



T.C  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN AĞIZ SAĞLIĞINA  
OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÖZGE GÜNGÖR  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Zuhal (MANGA) KIRZIOĞLU**

**İKİNCİ DANIŞMAN  
Prof. Dr. Merih (MANGA) KIVANÇ**

**2011-İSPARTA**

T.C  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN AĞIZ SAĞLIĞINA  
OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÖZGE GÜNGÖR**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Zuhal (MANGA) KIRZIOĞLU**

**İKİNCİ DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Merih (MANGA) KIVANÇ**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim  
Birimi tarafından 1941-D-09 Proje numarası ile desteklenmiştir  
Tez. No: 55**

**2011-İSPARTA**

## KABUL ve ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Pedodonti Anabilim Dalı Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 24 / 02 / 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Zuhâl KIRZIOĞLU-Süleyman Demirel Üniversitesi

Tez İkinci Danışmanı : Prof. Dr. Merih KIVANÇ- Anadolu Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. M. Üstün GÜLDAĞ-Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Şaziye ARAS-Ankara Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜKEŞMEN – SDÜ

ONAY : Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu' nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Serpil DEMİRCİ  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Hayatımın önemli bir dönemini oluşturan doktora eğitimimi ve tez çalışmamı tamamlamış olmanın mutluluğunu yaşıyorum.

Doktora eğitimim boyunca bana her konuda yol gösteren, engin bilgi ve deneyimlerini aktaran ve tezimin hazırlanmasında emeğini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanın, değerli hocam, sayın Prof. Dr. Zuhal KIRZIOĞLU'na,

Tez ikinci danışmanım olmayı kabul ederek çalışmamı onurlandıran ve konuyla ilgili önemli katkılarda bulunan sayın Prof. Dr. Merih KIVANÇ 'a,

Doktora tez izleme komitesi üyesi olarak, tezimin hazırlanmasında olumlu katkıları ve eleştirileri ile bana yön gösteren sayın Prof. Dr. M. Üstün GÜLDAĞ ve Prof. Dr. Şenol TÜZÜM'e,

Anabilim dalımızda, her zaman ve her konuda desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜKEŞMEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ'a,

Doktora eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, Dt.Yıldırım ERDOĞAN'a ve bu zorlu eğitim sürecinde bana destek olan diğer arkadaşlarıma,

Tez çalışmama maddi destek sağlayan, SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

İstatistiksel analizlerdeki katkılarından dolayı, sayın Doç. Dr. Süleyman OKTAR'a,

Hayatım boyunca, beni her konuda yüreklendiren, hep yanımda ve destek olan, bana güven veren, yol gösteren canım anneme ve babama,

Sabrı ve özverisi ile daima yanımda olan hayat arkadaşım, sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Ahmet Yalçın GÜNGÖR'e

sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimle...



## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	ix
Resimler Dizini	x
Tablolar Dizini	xi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİ</b>	<b>4</b>
2.1. Oral kavitenin mikrobiyal yapısı	4
2.1.1. Kalıcı oral mikrofloranın oluşumu	4
2.1.2. Oral mikrofloranın gelişimini ve metabolizmasını etkileyen ekolojik faktörler	5
2.1.3. Diş plağı mikroorganizmaları ve biyofilm oluşumu	6
2.1.4. Diş çürüğü mikroorganizmaları ve karyojenik özellikleri	8
2.1.5. Ağız içi yumuşak doku mikroorganizmaları	9
2.1.6. Tükürük mikroorganizmaları	10
2.2. Laktik asit bakterileri ve probiyotik özellikleri	11
2.2.1. Laktik asit bakterileri	11
2.2.2. Probiyotikler, prebiyotikler ve simbiyotikler	11
2.2.3. Probiyotik bakteriler	14
2.2.4. Probiyotik bakterilerin kolonizasyonu	15
2.3. Probiyotik bakterilerin genel sağlığa etkileri	17
2.3.1. Gastrointestinal hastalıklara etkileri	17
2.3.2. Bağışıklık sistemine etkileri	19
2.3.3. Alerjik hastalıklara etkileri	19
2.3.4. Ürogenital hastalıklara etkileri	20
2.3.5. Kansere etkileri	20
2.3.6. Serum kolesterol düzeyine ve hipertansiyona etkileri	20
2.4. Probiyotik bakterilerin ağız sağlığına etkileri	21
2.4.1. Diş çürüklerine karşı probiyotiklerin etkisi	21
2.4.2. Periodontal problemlere karşı probiyotiklerin etkisi	26
2.4.3. Ağızdaki mantar enfeksiyonlarına karşı probiyotiklerin etkisi	31
2.4.4. Ağız kokusuna karşı probiyotiklerin etkisi	33
2.5. Probiyotik Bakterilerin Güvenirliliği	35
2.5.1. Probiyotik bakterilerin sistemik yan etkileri	35
2.5.2. Probiyotik bakterilerin oral kavitedeki yan etkileri	36
<b>3. GEREÇ VEYÖNTEM</b>	<b>38</b>
3.1. İn vitro çalışma	38
3.1.1. Doğal ağız florasından laktik asit ve <i>S.mutans</i> bakterilerinin	38

izole edilmesi	
3.1.2. İzole edilen laktik asit ve <i>S.mutans</i> bakterilerinin dış yüzeyine Tutunması	40
3.1.2.1. Birinci yöntem	40
3.1.2.2. Yoğunluk deneyi	44
3.1.2.3. İkinci yöntem	44
3.1.3. Taramalı elektron mikroskopunda mikroorganizmaların incelenmesi	46
3.2. İn vivo çalışma	47
3.2.1. Hazırlık periyodu	47
3.2.1.1. Çocukların ağız içi muayenelerinin yapılması ve çalışma gruplarının oluşturulması	47
3.2.1.2. Gargara tozunun hazırlanması	48
3.2.2. Uygulama periyodu	49
3.2.3. Kontrol periyodu	54
3.3. Kullanılan istatistiksel analiz yöntemleri	54
<b>4. BULGULAR</b>	<b>55</b>
4.1. İn vitro çalışma	55
4.1.1. Doğal ağız florasından laktik asit ve <i>S.mutans</i> bakterilerinin izole edilmesi	55
4.1.2. İzole edilen laktik asit ve <i>S.mutans</i> bakterilerinin dış yüzeyine tutunması	59
4.1.3. Taramalı elektron mikroskopunda (TEM) mikroorganizmaların görüntülenmesi	62
4.2. İn vivo çalışma	64
4.2.1. Çalışma grubu bulguları	64
4.2.2. Kontrol grubu bulguları	67
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>70</b>
5.1. İn vitro çalışma	70
5.2. İn vivo çalışma	80
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>93</b>
<b>ÖZET</b>	<b>94</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>95</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>96</b>
<b>EKLER</b>	
EK 1.	
EK 2.	
EK 3.	
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	

## Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: *A. actinomycetemcomitans*

*Actinomyces naeslundii*: *A.naeslundii*

*Actinomyces viscosus*: *A.viscosus*

*Bacillus subtilis*: *B.subtilis*

*Bifidobacterium bifidum*: *B.bifidum*

*Bifidobacterium breve*: *B.breve*

*Bifidobacterium infantis*: *B.infantis*

*Bifidobacterium lactis*: *B.lactis*

*Bifidobacterium longum*: *B.longum*

BSA: Bovine-serum-albumin, inek serum albumini

°C: Santigrat derece

Ca<sup>+2</sup>: Kalsiyum

*Candida albicans*: *C.albicans*

CFU: Colony forming unit

CO<sub>2</sub>: Karbondioksit

COX 2: Siklooksijenaz 2

dl: Desilitre

DOS: Diş eti oluğu sıvısı

FAO: United Nations Food and Agriculture Organisation, Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Derneği

