H. R., Tredwin, C. & Handy, R. D. Antibacterial activity and biofilm inhibition by surface modified titanium alloy medical implants following application of silver, titanium dioxide and hydroxyapatite nanocoatings.

- Nanotoxicology* **11**, 327–338 (2017).
158. Fu, C. *et al.* Antimicrobial silver-hydroxyapatite composite coatings through two-stage electrochemical synthesis. *Surf. Coatings Technol.* **301**, 13–19 (2016).
 159. Matsubara, V. H. *et al.* Use of Silver Nanoparticles Reduces Internal Contamination of External Hexagon Implants by *Candida albicans*. *Braz. Dent. J.* **26**, 458–462 (2015).
 160. Lazuardi, M. B., Widiyanti, P. & Supardi, A. PHYSICAL EVALUATION OF PCL-AGNPS BIOCOMPOSITES AS GUIDED TISSUE REGENERATION MEMBRANE. *J. Teknol.* **82**, 155–161 (2020).
 161. Marques, L. *et al.* Performance on Bone Regeneration of a Silver Nanoparticle Delivery System Based on Natural Rubber Membrane NRL-AgNP. *Coatings* **2020**, Vol. 10, Page 323 **10**, 323 (2020).
 162. Sugano, N. Biological plaque control: novel therapeutic approach to periodontal disease. *J. Oral Sci.* **54**, 1–5 (2012).
 163. Allmyr, M., Panagiotidis, G., Sparve, E., Diczfalusy, U. & Sandborgh-Englund, G. Human exposure to triclosan via toothpaste does not change CYP3A4 activity or plasma concentrations of thyroid hormones. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **105**, 339–344 (2009).
 164. Axelsson, P. Concept and practice of plaque-control. (1981).
 165. Moran, J. M. Home-use oral hygiene products: mouthrinses. *Periodontol.* **2000** **48**, 42–53 (2008).
 166. Teles, R. P. & Fonseca Teles, F. R. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz. Oral Res.* **23 Suppl 1**, 39–48 (2009).
 167. Davies, A. The mode of action of chlorhexidine. *J. Periodontal Res. Suppl.* **12**, 68–

- 75 (1973).
168. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22976567/>.
 169. Colombo, A. P. *et al.* Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects. *J. Clin. Periodontol.* **25**, 169–180 (1998).
 170. Eick, S., Selmann, T. & Pfister, W. Efficacy of antibiotics to strains of periodontopathogenic bacteria within a single species biofilm - an in vitro study. *J. Clin. Periodontol.* **31**, 376–383 (2004).
 171. Loe, H. & Rindom Schiøtt, C. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J. Periodontal Res.* **5**, 79–83 (1970).
 172. Gjermo, P., Rølla, G. & Årskaug, L. Effect on dental plaque formation and some in vitro properties of 12 bis-biguanides. *J. Periodontal Res. Suppl.* **12**, 81–88 (1973).
 173. Use of chlorhexidine varnishes in preventing and treating periodontal disease. A review of the literature - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18379452/>.
 174. Chlorhexidine and taste. Influence of mouthwashes concentration and of rinsing time - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11068420/>.
 175. Eriksen, H. M., Nordbø, H., Kantanen, H. & Elungsen, J. E. Chemical plaque control and extrinsic tooth discoloration. A review of possible mechanisms. *J. Clin. Periodontol.* **12**, 345–350 (1985).
 176. Bonacorsi, C., Raddi, M. S. G. & Carlos, I. Z. Cytotoxicity of chlorhexidine digluconate to murine macrophages and its effect on hydrogen peroxide and nitric oxide induction. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* **37**, 207–212 (2004).

177. Murray, P. R., Rosenthal, K. S. ve Pfaller, M. A. (2016). Tıbbi Mikrobiyoloji (7. Baskı., C. 1-1). Ankara: Pelikan Kitabevi. - Google'da Ara. [https://www.google.com/search?q=Murray%2C+P.+R.%2C+Rosenthal%2C+K.+S.+ve+Pfaller%2C+M.+A.+\(2016\).+Tıbbi+Mikrobiyoloji+\(7.+Baskı.%2C+C.+1-1\).+Ankara%3A+Pelikan+Kitabevi.&oq=Murray%2C+P.+R.%2C+Rosenthal%2C+K.+S.+ve+Pfaller%2C+M.+A.+\(2016\).+Tıbbi+Mikrobiyolo](https://www.google.com/search?q=Murray%2C+P.+R.%2C+Rosenthal%2C+K.+S.+ve+Pfaller%2C+M.+A.+(2016).+Tıbbi+Mikrobiyoloji+(7.+Baskı.%2C+C.+1-1).+Ankara%3A+Pelikan+Kitabevi.&oq=Murray%2C+P.+R.%2C+Rosenthal%2C+K.+S.+ve+Pfaller%2C+M.+A.+(2016).+Tıbbi+Mikrobiyolo).
178. Jackson, M. S., Bagg, J., Gupta, M. N. & Sturrock, R. D. Oral carriage of staphylococci in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* **38**, 572–575 (1999).
179. Ohara-Nemoto, Y., Haraga, H., Kimura, S. & Nemoto, T. K. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal-oral trafficking of the bacteria. *J. Med. Microbiol.* **57**, 95–99 (2008).
180. MacFarlane, T. W. & Helnarska, S. J. The microbiology of angular cheilitis. *Br. Dent. J.* **140**, 403–406 (1976).
181. Goldberg, M. H. & Bevilacqua, R. G. INFECTIONS OF SALIVARY GLANDS. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* **7**, 423–430 (1995).
182. Bagg, J., Sweeney, M. P., Wood, K. H. & Wiggins, A. Possible Role of *Staphylococcus aureus* in Severe Oral Mucositis among Elderly Dehydrated Patients. <http://dx.doi.org/10.3109/08910609509141382> **8**, 51–56 (2009).
183. Kronström, M., Svenson, B., Hellman, M. & Persson, G. R. Early implant failures in patients treated with Brånemark System titanium dental implants: a retrospective study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **16**, 201–7.
184. Rokadiya, S. & Malden, N. J. An implant periapical lesion leading to acute osteomyelitis with isolation of *Staphylococcus aureus*. *Br. Dent. J.* **205**, 489–491 (2008).

