

Düzce-Yığılca Bölgesine Ait Farklı Propolis Örneklerinin Oral Mikroorganizmalar Üzerindeki in Vitro Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Meral KEKEÇOĞLU^{1,2*}, Emine SÖNMEZ², Pelin DORKAÇ³, Nazife EROĞLU⁴

¹Düzce Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 81620 Düzce-Türkiye, ²Düzce Üniversitesi Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi (DAGEM), 81620 Konuralp-Düzce, Türkiye, ³Amasya Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu, Hemşirelik Bölümü, Amasya-Türkiye, ⁴The Scientific and Research Council of Turkey, Marmara Research Center, Food Institute, Gebze, Kocaeli, Türkiye

^{1,2}<https://orcid.org/0000-0002-2564-8343>, ²<https://orcid.org/0000-0003-4418-5599>, ³<https://orcid.org/0000-0002-5503-6209>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-8618-2583>

✉: meralkekecoglu@duzce.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Düzce İli Yığılca İlçesinin 3 farklı lokasyonundan toplanan propolis örneklerinin, özellikle ağız içi enfeksiyonlarına neden olan bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal ve antifungal aktivitesini değerlendirmektir. Palinolojik analizler ile bitkisel orijini, LC-MS/MS yöntemi ile kimyasal içeriği, fenolik ve flavonoid kompozisyonu belirlenen propolis örneklerinin 2 adet Gram (-), anaerobik, 2 adet Gram (+) anerobik, 2 adet Gram (+) fakültatif anaerobik bakteri ve 3 adet maya üzerindeki aktivitesi test edilmiştir. Propolis numunelerinin bu mikroorganizmalar üzerindeki etkinlikleri disk difüzyon metodu ile belirlenmiş ve oluşturdukları zonlar ölçülmüştür. Etanol kontrolü ile karşılaştırıldığında test edilen propolis örnekleri tüm mikroorganizmalara karşı etkili bulunmuştur. Etki zonu oluşturan gruplar MIC deneyine dahil edilmiştir. Propolis örneklerinin MIC değerleri 2 µg/ml ile 128 µg/ml arasındadır. *Enterococcus faecalis* bakteriler içerisinde en duyarlı suş olarak bulunurken; *Candida krusei*, test edilen tüm propolis örneklerine karşı en dirençli suş olarak tespit edilmiştir. Üç farklı gruba ayrılan propolis numuneleri içinde 1. grubu temsil eden Hoşafıoğlu Köyü'ne ait propolis numunesi, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı etkili grup olarak belirlenirken; Redifler Köyü'ne ait propolis örneği ise daha az etkilidir. Sonuç olarak, Düzce/Yığılca yöresine ait propolis numuneleri, ağız içi florasına ait seçilen mikroorganizmalara karşı yüksek oranda antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Ağız içi enfeksiyonlarının tedavi edilmediğinde daha büyük sistemik problemlere yol açacağı düşünülürse bu tür enfeksiyonların tedavisinde standartlaştırılmış doğal propolis ekstraktlarının kullanılması önerilmektedir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 27.04.2021

Kabul Tarihi : 10.06.2021

Anahtar Kelimeler

Propolis

Ağız içi florası

Mikroorganizma

Antimikrobiyal etki

Determination of In Vitro Antimicrobial Activities of Different Propolis Samples from Düzce-Yığılca Region against Oral Microorganisms

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial and antifungal activity of propolis samples collected from 3 different locations in Düzce Province Yığılca District, especially against bacteria and yeasts that cause oral infections. The activity of propolis samples including chemical content, phenolic and flavonoid composition was determined by LCMS-MS method and herbal origin was determined with palynological analysis. They were tested against 2 Gram (-), anaerobic, 2 Gram (+) anerobic, 2 Gram (+) facultative anaerobic bacteria and 3 yeast. The efficiency of propolis samples against these microorganisms was determined by the disk diffusion method and the formed zones were measured. When compared with ethanol control, propolis samples were found effective against all microorganisms. Propolis samples which determined the inhibition zone were subjected to the MIC test. Propolis samples have MIC values between 2 µg/ml

Research Article

Article History

Received : 27.04.2021

Accepted : 10.06.2021

Keywords

Propolis

Oral flora

Microorganism

Antimicrobial activity

and 128 µg/ml. While *Enterococcus faecalis* was found as the most sensitive strain among bacteria; *Candida krusei* was identified as the most resistant strain. While the propolis sample from Hoşafıoğlu Village is determined as the most effective group against all tested microorganisms, the propolis sample from Redifler Village was less effective. As a result, propolis samples from Düzce / Yığılca region sustained high antibacterial and antifungal activity against selected microorganisms related to the oral flora. Considering that oral infections will lead to greater systemic problems if left untreated, natural propolis extracts is recommended in the treatment of such infections.

- Atıf İçin:** Kekecoglu M, Sönmez E, Dorkaç P, Eroğlu N 2022. Düzce-Yığılca Bölgesine Ait Farklı Propolis Örneğlerinin Oral Mikroorganizmalar Üzerindeki in Vitro Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (2): 234-242. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.928230>.
- To Cite:** Kekecoglu M, Sönmez E, Dorkaç P, Eroğlu N 2022. Determination of In Vitro Antimicrobial Activities of Different Propolis Samples from Düzce-Yığılca Region against Oral Microorganisms. KSU J. Agric Nat 25 (2): 234-242. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.928230>.