FTF: Fruktozil transferaz

FTS: Fizyolojik tuzlu su

*Fusobacterium nucleatum: F.nucleatum*

GIS: Gastrointestinal sistem

GTF: Glukozil transferaz

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit

IFN- $\gamma$ : İnterferon gamma

IgA: İmmunglobulin A

IL-10: İnterlökin 10

KOB: Koloni oluşturan birim

*Lactobacillus acidophilus: L.acidophilus*

*Lactobacillus casei: L.casei*

*Lactobacillus fermentum: L.fermentum*

*Lactobacillus gasseri: L.gasseri*

*Lactobacillus helveticus: L.helveticus*

*Lactobacillus johnsonii: L.johnsonii*

*Lactobacillus lactis: L.lactis*

*Lactobacillus paracasei: L.paracasei*

*Lactobacillus plantarum: L.plantarum*

*Lactobacillus reuteri: L.reuteri*

*Lactobacillus salivarius: L.salivarius*

*LGG: Lactobacillus rhamnosus*

ml: Mililitre

mm<sup>2</sup>: Milimetre kare

mmol: Milimol

MS: Mitis salivarius

PBS: Phosphate Buffered Saline, fosfatla tamponlanmış salin

PDA: Patates dekstroz agar

PEP-PTS: Fosfoenol piruvat fosfotransferaz

*Peptostreptococcus micros*: *P.micros*

PGE 2: Prostaglandin endoperoksit 2

*Prevotella intermedia*: *P.intermedia*

*Prevotella melaninogenica*: *P.melaninogenica*

*Prevotella nigrescens*: *P.nigrescens*

*Porphyromonas gingivalis*: *P.gingivalis*

rpm: Revolutions per minute, Bir dakikadaki dönme

*Saccharomyces boulardii*: *S.boulardii*

*Streptococcus anginosus*: *S.anginosus*

*Streptococcus gordonii*: *S.gordonii*

*Streptococcus mitis*: *S.mitis*

*Streptococcus mutans*: *S.mutans*

*Streptococcus oralis*: *S.oralis*

*Streptococcus salivarius*: *S.salivarius*

*Streptococcus sanguis*: *S.sanguis*

*Streptococcus sobrinus: S.sobrinus*

*Streptococcus thermophilus: S.thermophilus*

*Streptococcus uberis: S.uberis*

*Tannerella forsythia: T.forsythia*

TEM: Taramalı elektron mikroskobu

TGF- $\beta$ : Transforming growth factor Beta, büyüme faktörü Beta

TNF: Tümör nekrozis faktör

*Treponema denticola: T.denticola*

*Weissella cibaria: W.cibaria*

WHO: World Health Organisation, Dünya Sağlık Örgütü

## Şekiller Dizini

Şekil 1: Deneyleerde kullanılan izolatlara ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile standart bant profilleri.

Şekil 2: Deney grubunda yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri miktarındaki değişiklik.

Şekil 3: Deney grubunda yapılan ölçümlerde, *S.mutans* miktarındaki değişiklik.

Şekil 4: Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri miktarındaki değişiklik.

Şekil 5: Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde, *S.mutans* miktarındaki değişiklik.

## Resimler Dizini

Resim 1: Doğal ağız florasından mikrobiyal örnek alımında kullanılan malzemeler.

Resim 2: Yapay tükürük hazırlanması.

Resim 3: Dişlerin laktik asit bakteri süspansiyonu içerisine alınması.

Resim 4: Streptokok solüsyonu içerisindeki dişler.

Resim 5: Flakonların vorteks cihazında çalkalanması.

Resim 6: İnkübasyona hazır besi yerleri.

Resim 7: İnkübasyondan sonraki besi yeri.

Resim 8: Bakteri yoğunluklarını belirlemek için yapılan santrifüj işlemleri.

Resim 9: Dişlerin deney için hazırlanması. a: İşleme hazır dişler, b: Steril edilmiş dişler

Resim 10: Mc Farland cihazı.

Resim 11: Besi yerleri ve ekimin yapılması.

Resim 12: Liyofilizatör.

Resim 13: Hazırlanan gargara tozları.

Resim 14: Fırça-macun kutusu.

Resim 15: Steril tükürük kapları.

Resim 16: Mikrobiyolojik bakteri kiti.

Resim 17: Çalkalama solüsyonları.

Resim 18: Çalışma grubu.

Resim 19: Deneylerde kullanılan bakterilerin TEM görüntüleri.



## Tablolar Dizini

Tablo 1: Uygulama periyodu boyunca takip edilen çalışma programı.

Tablo 2: Doğal ağız florasından izole edilen ve çalışmada kullanılan laktik asit ve *S.mutans* bakterileri.

Tablo 3: Et örneklerinden izole edilmiş olan laktik asit bakterileri.

Tablo 4: Doğal ağız florasından örnek alınan çocukların anamnez bilgileri.

Tablo 5: Diş yüzeyine tutunan laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin ilk ve son yoğunlukları

## 1.GİRİŞ

Diş çürüğü, çocuklarda, oral kavitede sıklıkla görülen enfeksiyonel bir hastalıktır. Endüstriyelmiş toplumlarda, flor kullanımı yaygın olmasına rağmen geçtiğimiz 10 yıllık süreçte çürük prevalansı artmaya devam etmiştir (Marthaler, 2004, Steckslen-Blicks et al., 2004). Flor ve diğer koruyucu işlemler diş çürüklerini azaltmaya yardım etmesine rağmen, enfeksiyonu kontrol etme yeteneği sınırlıdır (Kargül et al., 2003, Çağlar et al., 2005a).

Oral kavite, zengin ve farklı türlerin bir arada bir denge içinde bulunduğu karmaşık bir ekosistem olarak tanımlanabilir. Oral kavitedeki bu denge, geniş pH aralığı, mikrobiyal türlerin değişik yüzeylere karşı gösterdiği tutunma eğilimi, mikrobiyal topluluğun kompozisyonundaki değişkenlik, tükürük ve diş eti oluşu sıvısının lokalizasyonu ile korunur. Ancak, oral mikroflora, hassas ve değişken bir yapıya sahiptir. Kişisel ve çevresel etkenler, sistemik hastalıklar, diyet ve/veya kullanılan ilaçlar bu hassas dengeyi bozabilir (Samaranayake, 2006). Ağız ekolojisindeki bu denge bozulduğunda, potansiyel patojenler rekabet üstünlüğü kazanır ve diş çürüğü oluşturabilir. Diş çürüğü gibi enfeksiyonel ağız hastalıklarını önlemede risk faktörlerinin belirlenmesi ve hastalıklardan korunmada yeni yöntemlerin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmektedir.

*Streptococcus mutans* (*S.mutans*) ve laktik asit üreten bazı laktobasillerin karbonhidratları fermente ederek düşük pH oluşturdukları ve sonucunda diş çürüğüne sebep oldukları gösterilmiştir (Loesche, 1986). Buna karşın, bazı laktik asit bakterilerinin gastrointestinal ve oral enfeksiyonların kontrolünde kullanıldığı bildirilmiştir (Teughels et al., 2008). Bu bakterilerin antimikrobiyal aktivite göstermelerinin nedeni, düşük pH, organik asit, bakteriyosin, karbondioksit (CO<sub>2</sub>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), etanol, diasetil ve düşük redoks potansiyeli oluşturmaları gibi özellikler taşımalarıdır (Sookkhee et al., 2001, Sullivan and Nord, 2002). Antimikrobiyal aktivite gösteren bu bakterilerin, konak sağlığı için faydalı olan, probiyotik özellik gösterdiği kabul edilmektedir.

Çürük ve periodontal hastalıklar gibi bakteriyel patojenlerle ilişkili enfeksiyonel hastalıkların tedavisinde yararlı mikroorganizmaların kullanılması önerilmektedir (Zahradnik et al., 2009). Bakteriyoterapi, patojen mikro organizmaları zararsız bakterilerle yer değiştirerek enfeksiyonla mücadele etme yöntemidir (Tagg and Dierksen, 2003). Probiyotikler ve prebiyotiklerin endemik ve akut hastalıklara karşı koruyucu olduğu ileri sürülmüştür.