185. Quinn, P. J. P.J. Quinn, M.E. Carter, B.K. Markey and G.R. Carter, Editors, Clinical Veterinary Microbiology, Wolfe Publishing, London (1994) ISBN 0-7234-1711-3. *Br. Vet. J.* 106–113 (1995).
186. Karli, Ş. *et al.* TOPLUM VE HASTANE KAYNAKLI İNFEKSİYONLARDAN İZOLE EDİLEN GSBL POZİTİF ESCHERICHIA COLI SUŞLARINDA TİGESİKLİN DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI* Investigation of Tigecycline Susceptibility of Extended Spectrum Beta-lactamase Positive Escherichia coli Strains Isolated from Community and Nosocomial Infections. **24**, (2010).
187. Ruff, M. L., McClanahan, S. B. & Babel, B. S. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J. Endod.* **32**, 331–333 (2006).
188. Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M. & Mendes Giannini, M. J. S. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J. Med. Microbiol.* **62**, 10–24 (2013).
189. Patel, M. Oral Cavity and Candida albicans: Colonisation to the Development of Infection. *Pathogens* **11**, (2022).
190. Talapko, J. *et al.* Candida albicans- The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J. fungi (Basel, Switzerland)* **7**, 1–19 (2021).
191. Bacillus Cereus - StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459121/>.
192. Baratti-Mayer, D. *et al.* Noma: an “infectious” disease of unknown aetiology. *Lancet Infect. Dis.* **3**, 419–431 (2003).
193. Mickymaray, S. One-step Synthesis of Silver Nanoparticles Using Saudi Arabian Desert Seasonal Plant Sisymbrium irio and Antibacterial Activity Against

Multidrug-Resistant Bacterial Strains. *Biomol.* 2019, Vol. 9, Page 662 **9**, 662 (2019).

194. Singh, K., Panghal, M., Kadyan, S., Chaudhary, U. & Prakash Yadav, J. Antibacterial Activity of Synthesized Silver Nanoparticles from *Tinospora cordifolia* against Multi Drug Resistant Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Patients. (2014) doi:10.4172/2157-7439.1000192.
195. Cicek, S., Gungor, A. A., Adiguzel, A. & Nadaroglu, H. Biochemical evaluation and green synthesis of nano silver using peroxidase from *Euphorbia* (*Euphorbia amygdaloides*) and its antibacterial activity. *J. Chem.* **2015**, (2015).
196. Nadaroğlu, H., Alaylı Güngör, A. & İnce, S. Synthesis of Nanoparticles by Green Synthesis Method. *Int. J. Innov. Res. Rev.* **1**, 6–9 (2017).
197. (PDF) Başlangıç periodontal tedavide sistemik antibiyotiklerin kullanımı. https://www.researchgate.net/publication/317007231_Baslangic_periodontal_tedavide_sistemik_antibiyotiklerin_kullanimi.
198. Balappanavar, A., Sardana, V. & Singh, M. Comparison of the effectiveness of 0.5% tea, 2% neem and 0.2% chlorhexidine mouthwashes on oral health: a randomized control trial. *Indian J. Dent. Res.* **24**, 26–34 (2013).
199. Panpaliya, N. P. *et al.* In vitro evaluation of antimicrobial property of silver nanoparticles and chlorhexidine against five different oral pathogenic bacteria. *Saudi Dent. J.* **31**, 76–83 (2019).
200. Nia, A., Ataei, M. & Zeighami, H. A comparative study on the antimicrobial activity of irreversible hydrocolloid mixed with silver nanoparticles and chlorhexidine. *Dent. Res. J. (Isfahan)*. **17**, 120 (2020).
201. Chandra, A., Yadav, R. K., Shakya, V. K., Luqman, S. & Yadav, S. Antimicrobial efficacy of silver nanoparticles with and without different antimicrobial agents