GİRİŞ

İnsan vücudunda bulunan ağız bölgesi bakteri, fungus ve virüsler gibi çeşitli mikrobiyal komunitileri içinde barındırabilen bir yapıda olup, dış ortamlarla direkt irtibat halindedir. Bu mikroflorada 700'den fazla bakteri türü dış, dil, ağız mukozası, damak ve periodontal cep gibi bölgelere kolonize olmaktadır (Turkmen ve ark., 2016). Florada bulunan bu bakterilerin çoğu hastalık yapmayan mukoza (saprofit) türündendir, ancak immün sistemin zayıfladığı durumlarda bu bakteriler hastalık etkeni olabilir. *Streptococcus mutans* bilinen en önemli karyojenik bakteridir. Hemen hemen her insanın ağız boşluğunda bulunmaktadır (Oh ve ark., 2003). Yapılan başka bir çalışmaya göre Streptokoklar ağız içinde yaşayan diğer mikroorganizmalara oranla daha fazla bakteriyosin üretmektedirler. Bu da onlara ağız içinde baskın bir cins olma özelliği kazandırmaktadır (Nes ve ark., 2007). *Porphyromonas gingivalis* ise ağız içi florasına ait diğer bir bakteri türü olup, fimbriaları sayesinde dış eti epitelyum hücrelerine kolaylıkla tutunup, hücre içerisine girebilme yeteneğine sahiptir. Genellikle Gram pozitif bir bakteri aracılığı ile dışlerin yüzeyine tutunurlar. Tutunmasına olanak sağlayan bu bakteri türü genellikle *Streptococcus salivarius* tür (Turkmen ve ark., 2016). *Fusobacterium nucleatum* Gram negatif bir bakteri olup, ağız içinde olgunlaşmış dış plağında bol miktarda bulunur. Bu bakterinin asıl zararı, zorunlu bir anaerob olan *Porphyromonas gingivalis* için oksijensiz ortamın oluşumunu sağlayarak bu bakterinin biyofilm içinde gelişmesini desteklemektir (Bradshaw ve ark., 1998). Ağızda *Candida* türlerinin candidosise neden olmak dışında oral kanser, burning mouth sendromu, tat bozuklukları ve endodontik hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı düşünölmektedir (Bağış ve ark., 2014). Bunun yanında bu funguslar *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi periodontal hastalıklara sebep olan spesifik türlerle

birlikte yaşayabilir. HIV enfekte kişiler gibi sistemik hastalık tablosu olan bireylerde linear gingival eritem gözlenebilir (Grbic ve ark., 1995; Sitheequ ve Samaranayake, 2003).

Tüm bu oral patojenlerin sebep olduğu ağız sağlığı problemlerine karşı günümüzde dış hekimlerinin önerileri doğrultusunda uygulanan pek çok tedavi yaklaşımı vardır. Bunlardan en çok tercih edileni % 2 klorheksidin ile gargara ve antibiyotik tedavisidir (Rostamifar ve ark., 2021). Ancak bu bakterilerin zorlu ortamlarda hayatta kalma kabiliyetleri, mevcut antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca antibiyotik kullanımı sırasında hastada böbrek yetmezliği ve karaciğer fonksiyonlarında sorunlar oluşmakta, bu sağlık sorunları da obezite, ishal gibi pek çok sağlık problemlerine neden olmaktadır (Demir ve Birdane, 2015). Bu nedenle insanların doğal ürönlere karşı ilgisi hızla artmaktadır. Yüksek antimikrobiyal aktivite ve düşük toksisite gibi olumlu özellikleri göz önünde tutulduğunda ağız içi patojenlerinin tedavisinde klasik tedavi yöntemine alternatif bir uygulama olan propolis içerikli ürünlerin kullanımı kaçınılmaz bir hal almıştır. Propolisin antioksidan, antibakteriyel, antiviral, anti inflamatuvar ve immüno modölatör gibi etkileri olduğu bilinmektedir (Kouidhi ve ark., 2010; Chirumbolo, 2011; Choudhari ve ark., 2012; Frozza ve ark., 2013; Ferrari ve ark., 2016). Bu arı ürününün ağız sağlığı üzerindeki etkisi pek çok bilim insanı tarafından araştırılmış ve gelişmiş ölkelerin çoğunda ağız sağlığı hususunda uygulama alanı bulmuştur. Standardize edilmiş propolis preparatlarının kullanımının, diğer birçok sentetik bileşikten daha güvenli ve daha az toksik olduğu da bilinmektedir (Sonmez ve ark., 2005). Propolis; ağız içinde bulunan zararlı bakteri, mantar ve virüs gibi farklı patojenleri öldürmekte, ayrıca ağız yaraları ve ülseri, protez, aftöz stomatit, dış eti çekilmesi, periodontitis, dış eti iltihabı, dış hassasiyeti ve dış ürmesi gibi farklı ağız ve dış hastalıklarına karşı

olumlu sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Bogdanov, 2012).

Propolisin kimyasal içeriği oldukça karmaşıktır ve bu içerik toplandığı floraya göre değişkenlik göstermektedir (Bankova ve ark., 2000). Bu nedenle, propolisin kaynağına göre antimikrobiyal aktivitede görülen varyasyonlar şaşırtıcı değildir (Hegazi ve ark., 2000; Hegazi ve El Hady 2001). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmanın amacı Düzce/Yığılca yöresinin farklı bitki florasına sahip üç farklı lokasyonundaki arıllıklardan elde edilen propolis numunelerinin seçilen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal ve antifungal etkinlik düzeyini belirlemektir.

MATERYAL ve METOD

Propolis örneklerinin temini ve etanol ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan propolis örnekleri Düzce İl'inin Yığılca İlçe'sine ait 3 farklı lokasyondan temin edildi. Birinci propolis grubu Hoşafıoğlu Köyü, ikinci propolis grubu Kırık Köyü, üçüncü propolis grubu ise Redifler Köyü'ndeki arılı kolonilerden Haziran-Temmuz aylarında toplandı. Toplama işlemi için propolis tuzaklı arılı kovanlar kullanıldı. Kovanlar standart ölçülerde ahşap Langstroth tipi olup, propolis üretimi için kovan kapağının altına propolis tuzağı yerleştirilmiştir.