İnsan sağlığı için faydalı olan probiyotik bakteriler uzun yıllardan beri, bazı yiyecek ve içeceklerin içerisine ilave edilmektedir (Parvez et al., 2006). Süt, fermente süt ürünleri ve yoğurt probiyotik ilavesi için en uygun kaynaklardır (Bonifait et al., 2009). Probiyotik kültürler içeren süt ve süt ürünlerinin diş sağlığını olumlu yönde etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Çağlar et al., 2005c, Hatakka et al., 2007, Çağlar et al., 2008b, Haukioja et al., 2008, Lodi et al., 2010). Özellikle erken çocukluk döneminde probiyotik içerikli gıdaların tüketilmesi, çocukların ilerleyen yaşlarda ağız ve diş sağlığını olumlu yönde etkilemektedir (Yli-Knuuttila et al., 2006). Ancak diş hastalıklarının tedavisinde probiyotik kültürlerin kullanılabilirliği ile ilgili çok az sayıda araştırma vardır (Bengmark, 2001, Çağlar et al., 2005a).

Son yıllarda, gelişmiş ülkelerde enfeksiyonla mücadelede probiyotik kültürlerin kullanımı, artarak önem kazanan bir konu haline gelmiştir. Ancak ülkemizde, probiyotik kültür içeren hazır preparatların yeni ve sınırlı üretimi, probiyotik preparatların yurt dışından temininin yüksek maliyetli olması, diş hekimlerinin probiyotik kültürlerin ağız sağlığına etkileri konusunda yeterli bilgiye sahip olmaması, probiyotiklerle ilgili araştırmaların multidisipliner çalışma gerektirmesi ve çocuklarla yapılacak olan in vivo çalışmalarda ebeveynlerin ön yargısı ile karşılaşılması gibi nedenlerden dolayı konuyla ilgili çalışmalar henüz başlangıç aşamasındadır ve çalışmalar güçlükle, büyük bir özveri göstererek yürütülmektedir.

Bu çalışmada, insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu bilinen, doğal floradan izole edilmiş ve probiyotik özellik gösteren en uygun laktik asit bakterisinin in vitro yöntemle belirlenmesi, belirlenen probiyotik özellikli bakterinin ağız

probiyotiği olarak kullanılması ve ağız sağlığına olan etkilerinin in vivo yöntemle araştırılması amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Oral Kavitenin Mikrobiyal Yapısı

#### 2.1.1. Kalıcı oral mikrofloranın oluşumu

Oral kavite, mikroorganizmaların yerleşmesi ve yaşaması için uygun sıcaklık, nem, çeşitli besin kaynakları ve farklı oksijen seviyesi gösteren alanlara sahip olması nedeniyle, başta bakteriler olmak üzere mantar, protozoa ve virüsleri de içine alan çok sayıda ve farklı türlerde mikroorganizmayı barındırmaktadır (Marsh and Martin, 1999)

Doğumda oral kavite sterildir, beslenme ve dişlerin çıkması ile mikroorganizmalar oral kaviteye yerleşmeye başlar (Fejerskov and Kidd, 2003). Su, gıdalar ve diğer besin maddelerinden de geçiş söz konusu olmasına rağmen, mikroorganizmaların esas taşınma aracı tükürüktür. Moleküler tanımlama çalışmaları, özellikle oral streptokokların ve gram negatif türlerin çocuca anneden geçtiğini göstermektedir. Oral mikrofloradaki çeşitlilik yaşamın ilk yılında artar. Oral kaviteye ilk yerleşen türler, *Streptococcus salivarius* (*S.salivarius*), *Streptococcus mitis* (*S.mitis*) ve *Streptococcus oralis* (*S.oralis*)'tir. Zaman ilerledikçe, *Prevotella melaninogenica* (*P.melaninogenica*), *Fusobacterium nucleatum* (*F.nucleatum*) ve *Veillonella* türleri gibi gram-negatif anaeroblar yerleşir. Dişler, daimi floranın tutunabileceği bir yüzey yapısına sahip olduğu için, mikrobiyal kolonizasyon için yeni bir yaşam alanı oluşturur. Bu durum, özellikle dental plak gibi hareketsiz bölgelerde büyük bir bakteri kütesinin akümüasyonu ile sonuçlanır. Süt dişlerinin sürmesiyle birlikte, *S.mutans* ve *Streptococcus sanguis* (*S.sanguis*) ağız içine yerleşir ve bir biyofilm tabakası şeklinde oluşan dental plak, yerleşmesi zor bakteri türleri için ortamı uygun hale getirir. Buna ilaveten, kole bölgesindeki diş eti oluğu sıvısı (DOS), zorunlu anaeroblar için besin kaynağı oluşturur. Bazı bakterilerin yerleşmesi belirli yaşlarda meydana gelmektedir. Özellikle, *S.mutans*'ın yoğun bir şekilde kolonize olduğu 19-31 aylar arasındaki dönem "enfeksiyon penceresi" olarak tanımlanmaktadır (Caufield et al., 1993). Bu dönemde önleyici stratejilerin

geliştirilmesi, potansiyel karyojenik bakterilerin yerleşmesini önleyerek başlangıç çürüklerinin oluşmasını engeller.

Stabil bir mikrobiyal topluluk oluşana kadar, oral mikrofloradaki çeşitlilik artmaya devam eder. Diyet, hormonal düzey ve oral hijyendeki değişkenlere bağlı olarak meydana gelen küçük çevresel değişikliklere rağmen mikrobiyal topluluk stabil kalmaya devam eder. Bu stabilite “mikrobiyal homeostasis” olarak adlandırılır. Bu durum, pasif bir cevap değildir, konağın kalıcı mikroflorası ve lokal çevresel durum arasındaki dinamik dengeyi yansıtmaktadır (Fejerskov and Kidd, 2003). Habitattaki büyük değişiklikler, kalıcı florayı oluşturan türler arasındaki dengeyi bozabilir.

Mikrobiotadaki değişiklikler, doğrudan veya dolaylı olarak yaşın etkisiyle değişiklik gösterir. Daimi dişlerin sürmesiyle, *spiroketler*, *fusiform basiller*, *vibriolar* ve *leptotrichia* türlerinde artış görülür. Hücresel bağışıklık sisteminin zayıflamasıyla oral kavitedeki non-oral bakteriler (*stafilacoccus*, *enterococcus*) artar. Yaşın ilerlemesiyle birlikte, mayalar oral kaviteye kolonize olmaya başlar. İlerleyen yaşla birlikte diş kayıpları görüldüğünde ise, *S.sanguis* ve *S.mutans* yerini anaerobik bakterilere bırakır (Nolte, 1982, Samaranayake, 2006).

Oral kavite biyolojik ve fiziksel olarak farklı özelliklere sahip olduğu için bölgeye çok sayıda tür kolonize olabilmektedir. Oral kavite içerisinde 1000’den fazla tür tanımlanmıştır. Oral kavite, mikrobiyal kolonizasyon için homojen bir çevre değildir (Marsh and Martin, 1999). Mukozal yüzeyler (damak, yanak, dil), çeşitli diş yüzeyleri (düz, aproksimal, fissür) ve diş eti gibi farklı mikrohabitatlar vardır.

### **2.1.2. Oral mikrofloranın gelişimini ve metabolizmasını etkileyen ekolojik faktörler**

Oral kavite, mikrobiyal gelişim için oldukça uygun bir ortamdır. Oral kavite genellikle aerobik olmasına rağmen, anaerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler de kavitedeki biyofilmin derin kısımlarına (dil, diş) yerleşebilir ve bölgeyi bakteri yerleşimi için uygun hale getirirler. Organizmalar genellikle, tükürükle

yıkanmayacak ve yutulmayacak yerlere yerleşirler. Bu nedenle, özellikle hastalık yapan organizmalar, oral kavitenin stabil ve korunaklı alanlarında bulunur.

Tükürük, oral mikrofloranın gelişmesi ve metabolik aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynar. Tükürük, organizmaların gelişimi için uygun pH (pH 6,75-7,25) ve sıcaklığın (35-36°C) sürdürülmesine yardım eder, içerdiği glikoprotein ve proteinler, peptid ve amino asit kaynağı olarak görev yapar ve mikrobiyal gelişim için yeterli miktarda karbonhidrat içerir. Ayrıca, tükürük doğal ve özel bağışıklık faktörlerinin kaynağıdır.