- against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Dent. Hypotheses* **8**, 94 (2017).
202. Marino, M., Bersani, C. & Comi, G. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *J. Food Prot.* **62**, 1017–1023 (1999).
 203. Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A. & Jordán, M. J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control* **19**, 681–687 (2008).
 204. Yavuz, D. Ö., Özalp, Y., Tuncay, B., Altanlar, N. & Şimşek, D. Antimicrobial Effect of Essential Oil of *Thymus capitatus* from Northern Cyprus and Its Gargle Preformulation. *J. Pharm. Res. Int.* **32**, 60–66 (2020).
 205. Palmeira-De-Oliveira, A. *et al.* The anti-*Candida* activity of *Thymus capitatus* essential oil: Effect upon pre-formed biofilm. *J. Ethnopharmacol.* **140**, 379–383 (2012).
 206. Al-Timimi, E. A. & Al-Casey, M. Effect of *thymus vulgaris* extract on streptococci and mutans streptococci, in comparison to chlorhexidine gluconate (in vivo study). *J Bagh Coll. Dent.* **24**, 2012.
 207. Papageorghe, R. ROMANIAN ARCHIVES MICROBIOLOGY Founded by OF VOLUME 71 - Issue 2 MICROBIOLOGY. *Rom. Arch. Microbiol. Immunol.* **71**, 58–104 (2012).
 208. Fatiha, L., Dwyana, Z. & Johannes, E. Silver Nanoparticles Synthesis from Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peel Extract and Its Potential as Antiseptic Mouthwash . *Proc. 2nd Int. Conf. Educ. Technol. (ICETECH 2021)* **630**, 380–386 (2022).
 209. ALHarthi, S. S. *et al.* Myrrh mixed with silver nanoparticles demonstrates superior

- antimicrobial activity against *Porphyromonas gingivalis* compared to myrrh and silver nanoparticles alone. *Saudi Dent. J.* **33**, 890–896 (2021).
210. Nadaroglu, H., Ince, S. & Gungor, A. A. Green synthesis of gold nanoparticles using quail egg yolk and investigation of potential application areas. *Green Process. Synth.* **6**, 43–48 (2017).
 211. Garibo, D. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity. *Sci. Reports 2020 101* **10**, 1–11 (2020).
 212. Halkai, K. R., Mudda, J. A., Shivanna, V., Rathod, V. & Halkai, R. Biosynthesised silver nanoparticles from fungi as antimicrobial agents for endo-perio lesions – A review. *Annu. Res. Rev. Biol.* **10**, 1–7 (2016).
 213. Das, B. *et al.* Green synthesized silver nanoparticles destroy multidrug resistant bacteria via reactive oxygen species mediated membrane damage. *Arab. J. Chem.* **10**, 862–876 (2017).
 214. Deng, J., Ren, L., Pan, Y., Gao, H. & Meng, X. Antifungal property of acrylic denture soft liner containing silver nanoparticles synthesized in situ. *J. Dent.* **106**, (2021).
 215. Charannya, S. *et al.* Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles and 2% Chlorhexidine Gluconate When Used Alone and in Combination Assessed Using Agar Diffusion Method: An In vitro Study. *Contemp. Clin. Dent.* **9**, S204–S209 (2018).
 216. Luckie, R. A. M., Casatañares, R. L., Schougall, R., Reyes, S. C. G. & Mendieta, V. S. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Versus Chlorhexidine Against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*. *Silver Nanoparticles - Fabr. Charact. Appl.* (2018) doi:10.5772/intechopen.76183.

217. Majeed, S. & Khanday, M. Green synthesis of silver nanoparticles using bark extract of *Salix Alba* and its antimicrobial effect against bacteria isolated from dental plaque. *Orient. J. Chem.* **32**, 1611–1618 (2016).
218. Malabadi, R. B., Mulgund, G. S., Meti, N. T., Nataraja, K. & Vijaya Kumar, S. Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by using whole plant extracts of *Clitoria ternatea*. *Res. Pharm.* **2**, 10–21 (2012).
219. Sondi, I. & Salopek-Sondi, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* **275**, 177–182 (2004).
220. Jagtap, U. B. & Bapat, V. A. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Lam. seed extract and its antibacterial activity. *Ind. Crops Prod.* **46**, 132–137 (2013).
221. Salaheldin, T. A., El-Chaghaby, G. A. & El-Sherbiny, M. A. Green synthesis of silver nanoparticles using *Portulacaria afra* plant extract: characterization and evaluation of its antibacterial, anticancer activities. *Nov. Res. Microbiol. J.* **3**, 215–222 (2019).
222. Haripriya, S. & Ajitha, P. Antimicrobial efficacy of silver nanoparticles of *Aloe vera*. *J. Adv. Pharm. Educ. Res.* **7**, 163–166 (2017).
223. More, P. R. *et al.* Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms* **11**, (2023).
224. Emmanuel, R. *et al.* Antimicrobial efficacy of green synthesized drug blended silver nanoparticles against dental caries and periodontal disease causing microorganisms. *Mater. Sci. Eng. C* **56**, 374–379 (2015).