Labaratuvara getirilen ham propolisler laboratuvar tipi blendırda (Waring, commercial blender) toz haline getirildi. Toz haline gelen propolislerden 50 gram olacak şekilde bir kaba alınıp üzerine 500 ml %96'lık etanol (Merck, ABD) eklendi. Karışım, ışık almayan bir ortamda manyetik karıştırıcı üzerinde 150 rpm'de 72 saat süreyle çalkalandı. Bekleme süresinin ardından karışım filtre kağıdından süzülerek balmumu uzaklaştırıldı. Geri kalan süzüntü evaporatörde (IKA RV10) 50-60 °C'de 5-10 dk bekletilerek etanolün uzaklaştırılması sağlandı. Kalan reçinemsiz kısım tartılarak miktar belirlendi ve propolis içeriği % 10 olacak şekilde (0.1 g/ ml) %70'lik etil alkolde çözülüp her bir propolis grubu için stok solüsyonlar hazırlandı (Eroğlu ve ark., 2021).

Propolis örneğinde polen analizi

Propolis örnekleri üzerinde yapılan mikroskopik polen analizlerinde Warakomska ve Maciejewicz (1992) ile Gençay ve Sorkun (2006) metodları takip edilmiştir. Numuneler, toz haline gelene kadar öğütüldükten sonra etanol/eter/aseton ile karıştırılarak (1:1:1) çalkalandı. Karışım 0.3 mm çapında delikleri olan bir süzgeç yardımı ile süzüldü. Elde edilen süspansiyon 20 dakika boyunca 3500-4000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjasyon sonrasında oluşan süpernatant, üzerinde gliserin jelatin bulunan lama damlatılarak, karışımın üzeri lamel ile kapatıldı. Her bir numune için daha sağlıklı polen sayımı yapabilmek amacıyla

aynı zamanda iki slâyt hazırlandı.

Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)

LC-MS/MS yöntemi Yang ve ark., (2013)'nin uyguladıkları basamaklarda birtakım değişiklikler yapılarak gerçekleştirildi. Kütle spektrometresi ölçümleri, elektrosprey iyonizasyonlu (ESI) hibrit, üçlü, dört kutuplu / doğrusal iyon tuzağı kütle spektrometresi API 4000 QTRAP (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) üzerinde gerçekleştirildi. LC ayırmaları, C18 analitik kolonunda (Gemini® 5 µm partikül boyutu, 110 Å gözenek boyutu, 50 mm x 2 mm, tamamen gözenekli organo-silika LC Kolonu) gerçekleştirildi. Her enjeksiyon için çalışma süresi 5.5 dakika, kolon sıcaklığı 40 °C ve enjeksiyon hacmi 10 µL olarak belirlendi. Kütle spektrometresi, 0.70 amu genişliğini içeren seçili iyon izleme (SIM) koşulu altında pozitif modda bir elektrosprey iyon kaynağı (ESI) ile çalışmakta ve nebulizör basıncı 55 psi, kurutma gazı akışı 1 mL/dk ve skimmer voltajı 20-80 V arasında olacak şekilde ayarlandı. Propolis numunelerinin düşük pH oranına (pH 3.4) sahip olması sebebiyle metodun pozitif iyon modunda çalıştırılması daha hassas sonuçlar elde edilmesini desteklemiştir.

Mikroorganizmalar

Çalışmada toplam 4 adet anaerobik: *Klebsiella pneumoniae* (yaban tip), *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953, *Streptococcus sobrinus* ATCC 27607 ve 2 adet fakültatif anaerobik *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus salivarius* ATCC 7073 bakterileri kullanıldı. Fungal grup ise *Saccaromyces cereviceae* ATCC 9763, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida albicans* ATCC 10231'dan oluşmaktadır. Çalışma öncesinde tüm suşlar laboratuvarında tutuldu ve -80 °C'de dondurularak saklandı. Deney başlangıcında tüm bakteriyal suşlar Müeller Hinton Agar (MHA) (Merck) besiyerine ekilerek 37 °C'de 2 günlük inkübasyonun ardından, saf kültürler Müeller Hinton Broth (MHB) (Merck) besiyerine transfer edilerek gece kültürleri yapıldı. Mayaların canlandırma işlemleri sırasında ise Sabouraud dextrose agar (SDA) besiyeri kullanıldı (Ozan ve ark., 2009).

Disk difüzyon testi ve minimal inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi

Her bakteri kültürü MHB besiyerine aşılandı ve 37 °C'de 16 saat inkübe edildikten sonra OD₆₂₅ = 0.08-0.1 (yaklaşık 1 x 10⁷ - 1 x 10⁸ CFU / mL) 'e ayarlandı. Mayaların aşılınması ise SDA besiyerine yapıldı. Konsantrasyonları belirlenen hücre süspansiyonları petri kaplarına yayma ekimleri yapılarak üzerine steril diskler (Whatman kağıdı, No:1) yerleştirildi ve kontrol grubu olarak çözücü kullanıldı. Her petri kabı

için Kanamycine pozitif kontrol olarak seçildi. İnhibisyon bölgeleri, toplam çaplar dikkate alınarak bir kumpas yardımıyla ölçüldü. Her deney üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. MIC deneyi için disklerin etrafındaki 6 mm ve üzerinde inhibisyon zonu oluşturan propolis örnekleri kullanıldı (Kartal ve ark., 2003). Propolis gruplarının bakteri suşlarına ve mayalara karşı MIC değerleri seri dilüsyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu yöntemle göre propolis örnekleri 12 ardışık tüpe aynı hacimde aktararak seyreltikten sonra 96 gözlü kaplara dağıtıldı ve her bir göze $OD_{625} = 0.08-0.1$ olan bakteri ve mayalardan inoküle edildi. Kaplar 24 saat 37 °C sıcaklıkta inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki mikrobiyal büyüme, spektrofotometre (Molecular Devices, SpectraMax M2) kullanılarak 600 nm'de ilgili absorbans (Abs) okunarak belirlendi.