Bakteriler, oral kaviteye yerleştikten sonra, karbonhidrattan zengin diyet, oral bakterilerin gelişim hızını artırır. Dental plak oluşumundan 4 gün sonra, sükröz tüketen grupta bakteri sayısı, yayılımı ve ağırlığı, tüketmeyen gruba göre daha fazla bulunmuştur (Fejerskov and Kidd, 2003). Düşük pH, dental plaktaki bakteri gelişiminin büyük bir kısmını inhibe ettiği için, sükrözden zengin diyet mikroflora kompozisyonunu değiştirebilir, bu nedenle daha asidiürik oral floranın bir parçası haline gelirler. Buna ilaveten, sükröz, glukoziltransferaz (GTF) ve fruktoziltransferaz (FTF) gibi bakteriyel enzimlerle glukoz ve fruktana çevrilir. Glukoz, plak tutunumunu artırır ve plak matriksi oluşumuna katkıda bulunur. Fruktan ise, ekstraselüler besin maddesi olarak görev görür. Aşırı miktarda alınan karbonhidrat, bazı türler tarafından intraselüler glikojen deposu olarak depolanır ve bu depolar fermente edilebilen kaynak olmadığında aside metabolize edilir. Tüm bu faktörlerin varlığında, diğer faktörler eşit olduğunda bile çürük gelişimi artar.

### **2.1.3. Diş plağı mikroorganizmaları ve biyofilm oluşumu**

Diş plağı, diş yüzeyine sıkıca yapışan ve suyla çalkalama ile uzaklaştırılmayan yumuşak materyal olarak tanımlanır. 1mm<sup>2</sup>lik diş yüzeyinde bulunan diş plağında 200 çeşitten fazla mikroorganizma bulunmaktadır (Axelsson, 2000). Diş plağı oluşumunda bakteri kolonizasyonu, diş yüzeyindeki pelikül ile bakterilerin yüzey molekülleri arasındaki etkileşime bağlıdır. Pelikül, diş yüzeyinin kaplı olduğu ekstraselüler protein benzeri bir yapıdır. Tükürük glikoproteinleri, fosfoproteinleri, lipit, daha az miktarda diş eti oluşu sıvısı ve ölmüş bakteri hücresi

kalıntıları pelikül yapısında yer alır. Pelikül oluşumundan sonra, diş sert yüzeyine ilk kolonize olan bakteriler, *S.oralis*, *S.mitis*, *Streptococcus gordonii* (*S.gordonii*) ve *S.sanguis*'tir. Bu bakterilerin diş yüzeyine kolonize olmalarındaki etkili faktör, bakteri yüzeyindeki adezinler ile peliküldaki reseptörler arasında oluşan van der Waal's kuvvetleridir (Axelsson, 2000). Örneğin, *S.sanguis* ve *S.oralis*, tükürüğün yapısında bulunan sialik asit zincirleri vasıtasıyla diş yüzeyine tutunurlar. Benzer şekilde, *Actinomyces naeslundii* (*A.naeslundii*) de prolinden zengin protein ve staterin vasıtasıyla diş yüzeyine tutunur. Ayrıca diş yüzeyinin hidrofobitesinin yüksek olması da bağlanma gücünü arttırmaktadır. Daha sonra, ikincil kolonizasyon başlar, buradaki tutunum mekanizmasında ise, ilk kolonize olan türler ile yeni kolonize olmaya başlayan türler arasında oluşan koagregasyon ve koadezyon rol oynar. İkincil olarak kolonize olan türler; *Capnocytophaga*, *Haemophilus*, *Eikenella*, *Prevotella*, *Propionibacterium* ve *Veillonella* türleridir. Diş yüzeyindeki bakteri kalınlığı arttıkça başlangıçta aerobik olan mikroorganizmalar, yerini fakültatif anaerobik ve zorunlu anaerobik mikroorganizmalara bırakır. Böylece meydana gelen olgun plak, yüksek hızlı dinamik bir süreç ile yapısını korur. Laktobasiller anaerobik olmasına rağmen plağın yapısında genellikle bulunmazken, *Actinomyces* türleri özellikle *A.naeslundii* ve *Veillonella* türleri sıklıkla bulunur. Olgun plakta ise *Treponema denticola* gibi spiroketler ve çeşitli anaerobik gram negatif rodlar bulunur. *F.nucleatum*'un ise, ilk ve ikinci kolonizasyon arasında bir köprü görevi gördüğü bildirilmiştir (Kolenbrander et al., 2002). Özet olarak, olgun diş plağı 5 aşamada meydana gelir: İlk aşama, diş yüzeyinde pelikül oluşumu; ikinci aşama, öncü bakterilerin diş yüzeyine tutunması (4 saat); üçüncü aşama, tutunan bakterilerin farklı mikro koloniler oluşturması (4-24 saat); dördüncü aşama, mikrobiyal artış ve ko-agregasyon ile mikro kolonilerin gelişmesi (1-14 gün) ve son aşamada ise, olgun biyofilmin oluşumudur (2 hafta ve üstü) (Fejerskov and Kidd, 2003).



#### 2.1.4. Diş çürüğü mikroorganizmaları ve karyojenik özellikleri

Diş çürüğü, asit üreten bakterilerin karbonhidratları fermente etmesi yoluyla hassas diş sert dokularında yıkımına neden olan kronik, enfeksiyöz ve bulaşıcı bir hastalıktır (Koch and Poulsen, 2003, Mc.Donald et al., 2004, Selwitz et al., 2007). Diş çürüğünün meydana gelebilmesi için gerekli olan faktörler: Çürüğe hassas bir konak, diyetle fermente olabilen bir karbonhidrat, asidiürük ve asidojenik bir mikroorganizma ve tüm bunların yanında zamandır. Mikroorganizmalar, diş sert dokusuna tutunarak burada bir biyofilm tabakası meydana getirirler ve karbonhidratları fermente ederek diş yapısını yıkan asiti oluştururlar. Tükürük; akış, dilüe etme, tamponlama ve remineralizasyon kapasitesi ile çürük sürecini düzenleyen bir konak faktörü olarak kabul edilir (Axelsson, 2000, Mc.Donald et al., 2004, Selwitz et al., 2007). Çürük oluşumunda en önemli nokta, ağız ortamında mikroorganizma ve fermente olabilen karbonhidrat bulunmadığında diş çürüğünün oluşmamasıdır (Axelsson, 2000).

Diş çürüğünde etkili olan mikroorganizmalar arasında ilk sırayı *S.mutans* almaktadır. *S.mutans*'ın 7 serotipi tanımlanmış ve çürükle ilişkisi en fazla olan türlerin c,e ve f serotipleri olduğu gösterilmiştir. Diş plağında yer alan ve asidojenik olan ve asidi tolere edebilme özelliği olan *S.mitis*, *S.gordonii*, *Streptococcus anginosus* (*S.anginosus*) ve *S.oralis* gibi bakteriler, *S.mutans*'ın gelişmesi için uygun çevresel koşulların oluşmasında önemli rol oynarlar. Çürükle ilişkili diğer bir bakteri türü ise, *S.mutans*'ın d ve g serotipi olarak da bilinen *Streptococcus sobrinus* (*S.sobrinus*)'tur ve *S.mutans*'a göre sükrözdan daha fazla asit üretmektedir. Yeni oluşmuş mine çürüklerinde sıklıkla izole edilen tür *S.mutans* iken, ilerlemiş dentin çürüklerinde ve yaygın çürüklerde laktobasil türleri (*Latobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus acidophilus*) artış göstermektedir. Kök çürüklerinde ise, sıklıkla *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Rothia*, *Veillonella*, *Candida*, *Enterococcus* ve gram negatif türler izole edilmektedir.

Karyojenik özellik gösteren bakterilerin karakteristik özellikleri (Loesche, 1986):

1-Plak yapısına katılan diğer bakterilere göre, fermente edilebilen karbonhidratları hızlı bir şekilde metabolize ederek asit üretirler. Sahip oldukları şeker taşıma sistemleri [MS, fosfoenolpiruvat fosfotransferaz (PEP-PTS) sistemi] sayesinde düşük moleküler ağırlıklı şekerleri de metabolize edebilirler.