İstatistik Analizler

Çalışmada ele alınan mikroorganizmaların MIC değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri Microsoft Office Excel 2013'te (Microsoft Corporation, Redmond, WA, ABD) hesaplandı. Propolis içerik analizine göre gruplar arası istatistiksel farklılığı belirlemek için SPSS-15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programında One-way ANOVA / Duncan testi uygulandı ($P < 0.05$).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Propolis örnekleri Düzce'nin Yığılca İlçe'sinde bulunan Kırık, Redifler ve Hoşafıoğlu köylerinde Haziran-Temmuz aylarında kovanlara yerleştirilen propolis traplarından hasat edilmiştir. Yapılan polen analizinde Hoşafıoğlu Köyü'ndeki arılıktan toplanan propolislerde Fagaceae familyası polenleri dominant, Gramineae ve Fabaceae minor olarak belirlenmiştir. Redifler Köyü'nden alınan örneklerinde Fabaceae familyası dominant Fagaceae minor olarak belirlenmiştir. Kırık Köyü'nden toplanan örneklerde dominant polene rastlanmazken Fagaceae minor miktarda görülmüştür. Apiaceae, Asteraceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Campanulaceae, Cucurbitaceae, Cornaceae, Ericaceae, Fabaceae, Fagaceae, Gentianaceae, Gramineae, Lamiaceae, Oleaceae, Pinaceae, Poaceae, Rosacea ve Tiliaceae familyalarından polenler genellikle eser miktarda görülmüştür (Çizelge 1).

Çalışmada kullanılan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının kimyasal bileşimleri Çizelge 2'de verilmiştir. Analiz sonucu incelendiğinde üç gruba ait propolis numunelerinin en fazla fenolik asit türevi olan Gallic acid ve Flavonoid türevi olan Pinostrobin içerdikleri görülmektedir. Kırık Köyü'ne ait propolis numunesi ise (\pm)-Catechin içeriği yönünden zenginlik göstermektedir. Ancak üç guba ait propolis örneklerinin tümünün Kaempferol ve Ellagic acid içermediği LC-MS/MS analizi sonuçları ile

doğrulanmaktadır.

Düzce/Yığılca yöresinin üç farklı lokasyonundan toplanan propolis örnekleri, çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde yapılan mikrobiyal etkinlik test sonuçlarına göre 6mm den büyük inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bu inhibisyon zonu oluşumu, propolisin mikroorganizmaların gelişmelerini farklı oranlarda engellediğini göstermektedir. Bu nedenle propolis örneklerinin etki dozlarını bulmak amacıyla tüm örnekler MIC deneyine dahil edilmiştir. Bu sonuçlara göre propolis örneklerinin tüm mikroorganizmalar üzerinde farklı miktarlarda etkili oldukları görülmektedir. Propolis numunelerinin MIC değerleri 2 ile 128 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişmektedir (Çizelge 3). Kontrol olarak kullanılan % 70'lik etanol mikroorganizmaların büyümesi üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir. Hoşafıoğlu propolis örnekleri için gözlemlenen MIC değerleri, diğer numuneler için gözlemlenenlerden önemli ölçüde daha düşüktür. Seçilen mikroorganizmalar üzerinde en etkili olan propolis örnekleri sırasıyla Hoşafıoğlu, Kırık ve Redifler köylerinden alınan örneklerdir. Çizelge 3 incelendiğinde propolis örneklerinin Gram pozitif bakterilere karşı Gram negatif bakterilere göre daha etkili olduğu görülmektedir. Bu durum fungal grupla karşılaştırıldığında da aynı sonuca ulaşılmaktadır. Propolisin çalışılan ağız içi mikroorganizmalar üzerinde en çok fakültatif anaerobik Gram (+) bir bakteri olan *E. faecalis* üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Bu bakteri türünü yine düşük dozlarda *Clostridium perfringens* ve *Streptococcus sobrinus* suşları takip etmektedir.

Propolisin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için yapılan önceki araştırma sonuçları incelendiğinde aktivite farklılığının bitkisel orijine, örneğin toplandığı coğrafyaya ve örneğin kimyasal içeriğine göre değiştiği bildirilmektedir (Bankova ve ark., 2000; Hegazi ve ark., 2000; Hegazi ve El Hady 2001). Bu nedenle çalışmada kullanılan propolislerin öncelikle polen analizi yapılarak bitkisel orijini belirlenmiştir. Daha sonra LC-MS/MS yöntemi kullanılarak kimyasal içerik analizi yapılmış ve aktif bileşenleri ortaya konmuştur. Yapılan polen analizine göre %95 kestane propolisi içeren Hoşafıoğlu Köyü'nden alınan propolis örneklerinin en yüksek antimikrobiyal aktivite düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir. Propolisin içeriğindeki flavonoid, kafeik asit, benzoik asit, sinnamik asit gibi maddelerin muhtemelen hücre zarına veya duvarına etki ettiği ve bunun sonucunda da fonksiyonel ve yapısal hasara neden olduğu düşünülmektedir (Dobrowolski ve ark., 1991; Mirzoeva ve ark., 1997). Bu lokasyona ait örneklerin Benzoic acid ve quercetin bileşenleri bakımından da en yüksek değerlere sahip olduğu göz önünde bulundurulduğunda, mikroorganizmalar üzerinde düşük dozlarda MIC değerlerinin elde edilmesi şaşırtıcı değildir. Aynı zamanda Aga ve ark., (1994) yaptıkları çalışmada

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan propolis örneklerinin dominant, sekonder ve eser polenlerin yüzdeleri ve polen spektrum tanımları
 Table 1. Percentage data and pollen spectrum definitions of dominant, secondary and trace pollens of propolis samples used in the study

	Hoşaföğlü Köyü (Hoşaföğlü Village)			Redifler Köyü (Redifler Village)			Kırık Köyü (Kırık Village)		
	Familyalar (Families)	Taksonlar (Taxa)	Toplam polen yüzdesi (%) (Percentage of total pollen %)	Familyalar (Families)	Taksonlar (Taxa)	Toplam polen yüzdesi (%) (Percentage of total pollen %)	Familyalar (Families)	Taksonlar (Taxa)	Toplam polen yüzdesi (%) (Percentage of total pollen %)
1	Fagaceae	<i>Castanea sativa</i>	80.5	Fagaceae	<i>Castanea sativa</i>	30.00	Fagaceae	<i>Castanea sativa</i>	44.50
2	Fabaceae	<i>Lathyrus laxiflorus subsp.</i>	9.20	Fabaceae	<i>Lathyrus laxiflorus subsp.</i>	50.50	Fabaceae	<i>Lathyrus laxiflorus subsp.</i>	35.50
3	Geraniaceae	<i>Geranium sp.</i>	6.80	Geraniaceae	<i>Geranium sp.</i>	6.80	Geraniaceae	<i>Geranium sp.</i>	6.80
4	Apiaceae	<i>Caucalis platycarpus L.</i>	0.80	Apiaceae	<i>Caucalis platycarpus L.</i>	0.80	Apiaceae	<i>Caucalis platycarpus L.</i>	0.80
5	Rosaceae	<i>Crataegus sp.</i>	0.50	Rosaceae	<i>Crataegus sp.</i>	0.50	Rosaceae	<i>Crataegus sp.</i>	0.50
6	Asteraceae	<i>Centaurea sp.</i>	0.50	Asteraceae	<i>Centaurea sp.</i>	0.50	Asteraceae	<i>Centaurea sp.</i>	0.50
7	Tiliaceae	<i>Tilia sp.</i>	0.50	Tiliaceae	<i>Tilia sp.</i>	0.50	Tiliaceae	<i>Tilia sp.</i>	0.50
8	Boraginaceae	<i>Echium vulgare</i>	0.40	Boraginaceae	<i>Echium vulgare</i>	0.40	Boraginaceae	<i>Echium vulgare</i>	0.40
9	Brassicaceae	<i>Rorippa sylvestris</i>	0.40	Brassicaceae	<i>Rorippa sylvestris</i>	0.40	Brassicaceae	<i>Rorippa sylvestris</i>	0.40
10	Campanulaceae	<i>Campanula sp.</i>	0.20	Campanulaceae	<i>Campanula sp.</i>	0.20	Campanulaceae	<i>Campanula sp.</i>	0.20
11	Lamiaceae	<i>Salvia sp.</i>	0.10	Lamiaceae	<i>Salvia sp.</i>	0.10	Lamiaceae	<i>Salvia sp.</i>	0.10
12	Pinaceae	<i>Pinus sylvestris var.</i>	0.10	Pinaceae	<i>Pinus sylvestris var.</i>	0.10	Pinaceae	<i>Pinus sylvestris var.</i>	0.10
13	Betulaceae	<i>Corylus L.</i>	0.10	Oleaceae	<i>Ligustrum vulgare L.</i>	0.10	Betulaceae	<i>Corylus L.</i>	0.10
14	Cucurbitaceae	<i>Cucurbita maxima Lam</i>	0.10	Cornaceae	<i>Cornus sanguinea L.</i>	0.10	Ericaceae	<i>Rhododendron ponticum</i>	0.10
15	Gentianaceae	<i>Centaureum erthraea sp</i>	0.10	Poaceae	<i>Holcus lanatus L.</i>	0.10	-		

Çizelge 2. Propolis örneklerindeki biyoaktif bileşiklerin LC-MS/MS analiz sonuçları (ppm)
Table 2. LC-MS/MS analysis results of bioactive compounds in propolis samples (ppm)

nd: Propolis numunelerinde tespit edilemeyen kimyasal içerik. ^{a,b,c}: Aynı hafle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($P < 0.05$).

İçerik (Compounds)	Hoşaföğlü (ppm)	Redifler (ppm)	Kırık (ppm)
Pinostrobin	1400±1.0 ^a	1560±4.5 ^a	3370±3.6 ^b
Kaempferol	nd	nd	nd
<i>p</i> -Coumaric acid	101 ± 4.5 ^a	116±0.5 ^a	nd
<i>m</i> -Coumaric acid	94.4 ± 2.5 ^a	76.4±5.3 ^b	nd
Ferulic acid	84.2 ± 2.0 ^a	103±0.3 ^a	nd
Chlorogenic acid	82.9 ± 3.9 ^a	85.9±4.8 ^a	61.4±0.4 ^b
Sinamic acid	132 ± 2.3 ^a	145±3.4 ^a	63.8±2.7 ^b
Caffeic acid	153 ± 3.4 ^a	156±4.4 ^a	56.1±0.6 ^b
Protocatehuic acid	nd	1290±1.8	nd
Daidzein	124 ± 1.4 ^a	123±1.2 ^a	56.3±0.3 ^b
Rosmarinic acid	355±2.1 ^a	345±0.4 ^a	608±0.7 ^b
Syringic acid	335±1.2 ^a	322±1.2 ^a	168±0.6 ^b
Quercetin dihydrate	43.5±2.2 ^a	70.8±0.7 ^b	45.2±0.5 ^a
<i>trans</i> -Chalcone	67.1±1.1 ^a	62.9±1.8 ^a	24.4±3.2 ^b
CAPE(Caffeic acid phenethyl ester)	71.8±1.5 ^a	65.1±2.0 ^b	50.1±0.2 ^c
Hesperidin	92.6±1.6 ^a	143±0.4 ^b	123±1.6 ^b
(±)-Catechin	283±2.3 ^a	324±1.3 ^a	400±2.0 ^c
Hydroxycinnamic acid	37±0.2 ^a	87.2±0.2 ^b	nd
Gallic acid	2830±0.3 ^a	3240±0.3 ^b	4000±2.5 ^b
(±)-Naringenin	1331.3 ^a	122±0.2 ^b	110± 2.3 ^b
<i>p</i> -Coumaric acid	38.9±0.3 ^a	77.2±0.1 ^b	nd
3-4 dimethoxycinnamic acid	134±1.4 ^a	132±2.1 ^a	70.2±0.1 ^b
Apigenin	117±1.7 ^a	115±1.5 ^a	52.8±0.2 ^b
Benzoic acid	132±1.2 ^a	116±1.4 ^a	33±0.3 ^b
<i>trans</i> -Cinnamic acid	64.4±3.3 ^a	62.1±1.0 ^a	34.5±1.0 ^b
Ellagic acid	nd	nd	nd
Emodin	93.9±2.8 ^a	99.8±0.8 ^a	36.1±0.2 ^b
Quercetin	45.4±1.3 ^a	32.5±1.3 ^a	nd