2- Ekstrasellüler (glukan ve fruktan) ve intrasellüler polisakkarid sentezi yapabilirler. Glukan, plak matriksinin oluşumunda kullanılırken, fruktan ise karbonhidrat bulunmayan ortamlarda metabolize edilmektedir. İntrasellüler polisakkaridler, depolanmış olarak bulunur ve ortamda şeker olmadığı durumlarda, metabolize edilir.

3. Asidojenik ve asidürik özelliğe sahiptirler. Yani düşük asit ortamda canlı kalma ve üreme yetenekleri vardır.

### 2.1.5. Ağız içi yumuşak doku mikroorganizmaları

Ağız içi yumuşak dokularda, fiziksel ve kimyasal şartlardaki farklılıklara bağlı olarak, bölgelere göre farklı mikroorganizmalar görülmektedir (Samaranayake, 2006, Monten et al., 2006).

**Dil:** Çeşitli formlardaki papillaları ve geniş keratinize yüzeye sahip olması nedeniyle dil, mikroorganizmaların yaşaması ve çoğalması için uygun bir ortam oluşturmaktadır (Marsh and Martin, 1999). Dil yüzeyinden en çok izole edilen mikroorganizma, *Streptococcus salivarius*'tur (Kazor et al., 2003). *Streptococcus mitis*, *Veillonella*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces odontolyticus* gibi bazı anaerob bakteriler, *Neisseria* türleri, *Eikenella corrodens* ve *Stomatococcus mucilaginosus* gibi fakültatif anaerob bakteriler, *Haemophilus* türleri, *Fusobacterium periodonticum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Candida*, *Lactobacillus*, *Capnocytophaga*, *Bacteriodes*, *Selenomonas*, *Campylobacter*, *Treponema* ve *Micrococcus* türleri de dil yüzeyinden izole edilen diğer mikroorganizmalardır. (Ahrne et al., 1998, Tanner et al., 2002, Kazor et al., 2003, Mager et al., 2003).

**Sert damak:** En sık izole edilen tür, streptokoklardır. Ayrıca, *Haemophilus*'lar, *Actinomyces*'ler ve *Lactobacillus*'lar da bulunur.

**Yumuşak damak:** *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Neisseria* ve *Branhamella* gibi solunum yolu bakterileri izole edilir.

**Yanak:** En sık izole edilen bakteriler *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus sanguis*, *S. salivarius* olmakla birlikte, *Haemophilus* ve *Neisseria* türleri de bu bölgeden izole edilebilir.

**Dudaklar:** Konumu itibarıyla, mikrobiyal açıdan, ağız içi ve cilt türlerinin dinamikmi etkisindedir. *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* türleri (*S.vestibularis*, *S.oralis*, *S.mitis*, *S.constellatus*), gram pozitif rodlar (*Corynebacterium* ve *Propionibacterium türleri*) ve cilt mikrokokları, bu bölgede floranın büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Marsh and Martin, 1999, Mager et al., 2003).

#### 2.1.6. Tükürük mikroorganizmaları

Tükürük, ağız sağlığının sürdürülmesinde önemli bir role sahiptir. Tükürük yapısında mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen ve mukozayı enfeksiyondan koruyan bazı maddeler yer alır. Oral mukozada yeterli miktarda tükürük salgılanmadığında patojenik bakterilerin aktivitesi artar, bu durum ağız kokusu ve diş çürüğüne yol açar (Kaya, 1997).

Tükürük, esas olarak, makromoleküller ve sudan oluşan renksiz, tatsız, şeffaf ve visköz bir bileşimdir. Tükürüğün %99'unu su, %1'ini ise inorganik iyonlar, salgısal glikoproteinler, serum elemanları ile enzimler oluşturur. Tükürüğün mikrobiyal bileşimini ise, ağırlıklı olarak *Streptococcus salivarius*, *Veillonella parvula*, *Provetella melaninogenica*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Capnocytophaga* ve *Haemophilus* türleri oluşturmaktadır. Tükürükteki mikroorganizmaların yarısı anaerop türlerden oluşmaktadır. 1ml tükürükte, yaklaşık olarak  $10^8$  bakteri hücresi bulunmaktadır (Marsh and Martin, 1999, Humphrey and Williamson, 2001, Amerongen and Veerman, 2002).

## 2.2. Laktik Asit Bakterileri ve Probiyotik Özellikleri

### 2.2.1. Laktik asit bakterileri

Laktik asit bakterileri, insan mikroflorasında ve fermente ve fermente olmayan gıdalarda sıklıkla yer alan bakterilerdir. Sağlık açısından faydalı probiyotik özelliklere sahip olan laktik asit bakterileri, gastrointestinal sistemde (GIS) bulunan patojen mikroorganizmalara karşı çeşitli antimikrobiyal maddeler üretmektedirler. Bu antimikrobiyal maddeler; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, çeşitli organik asitler, diasetil, asetaldehit ve çeşitli bakteriyosinlerdir. Bakteriyosinler, bakteriler tarafından üretilen özelleşmiş ve oldukça güçlü antibiyotikler olarak tanımlanabilir (Kirkup, 2006). Laktik asit bakterileri, bu antimikrobiyaller sayesinde bağırsaklarda bulunan patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engeller.

### 2.2.2. Probiyotikler, Prebiyotikler ve Simbiyotikler

Dünya Sağlık Örgütü'nün (World Health Organisation WHO) tanımına göre probiyotik, yeterli miktarda alındığında konak sağlığına faydalı olan canlı mikroorganizmalardır. Diğer bir tanımla, probiyotik bakteriler, fermente gıdalardan köken alan ancak, bağırsak florasında doğal olarak bulunan, bağırsak florasını düzenleyerek konakçı sağlığına faydalı olan canlı mikroorganizmalardır.

Bakterilerin sağlık üzerinde etkili olduğu fikri, yirminci yüzyılın başlarında ortaya atılmıştır. Nobel ödülü sahibi, Ukraynalı biyolog, Elie Metchnikoff konuyla ilgili çalışmaların öncüsü olmuştur. Araştırmacı, tükettikleri süt ürünlerine bağlı olarak, Rhodopes Dağları'nda yaşayan Bulgar halkının daha sağlıklı ve uzun ömürlü olduklarını ileri sürmüştü ve yoğurt içerisindeki *Lactobacillus bulgaricus* bakterisinin bağırsak patojenlerini nötralize ettiğini göstermiştir (Stamatova and Meurman, 2009).

Probiyotik terimi, “pro” ve “biota” terimlerinin birleşmesi ile meydana gelmekte ve “yaşam için” anlamı taşımaktadır, bu terim ilk kez, 1965'te Lilley ve Stillwell tarafından, antibiyotik karşıtı anlamında kullanılmıştır (Teughels et al.,

2008). Araştırmalara giren ilk probiyotik örnekleri *L.acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* (*B.bifidum*)'dur (Tanboğa et al., 2003).

Probiyotik bir mikroorganizmanın sahip olması gereken özellikler şunlardır: Doğal insan florasından izole edilmiş ve güvenilir olmalıdır, GİS'in asitliğine dirençli olmalıdır, patojenlerle rekabet edebilmesi için bağırsak epiteline ve birbirlerine tutunmalıdır, patojen bakterilere karşı antimikrobiyal maddeler üretmelidir (Lee and Salminen, 2009).

Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, hızla ilerleyen bir problem haline gelmiştir. Bu nedenle, araştırmacılar hastalıkların tedavisinde antibiyotik kullanımı yerine farklı yöntemlere başvurmuşlardır. Bu yöntemlerden birisi de patojen bakterilerin kontrolü için, patojen olmayan bakterilerin kullanılması yöntemidir. Bu yöntemde bakteriyoterapi veya yer değiştirme tedavisi adı verilmektedir (Tagg and Dierksen, 2003, Çağlar et al., 2005c).