Çizelge 3. Propolis örneklerinin seçilen mikroorganizmalara karşı agar kuyucuk ve minimal inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri

Table 3. Agar well and minimal inhibition concentration (MIC) values of propolis samples against selected microorganisms

Mikroorganizmalar (Microorganisms)	Grup I (Group I)	Grup II (Group II)	Grup III (Group III)
	(Hoşaföğlü)	(Kırık)	(Redifler)
	MIC (µg/mL)		
<i>Klebsiella pneumonia</i>	32	64	32
<i>Clostridium perfringens</i>	2	2	8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	4	8	8
<i>Streptococcus salivarius</i>	4	4	16
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	2	4
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	32	64	32
<i>Candida albicans</i>	32	32	64
<i>Candida krusei</i>	64	128	128
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32	32	64
ORT±SD (MEAN±SD)	22.7±2.2 ^a	37.3±3.1 ^b	39.6±1.2 ^b

^{a,b}: Aynı hafle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P < 0.05$).

propolis içeriğinde *p*-Coumaric acid bulunması halinin yüksek antimikrobiyal aktivite ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Hoşaföğlü ve Redifler Köyüne ait numelerin bu içerik bakımından zengin olması bu iki lokasyonun düşük MIC değerlerine sahip olmasını açıklamaktadır. Kestane propolisi ile ilgili yapılan sınırlı sayıda çalışma olmasına rağmen Kolaylı ve ark., (2020) farklı orjinli 8 propolis örneğini, 16 farklı

mikroorganizma üzerinde test etmişler ve kestane propolisinin diğer propolis örneklerinden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu veriler bu çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir. Kırık Köyü'ne ait propolis numunesinin içerik analizinde diğer numunelere oranla daha yüksek miktarda pinostrobin (Flavonoid), (±)-Catechin (Flavanol), gallik asit (Fenolik asit) bulunmaktadır. Ancak grupların mikroorganizmalar üzerindeki MIC değerleri

incelendiğinde en düşük etki değerinin Hoşafoglu Köyü'ne ait grupta olduğu görülmektedir. Bu durumun sebebi propolisin mikroorganizmalar üzerindeki inhibe edici etkisinin birçok bileşiminin sinerjisine bağlı olması gerçeği ile açıklanmaktadır (Ghisalberti, 1979). Ayrıca incelenen literatür verilerine göre, aynı ülke/şehrin farklı lokasyonlarından toplanan propolis örneklerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri, antioksidan kapasiteleri ve bireysel fenolik içerikleri, dolayısıyla biyolojik aktiviteleri açısından büyük farklılıklar görülebilir (Dos Santos ve ark., 2017). Öte yandan, önceki çalışmalar antimikrobiyal aktiviteden sorumlu bileşiklerin esas olarak kafeik asit esterleri olduğunu bildirmiştir (Schneidewind ve ark., 1979). Analiz sonuçlarına göre en yüksek CAPE miktarının (71.8 ppm) Hoşafoglu Köyü'ne ait grupta olması, seçilen mikroorganizmalar üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivitenin elde edilmesi (22.7±21.2) ile ilişkili olduğunu açıklamaktadır. Bu mikroorganizmalar arasında *E. faecalis* önemli bir ağız içi patojeni olup diş çürmesinde ve biyofilm oluşumunda büyük rol oynamaktadır. Bu patojene karşı propolisin etkinlik düzeyininin araştırılmasına dair pek çok çalışma mevcuttur (Koo ve ark., 2000; Oncag ve ark., 2006; Kandaswamy ve ark., 2010; Kayaoglu ve ark., 2011). De Andrade Ferreira ve ark., (2007), *Prevotella nigrescens*, *F. nucleatum*, *Actinomyces israelii* ve *C. perfringens* ve *E. faecalis* gibi endodontik patojenlerden oluşan bir bakteri grubuna propolisin etanol ekstraksiyonunun pulpa-periapikal enfeksiyonlarda etkisini araştırmışlar ve propolisin MIC değerlerinin sırasıyla *C. perfringens*, *A. israelii* ve *F. nucleatum* için 781.2 µg/mL, *P. nigrescens* için 49 µg/mL, *E. faecalis* için ise 6425 µg/mL olduğunu rapor etmişlerdir. Hoşafoglu, Kırık ve Redifler Köy'lerine ait propolis gruplarının *E. faecalis* bakterisi için MIC değerleri sırasıyla 2, 2 ve 4 µg/mL; *F. nucleatum* için 32, 64 ve 32 µg/mL; *C. perfringens* için ise 2, 2 ve 8 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu veriler doğrultusunda Düzce/Yığılca yöresine ait propolis numunelerinin dirençli bir ağız içi patojeni olan *E. faecalis*, *F. nucleatum* ve *C. perfringens* üzerinde önemli ölçüde antimikrobiyal etkisinin olduğu ve diğer propolis örneklerine göre çok daha yüksek oranda aktivite gösterdiği sonucuna varılmaktadır. Bu yüksek aktivitenin propolis içeriğini oluşturan bileşiklerin kompozisyonuna göre propolisin antibakteriyel aktivitesinin değiştiğine yönelik olduğu düşünülmektedir (Feres ve ark., 2005). Bu durumda Düzce/Yığılca yöresine ait propolis numunelerinin kök kanallarında oldukça fazla enfeksiyon problemlerine yol açan *E. faecalis* ve *F. nucleatum*'a karşı alternatif bir intrakanal ilaç olarak kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır. Ozan ve ark. (2007) içlerinde *Streptococcus* spp. ve *Candida albicans* türlerinin olduğu, farklı ağız içi flora mikroorganizmalarına karşı % 10 'luk propolis içerikli ağız gargarasının diş eti hücreleri üzerine baskın bir antimikrobiyal