Bakteriyoterapiye olan ilginin artması nedeniyle, ticari firmalar farklı şekillerdeki ürünlere probiyotik bakterileri ilave etmişler ve tüketiciye sunmuşlardır. Probiyotik olarak en yaygın şekilde kullanılan bakteriler, laktobasiller ve bifidobakterilerdir. Probiyotikler, yiyecek ve içeceklerin içine konsantre kültür olarak eklenmesi (ör/meyve suyu); probiyotik bakterilerin gelişmesini sağlayan prebiyotiklerin içerisine aşılanması; süt ve süt ürünlerine ilave edilmesi (ör/süt, yoğurt, peynir, kefir, biyoiğecekler) ve (iv) liyofilize edilerek ve derin dondurucuda tutulmuş gıda maddeleri içine ilave edilerek (tablet, kapsül, sakız, kamış) ticari olarak piyasaya sunulurlar (Twetman and Stecksen-Blicks, 2008). Ticari ürünlerin üretimi sırasında probiyotik bakterilerin canlılığını kaybetmesi veya son tüketim tarihine az zaman kalmış ürünlerde canlı tür sayısının azalması karşılaşılan önemli sorunlar olarak düşünölmektedir. Genellikle ticari ürünlere tek bir probiyotik zinciri bulunur ancak, birkaç türün bir arada bulunması durumunda sinerjistik etki artacağı için sağlık açısından daha faydalı olduğu ileri sürölmüştür (Meurman, 2005). Süt ürünleri, çocukların gelişimi için temel besin maddelerini iğermesinin yanı sıra aynı zamanda doğal kazein, kalsiyum ve fosfor iğeriğine bağlı olarak, tükürüğün mikrobiyal kompozisyonu üzerine yararlı etkilerinin olması ve tamponlama kapasitesi ile asit üretimini azaltarak çürük gelişimini inhibe etmesi yönünden dişler

için güvenilirdir ve probiyotik bakteri ilavesi için en doğal gıda maddeleridir (Levine, 2001, Petti et al., 2001, Çağlar et al., 2005a, Teughels et al., 2008, Bonifait et al., 2009). Gramında veya mililitresinde  $10^8$  colony forming unit (CFU: Koloni oluşturan birim=KOB) probiyotik ve tadlandırıcı yerine sadece doğal şeker içeren ürünlerden günde 1.5-2 dl alınması önerilmektedir. Süt ve süt ürünlerine probiyotik ilavesi için yapılan araştırmaların çoğu iyi tanımlanmış, mandıra kaynaklı canlı laktobasil zincirleri üzerinde yoğunlaştırmıştır, bu nedenle doğal floradan izole edilen laktobasil zincirleri ile yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır.

Prebiyotikler ise, bağırsaktaki bir veya daha fazla ancak sınırlı sayıda bakterinin gelişimini seçici olarak stimüle eden ve sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. İnülin, frukto-oligosakkarit, galakto-oligosakkarit, laktuloz, soya oligosakkaritleri, laktosükroz, izomalto-oligosakkarit, gluko-oligosakkarit, ksilo-oligosakkarit, platinoz ve gentio-oligosakkaritler prebiyotik gıda bileşenleridir. Bir gıda bileşeninin prebiyotik özellik göstermesi için, konak için faydalı olması, sindirilememesi, bağırsak bakterileri tarafından hidrolize edilmesi ve faydalı bakterilerin çoğalmasını stimüle etmesi gerekmektedir. Prebiyotikler, sindirilmeden bağırsaklara ulaşırlar ve bağırsaklarda genellikle bifidobakteriler tarafından beta-fruktofuranozidaz enzimi ile hidrolize edilirler. Bu işlem sonucunda, kısa zincirli yağ asitleri, organik asitler ve kısa zincirli karboksil asitleri ortaya çıkar (Coşkun, 2006). Prebiyotikler ve probiyotikler, farklı mekanizmalarla, intestinal florayı düzenleyerek konak sağlığını olumlu yönde etkilerler (Gibson and Roberfroid, 1995, Manning and Gibson, 2004).

Gastrointestinal sistemdeki mikroorganizmaların, bölgeye tutunması ve hayatta kalması için faydalı olan prebiyotik ve probiyotik karışımı, sinbiyotik olarak adlandırılmaktadır. Probiyotiklerin, prebiyotiklerle birlikte alınması durumunda, uzun süre canlılığını koruyacağı ve etkinliğinin artacağı ileri sürülmektedir (Andersson et al., 2001).

### 2.2.3. Probiyotik Bakteriler

#### *Bifidobacteria*

Bifidobakteriler, bağırsak lümeninde doğal olarak bulunan, zorunlu anaerobik, heterofermantatif, Gr (+), büyük çoğunluğu katalaz (-), baskın bakteri türleridir ve bağırsak florasında normal dengenin sürdürülmesinde önemli rol oynarlar. Anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak florasının %99'unu *Bifidobacterium* türleri oluşturmaktadır. *Bifidobacterium DN-173 010 (Bifidobacterium animalis)* GİS'te canlılığını korumakta ve bu bölgede mukozal immün cevabı arttırarak ve öldürücü hücreler, T hücreleri ve interferon sayısını arttırmak suretiyle makrofaj aktivitesini arttırarak patojen mikroorganizmalara karşı mücadele etmektedir (Fuller, 1991, Fuller and Gibson, 1997). Oral kavitede ise, bifidobakteriler erken mine demineralizasyonundan ziyade derin dentin çürüklerinden sorumludur ve çürüğün ilerlemesinde önemli rol oynarlar. Probiyotik bifidobakterinin oral ekolojiye olumlu etkisi, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Çağlar et al., 2005c, Çağlar et al., 2008b). Probiyotik olarak kullanılan bifidobakteriler: *B.bifidum*, *B.breve*, *B. lactis*, *B.longum*, *B.infantis* 'tir (Lee and Salminen, 2009).

#### *Lactobacilli*

Laktobasiller, fakültatif anaerob, gram (+), katalaz (-), hareketsiz, sporsuz çubuk veya kokbasil şeklindeki mikroorganizmalardır. Laktobasiller, asidojenik ve asidiürik özelliktedir, 3.5 gibi düşük pH'lara dayanabildikleri için, asitliği yüksek olan bağırsak içerisinde canlılıklarını korumaktadırlar. Asit dirençlilikleri, bifidobakterilerden daha yüksektir. Laktobasiller, sükrozu fermente ederek kısa zincirli karboksil asitlerini oluştururlar ve ortamın asitliğini düşürdükleri için mine ve dentinde demineralizasyona neden olurlar (To1 et al., 2000). Laktobasiller, başlangıç çürük lezyonlarından daha çok çürük lezyonlarının ilerlemesinden sorumludurlar (Maltz et al., 2002).

Laktobasillerin, çürük dentinle ilişkisi ve çürük oluşumuna katkısından çok çürük önleme özelliği araştırmacıların ilgisini daha fazla çekmektedir (Becker et al., 2002). *L.acidophilus* zincirinin in vitro olarak diğer bakteri türlerini inhibe ettiği ilk defa 1952 yılında gösterilmiş ve bu gözlem, daha sonra çok sayıda çalışmada doğrulanmıştır (Polonskaya, 1952). Bu olay, laktobasillerin düşük molekül ağırlıklı ve streptokokların da arasında olduğu, geniş bir bakteri topluluğuna karşı inhibitör aktivitede bulunan bakteriosinleri üretebilmesiyle açıklanmaktadır (Ishihara et al., 1985, Silva et al., 1987, Meurman et al., 1995). *L.lactis* ve *L.salivarius* zincirlerinin karyojenik laktobasiller olmadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Fitzgerald et al., 1981, Matsumoto et al., 2005). Sağlıklı gönüllülerin ağız florasından izole edilen 3790 adet laktik asit bakterisinin, *S.mutans*, *Actinomyces viscosus* (*A.viscosus*), *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) ve *Candida albicans* (*C.albicans*) gibi oral patojenlere karşı inhibitör etkisinin incelendiği bir çalışmada beş adet laktobasil izolatının, bu oral patojenlere karşı antimikrobiyal madde ürettiği gözlenmiştir. Bu laktobasil izolatlarından en güçlüleri; *L.paracasei* ve *L.rhamnosus*'tur (Sookkhee et al., 2001). Probiyotik olarak kullanılan laktobasiller: *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.fermentum*, *L.gasseri*, *L.johnsonii*, *L.lactis*, *L.paracasei*, *L.plantarum*, *L.reuteri*, *L.rhamnosus*, *L.salivarius*'tur (Lee and Salminen, 2009).

Probiyotik olarak kullanılan diğer bakteriler:

***Streptococcus* suşları:** *S.thermophilus*, *S.salivarius*

***Mayalar:*** *Saccharomyces boulardii*' dir.

#### **2.2.4. Probiyotik Bakterilerin Kolonizasyonu**

Doğum sırasında bebeğin bağırsakları sterildir ancak, yeni doğan çocukta, annenin doğum kanalından, çevreden ve diyetten kaynaklanan bakterilerle temas ve buna bağlı olarak kolonizasyon başlar (Tannock et al., 1990). İntestinal mikroflora, doğumdan sonra bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını başlatan en önemli kuvvettir (Edwards and Parrett, 2002). Başlangıçtaki bağırsak kolonizasyonu; annenin aldığı besinler (probiyotik içeriği), gebelik yaşı, doğum şekli (normal/sezeryan), bebeğin



beslenme şekli (anne sütü/mama) gibi dışsal ve bebeğin immunolojik durumu, GIS'in pH'sı ve stres gibi içsel faktörler ile belirlenen karmaşık bir süreçtir (Fanaro et al., 2003). Çocuğun doğum şekli, floranın başlangıç kompozisyonunu belirleyen önemli bir faktördür ve sezeryan ile doğan çocuklarda bifidobakteri kolonizasyonu normal doğum ile doğan çocuklardan daha azdır (Penders et al., 2006). Doğumdan hemen sonra, bağırsak florasında *E.coli*, *Streptococcus* ve *Clostridia*'lar baskındır. Yaşamın birinci ayında, anne sütü ile beslenen bebeklerde *bifidobakteri* ve *laktobasiller* artarken, mama ile beslenen çocuklarda, *bacteroides*, *clostridia* ve *enterobacterilerin* sayısı daha fazladır (Harmsen et al., 2000, Penders et al., 2006). Bu farklılığın, anne sütünden salgılanan ve bakteri gelişimini önleyen immunglobulin A (IgA) ve lizozim gibi immunolojik faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Edwards and Parrett, 2002).

Gastrointestinal sistemdeki probiyotik bakteriler, bağırsak mukozasına tutunarak ve böylece patojen mikroorganizmaları inhibe ederek etkinlik gösterirler. Oral kavitede de benzer bir mekanizma vardır, doğum sırasında ve sonrasında, endojen floranın çeşitli türleri ağız içindeki epitelyal yüzeylere tutunurlar ve patojen türlerin yerleşmesine engel olurlar (Cole et al., 1998, Kononen et al., 1999). Probiyotikler, oral kavitede biyofilmin bir parçası olarak diş dokularına tutunur ve karyojenik bakteriler veya periodontal patojenlerle yarışır (Comelli et al., 2002). Konuyla ilgili yapılan bir in vitro çalışmada, diş yüzeyine tutunmada *Lactobacillus rhamnosus* ve *Streptococcus sobrinus* arasındaki rekabet gösterilmiş ve *L.rhamnosus*'un, *S.sobrinus*'u inhibe ettiği gösterilmiştir (Meurman et al., 1995). Günlük ürünlerde probiyotik zincir olarak bulunan *Lactobacillus* ve *Bifidobacteriumların* tükürük içerisinde canlı kalmasının ve oral dokulara tutunmasının araştırıldığı in vitro çalışmada, test edilen tüm zincirlerin tükürükte canlı kaldığı ancak, diş sert dokularına ve oral mukozaya tutunma kapasitelerinin farklı olduğu gösterilmiştir. *Lactobacillus* zincirlerinin oral dokulara tutunma kapasitesinin *Bifidobacterium*'lardan çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Haukioja et al., 2006).

Probiyotiklerin, ağız içerisine küçük yaşlarda kolonize olması ile etkilerinin uzun dönem ve kalıcı olması arasında önemli bir ilişki olduğu düşünülmektedir,

ancak bunu destekleyen az sayıda çalışma vardır. Probiyotik ürünler ve plak arasındaki kısa süreli temasta daimi kolonizasyonun sağlanamadığı, sürekli etki için günlük ve uzun süreli alımın şart olduğu bildirilmiştir (Meurman et al., 1995, Busscher et al., 1999, Nase et al., 2001). Probiyotik bakterilerin daimi kolonizasyonunu belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, *L.rhamnosus GG* (LGG) içeren meyve suyunun günde 3 defa tüketilmesi ile geçici bir süre tükürükte *LGG* kolonizasyonu olduğu ancak, kolonizasyonun daimi olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada 10 yaşındayken atopik dermatit tedavisine destek amacıyla 1 yıl boyunca *LGG* içeren süt tüketen bir denekte, kolonizasyonun devam ettiği gözlenmiştir (Yli-Knuutila et al., 2006).

### **2.3.Probiyotik Bakterilerin Genel Sağlığa Etkileri:**

Probiyotik bakteriler, özellikle antibiyotiğe bağlı ishal, huzursuz bağırsak sendromu gibi çeşitli gastrointestinal hastalıkların tedavisinde, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde, atopik dermatit gibi alerjik hastalıkların tedavisinde, otitis media ve streptokokal faringotonsilit gibi oro-faringeal enfeksiyonların tedavisinde, çeşitli ürogenital hastalıkların tedavisinde destekleyici olarak, kanserin önlenmesinde, serum kolesterol düzeyinin ve yüksek tansiyonun düşürülmesinde ve konuşma protezlerinin üzerinde biriken patojen mikroorganizmaların sayısının azaltılmasında kullanılmaktadır (Teughels et al., 2008).

#### **2.3.1.Gastrointestinal Hastalıklara Etkileri**

Probiyotiklerin, geleneksel olarak GİS'teki hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. En sık kullanılan türler ise, *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria*'dır, bu mikroorganizmalar, GIS'te baskın değildir, insanlarda nadiren enfeksiyona yol açarlar ve günlük süt ürünlerinde kullanılırlar. Bu nedenle, United States Food and Drug Administration tarafından "güvenli" olarak değerlendirilirler. GİS'te bağışıklık sistemini güçlendirirler.

Probiyotik mikroorganizmaların bağırsak florasındaki etki mekanizması şu şekildedir (Salminen et al., 1998, Madsen, 2001, Coşkun, 2006):

1-) Bağırsak florasındaki patojen mikroorganizmaların sayısını azaltırlar: Antimikrobiyal maddeler üretirler, patojen bakterilerle besin ve kolonizasyon bölgeleri için yarışır. Ekolojik nişleri kaplayarak patojenlerin bağırsak epiteline tutunmasını engellerler. Mukus salgısını arttırarak ve bütirat da dahil kısa zincirli yağ asitleri oluşturarak patojen bakterilerin epitel ve mukozaya tutunumuna engel olurlar.

2-) Bağırsak florasının metabolik aktivitesini değiştirirler: Bağırsak pH'sını düşürür, bakterisidal proteinler salgılar (laktaz gibi sindirim sistemi enzimleri), epitel hücrelerini savunma için uyarır, toksik enzimleri azalmasını sağlarlar, nitrik oksit yapımını arttırırlar.

3-) Bağışıklık sisteminin gelişimine katkıda bulunurlar: Makrofaj, lenfosit, öldürücü hücrelerin sayısını ve salgısal IgA düzeyini arttırırlar. IL-10, TGF- $\beta$  ve COX2 (PGE2) ekspresyon ve salınımını arttırırlar. TNF ve IFN- $\gamma$  ekspresyonunu azaltır. Regülatuar T hücrelerini aktive eder. Dendritik hücre fenotip ve işlevlerini ve apoptozu düzenlerler.