etkinliği olduğunu tespit etmişler ve bu arı ürününün diş eti fibroblastları üzerinde herhangi bir toksik etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir. Koo ve ark., (2002), dental plak oluşumunu destekleyen Streptokoklar üzerine propolisin %44.7 oranında çözülmeyen polisakkarit oluşumunu azalttığını bulmuşlardır. Yapılan bu araştırma incelendiğinde propolis gruplarının sırasıyla *S. sobrinus* için 4, 8 ve 8 µg/mL; *S. salivarius* için 4, 4 ve 16 µg/mL kadar düşük MIC değerleriyle oldukça etkili olduğu görülebilir. Bu da belirtilen bölgelere ait propolis örneklerinin ağız gargarası formunda üretilip diğer ağız gargaralarından daha etkili bir formda ticari ürün haline getirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. *Candida* türleri uzun süreli kök kanal enfeksiyonlarında bulunabilir, invaze ve virülans etkinliğe sahip olabilir (Ozan ve ark., 2009). Kartal ve ark., (2003) yaptıkları bir çalışmada iki farklı propolis örneğinin 11 farklı bakteri ve *Candida albicans* üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin olduğunu rapor etmişlerdir. Ozan ve ark., (2009) kök kanal irrigasyonu sırasında farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları propolisin *C. albicans* kolonizasyonu üzerinde % 10 ve % 20'lik propolis uygulamalarının antimikotik yönden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da 3 farklı maya türü kullanılmış ve Hoşafoglu Köyü'ne ait propolis numunesinin tüm maya türlerine en düşük MIC oranıyla yüksek antimikotik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır (Çizelge 3). En düşük etki değeri ise Redifler Köyü'ne ait propolis numunesinden elde edilmiştir.

Propolisin ağız içi enfeksiyonlarına karşı etkinliği ile ilgili pek çok araştırma yapılmış olsa da kötü ağız hijyeni ve ağız enfeksiyonlarının ciddi problemlere neden olabileceği ve bunun sonucunda da ciddi sistemik rahatsızlıklara sebebiyet vereceği bilinmektedir. Bu nedenle propolisin kullanımı ağız hijyeni ve periodontal hastalıkların elimine edilmesi açısından oldukça büyük önem teşkil etmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Düzce İl'i Yığılca İlçe'sinin üç farklı lokasyonundan, Haziran-Temmuz aylarında toplanan propolis örneklerinin öncelikle polen analizi ile bitkisel orijinleri, daha sonra LC-MS/MS yöntemi ile kimyasal kompozisyonu ortaya konmuştur. Polen analizlerine göre Hoşafoglu Köyü'nden alınan propolis örneklerinin kestane poleni bakımından dominant olduğu belirlenmiştir. İçerik analizleri bakımından propolis örneklerinin kimyasal kompozisyonları birbirleriyle karşılaştırıldığında önemli düzeyde farklı oldukları belirlenmiştir. Bu üç farklı propolisin ağız içi patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelendiğinde Hoşafoglu Köyü'nden toplanan kestane orijinli propolis ekstraksiyonlarının diğer iki propolis örneğine göre daha düşük MIC konsantrasyonu ile

ağız içi mikroorganizmalarının eliminasyonunda daha etkili olduğu ortaya konmuştur. Önceki çalışmalar ile karşılaştırıldığında Düzce/Yığılca yöresine ait propolis numunelerinin seçilen ağız içi mikroorganizmalara karşı yüksek oranda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, ancak yüksek oranda kestane poleni içeren propolis örneğinin diğer iki propolis örneğine göre istatistiki olarak önemli düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle ağız içi enfeksiyonların tedavisinde standartlaştırılmış kestane propolisi ekstraktlarının kullanılması önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, TÜBİTAK-2209 ve Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu (DÜBAP Proje No: 2019.05.01.909) tarafından hibe ile desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Aga H, Shibuya T, Sugimoto T, Kurimoto M, Nakajima SH 1994. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 58(5): 945-946.

Bağış N, Kurgan Ş, Önder C 2014. Ağız içi candida enfeksiyonları ve tedavisi. *A.Ü. Diş Hek. Fak. Dergisi*, 41(3): 191-198.

Bankova VS, De Castro SL, Marcucci MC 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31: 3-15.

Bogdanov S 2012. Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review. *Bee Product Science*.

Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C 1998. Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infection and immunity*, 66(10): 4729-4732.

Chirumbolo S 2011. Propolis as anti-inflammatory and anti-allergic compounds: Which role for flavonoids? *International Immunopharmacology*, 11(9): 1386-1387.

Choudhari MK, Punekar SA, Ranade RV, Paknikar KM 2012. Antimicrobial activity of stingless bee (*Trigona* sp.) propolis used in the folk medicine of Western Maharashtra, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1): 363-367.

De Andrade Ferreira FB, Torres SA, da Silva Rosa OP,

Ferreira CM, Garcia RB, Marcucci MC, Gomes BP 2007. Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 104(5): 709-716.

Demir H, Birdane YO 2015. Hepatotoksik Antibiyotikler. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 8(1): 65-73.

Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC 1991. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of ethnopharmacology*, 35(1): 77-82.

Dos Santos L, Hochheim S, Boeder, AM, Kroger A, Tomazzoli MM, Dal Pai Neto R, de Cordova CM 2017. Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of propolis extracts and isolated compounds from the Brazilian stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. *Journal of Apicultural Research*, 56(5): 543-558.

Eroğlu N, Kambur Acar M, Kekeçoğlu M 2021. The Investigation Propolis Foraging Preference of Different Honey Bee Races. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science*, 31(1):133-141.

Feres M, Figueiredo LC, Barreto IM, Coelho MH, Araujo MW, Cortelli SC 2005. In vitro antimicrobial activity of plant extracts and propolis in saliva samples of healthy and periodontallyinvolved subjects. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 7(3): 90-96.

Ferrari CKB, Percario S, Silva JCCB, Torres EAFD 2016. An apple plus a brazil nut a day keeps the doctors away: Antioxidant capacity of foods and their health benefits. *Current Pharmaceutical Design*, 22(2): 189-195.

Frozza COD, Garcia CSC, Gambato G, de Souza MDO, Salvador M, Moura S, Roesch-Ely M 2013. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 52: 137-142.

Gençay Ö, Sorkun K 2006. Microscopic analysis of propolis samples collected from East Anatolia (Kemaliye-Erzincan). *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(4): 192-197.

Ghisalberti E 1979. Propolis: A review. *Bee World*, 60(2): 59-84.

Grbic JT, Mitchell-Lewis DA, Fine JB, Phelan JA, BucklanRS, Zambon JJ, Lamster IB 1995. The relationship of candidiasis to linear gingival erythema in HIV-infected homosexual men and parenteral drug users. *Journal of periodontology*, 66(1): 30-37.

Hegazi AG, Abd El Hady FK, Abd Allah FA 2000. Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(1-2): 70-75.

Hegazi AG, El Hady FK 2001. Egyptian propolis: 1-

- antimicrobial activity and chemical composition of Upper Egypt propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 56(1-2): 82-88.
- Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Gogulnath D, Kindo AJ 2010. Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine gel, propolis, morinda citrifolia juice, 2% povidone iodine, and calcium hydroxide. *International endodontic journal*, 43(5): 419-423.
- Kartal M, Yıldız S, Kaya S, Kurucu S, Topçu G 2003. Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *Journal of ethnopharmacology*, 86(1): 69-73.
- Kayaoglu G, Ömürlü H, Akca G, Gürel M, Gençay Ö, Sorkun K, Salih B 2011. Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. *Journal of endodontics*, 37(3): 376-381.
- Kolayli S, Palabiyik I, Atik DS, Keskin M, Bozdeveci A, Karaoglu SA 2020. Comparison of Antibacterial and Antifungal Effects of Different Varieties of Honey and Propolis Samples. *Acta Alimentaria*, 49(4): 515-523.
- Koo H, Gomes BP, Rosalen PL, Ambrosano GM, Park YK, Cury JA 2000. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. *Archives of oral biology*, 45(2): 141-148.
- Koo H, Cury JA, Rosalen PL, Ambrosano GM, Ikegaki M, Park YK 2002. Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Research*, 36(6): 445-448.
- Kouidhi B, Zmantar T, Bakhrouf A 2010. Anticariogenic and anti-biofilms activity of Tunisian propolis extract and its potential protective effect against cancer cells proliferation. *Anaerobe*, 16(6): 566-571.
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological research*, 152(3): 239-246.
- Nes IF, Diep DB, Holo H 2007. Bacteriocin diversity in *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of bacteriology*, 189(4): 1189-1198.
- Oh S, Lee J, Kim G, Shim G, Back J 2003. Anticariogenic activity of a bacetracin produced by lactococcus bacteria. *Food Science and Biotechnology*, 12: 9-12.
- Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K 2006. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. *General dentistry*, 54(5): 319-322.
- Ozan F, Sümer Z, Polat ZA, Er K, Ozan U, Deger O 2007. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. *European Journal of Dentistry*, 1(4): 195-201.
- Ozan U, Hubbezoğlu I, Sumer Z 2009. Sodyum hipoklorit, klorheksidin ve propolis içerikli solüsyonların potasyum titanyum fosfat lazer ile birlikte kullanımlarının candida albicans üzerine etkinliklerinin incelenmesi. *Cumhuriyet Dental Journal*, 12(1): 33-38.
- Rostamifar S, Azad A, Bazrafkan A, Modaresi F, Atashpour S, Jahromi ZK 2021. New Strategy of Reducing Biofilm Forming Bacteria in Oral Cavity by Bismuth Nanoparticles. *BioMed Research International*, 2021: 1-8.
- Schneidewind EM, Büge A, Kala H, Metzner J, Zschunke A 1979. Identification of an antimicrobially active constituent isolated from propolis. *Pharmazie*, 34: 103-106.
- Sitheequ MAM, Samaranayake LP 2003. Chronic hyperplastic candidosis/candidiasis (candidal leukoplakia). *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 14(4): 253-267.
- Sonmez S, Kirilmaz L, Yucesoy M, Yücel B, Yilmaz B 2005. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *Journal of ethnopharmacology*, 102(3): 371-376.
- SPSS 2005. IBM SPSS Statistics 15.0 for Windows. Armonk, NY.
- Turkmen B, Ayhan K, Altuntaş EG 2016. Dental Plak Oluşumundan Sorumlu Mikroorganizmalar ve Bunların Tüketilen Gıdalarla İlişkisi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5: 51-61.
- Warakomska Z, Maciejewicz W 1992. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. *Apidologie*, 23(4): 277-283.
- Yang L, Yan QH, Ma JY, Wang Q, Zhang JW, Xi GX 2013. High performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in propolis. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5): 771-776.