Özellikle çocuklarda rotavirüse bağlı diarede, standart oral rehidratasyon tedavisi ile probiyotik verilmesinin ardından akut enfeksiyöz diarenin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Szajewska and Mrukowicz, 2001, D'Souza et al., 2002, Huang et al., 2002). Michail ve ark.nın (2006) çalışmalarında, farklı pediatrik hastalıklarda probiyotik kullanımının faydaları incelenmiştir. Probiyotiklerin, çocuklarda, akut enfeksiyöz diarenin tedavisinde, antibiyotiğe bağlı diarenin önlenmesinde ve alerjik reaksiyonların önlenmesi ve tedavisinde klinik olarak etkili olduğu gösterilmiştir. Koliği (bağırsak ağrısı) olan çocuklarda laktobasil sayısının daha az olduğu gözlenmiştir ve *Lactobacillus reuteri* (ATCC 55730) alımıyla, kolik semptomlarında iyileşme görülmüştür (Savino et al., 2007). Diğer yandan, iltehabi bağırsak hastalıklarında, irritable bağırsak sendromunda, Crohn hastalığında, ülseratif kolitte, kabızlık, seyahat ishali, laktoz intoleransı, helicobakter pylori enfeksiyonu ve akut pankreatitin önlenmesi ve tedavisinde probiyotiklerin rol aldığı

bildirilmiştir (Michetti et al., 1999, Gionchetti et al., 2000, Gupta et al., 2000, Coşkun, 2006).

### **2.3.2.Bağışıklık Sistemine Etkileri**

Probiyotikler, endojen konak savunma sistemini güçlendirerek bağışıklık sistemini güçlendirirler. Yapılan çalışmalar, humoral, hücrel ve spesifik olmayan bağışıklığı modifiye ettiklerini göstermektedir (Matsuzaki et al., 1998, Chiang et al., 2000, Matsuzaki and Chin, 2000, Madsen et al., 2001, Cross et al., 2002). Özellikle ileri yaşlardaki insanlarda, öldürücü hücreleri aktive ettikleri ve spesifik olmayan savunma sistemini etkiledikleri gösterilmiştir (Gill et al., 2001b). Yaşla birlikte azalan sitokin üretiminin probiyotik desteği ile artabileceği, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Muscettola et al., 1994, Gill et al., 2001a, Sheih et al., 2001). Mukus üretimini arttırmaları, laktobasillerden gelen sinyallerin makrofajları aktive etmeleri, nötrofil sayısını ve salgısal Ig A sekresyonunu arttırmaları, iltehabi sitokin salınımını inhibe etmeleri ve periferal immunglobunleri stimüle etmeleri, dentritik hücrelerin yüzey fenotipini değiştirmeleri, probiyotiklerin bağışıklık sistemini düzenleme mekanizmaları arasındadır (Kaila et al., 1992, Fukushima et al., 1998, Perdigon et al., 1999, Miettinen et al., 2000, Drakes et al., 2004, Mack and Lebel, 2004). Ancak, bağışıklık sistemine olan etki, konağın bağışıklık sisteminin durumu, probiyotik suşun türü ve dozuna göre farklılık göstermektedir (Senok et al., 2005).

### **2.3.3.Alerjik Hastalıklara Etkileri**

Anne adaylarının, hamilelik boyunca probiyotik ürünler kullanması, çocuklarında atopik hastalıkların gelişme riskini azaltmaktadır. Doğumdan önce 4 hafta süre ile *LGG* verilen hamile bayanların çocuklarında erken dönemde atopik egzama görülme riski belirgin bir şekilde daha düşük bulunmuştur (Kalliomaki et al., 2001b). Bebeklerde atopik dermatitin önlenmesinde ve tedavi edilmesinde probiyotik kültürlerin kullanıldığı bildirilmiştir (Folster-Holst, 2010)

#### **2.3.4.Ürogenital Hastalıklara Etkileri**

Bağırsaklarda olduğu gibi üriner sistemin de kendisine özgü mikrobiyolojik bir yapısı vardır. Özellikle bayanlarda vajinal florada baskın olan laktobasiller, bu bölgede asitlik düzeyini düşürerek patojen mikroorganizmaların çoğalmasına engel olurlar (Coşkun, 2006). Probiyotiklerin bakteriyel vajinozis, ürogenital enfeksiyon ve kandidiasis riskini azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Reid et al., 2003, Reid and Devillard, 2004).

#### **2.3.5.Kansere Etkileri**

Kanser hücrelerinin gelişiminde mikroflora ve bağışıklık sistemi etkili olduğu için, kanser gelişiminin önlenmesinde mikroorganizmaların kullanılabileceği düşünülmektedir. Probiyotikler, bağışıklık sistemini güçlendirmek, prokarsinojenlerin aktif karsinojenlere dönüşmesine engel olmak, mutajenik bileşenleri bağlamak veya etkisiz hale getirmek, bu bileşiklerin bağırsaklardan emilimini azaltmak, fizyolojik aktif maddeler salgılamak, prokarsinojen bakterilerin çoğalmasını engellemek suretiyle kolorektal kanser gelişimini önlemektedirler (Commane et al., 2005). Bağırsaklarda bulunan faydalı mikroorganizmalar, kanser başlangıcında etkili olan glukozidaz, azoredüktaz, nitroredüktaz ve  $\beta$ -glukuronidaz gibi enzimleri etkilemektedirler (Gorbach and Goldin, 1990, Nalini et al., 2004). *L.acidophilus* veya *L.casei* tüketen gönüllülerin dışkılarından alınan örneklerde bu enzimlerde azalma olduğu görülmüştür (Lidbeck et al., 1992, Hayatsu and Hayatsu, 1993).

#### **2.3.6.Serum Kolesterol Düzeyine ve Hipertansiyona Etkileri**

Yapılan hayvan çalışmalarında probiyotiklerin serum kolesterol düzeyini düşürdüğü gösterilmiş ancak insanlarla yapılan çalışmalarda sonuçlar çelişkili bulunmuştur. Bu nedenle, konu ilgili daha fazla insan çalışmasına ihtiyaç vardır (Coşkun, 2006).

Probiyotiklerin yüksek tansiyonu düşürücü etkisi üzerine yapılan çalışmalar henüz başlangıç halindedir ancak iki ay boyunca *L.helveticus* ve *S.boulardii* tüketen ileri yaşlı insanlarda yüksek tansiyon probleminde azalma olduğu gösterilmiştir (Hata et al., 1996).

#### **2.4.Probiyotik Bakterilerin Ağız Sağlığına Etkileri:**

Son yıllarda, probiyotik bakterilerin ağız sağlığına olan etkilerinin incelenmesi yeni ve önemli bir araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar, henüz başlangıç aşamasındadır, ancak probiyotik bakterilerin diş çürüğü, periodontal hastalıklar, oral mukozal lezyonlar ve ağız kokusuna karşı etkili olduğu ileri sürülmüştür. Bir probiyotik zincirin ağız içerisinde etkinlik gösterebilmesi için sahip olması gereken özellikler ise şu şekilde gösterilmiştir (Comelli et al., 2002, Meurman and Stamatova, 2007, Bonifait et al., 2009):

- ✓ Ağız dokularına tutunabilmeli, patojen bakterilerin yerleşim yerlerine yerleşerek biyofilmin bir parçası olmalı.
- ✓ Ağız içerisindeki patojen bakterilere karşı antimikrobiyal maddeler üretebilmeli, patojen bakterilerin çoğalmasını önlemeli.
- ✓ Ağız içerisi oluşabilecek düşük pH değerlerine karşı dayanıklı olmalı ve pH'yı düşürmemeli.
- ✓ Gıdalardaki şekeri metabolize ettiğinde, asit üretimi düşük olmalı.

##### **2.4.1.Diş Çürüklerine Karşı Probiyotiklerin Etkisi**

Diş çürüğü, konak, bakteri, besin ve zamandan oluşan çok faktörlü bir süreçtir. Hastalığın oluşması ve ilerlemesi için tüm faktörlerin bir arada olması gerekmektedir. Oral ekosistemdeki denge bozulduğunda, özellikle *S.mutans* grubundan oluşan bakteriyel biyofilmde çoğalma meydana gelir. Bu nedenle, diş çürüğünü önlemede oral ekolojii etkileyecek bakteriyoterapi gibi alternatif

yöntemlere başvurulmaktadır. Bu yöntemin temelinde, zararlı bakterilerin faydalı bakterilerle yer değiştirmesi yer almaktadır. Probiyotiklerin diş çürüklerini önlemede kullandıkları mekanizmalar bağırsak florasını etkilemedeki mekanizmalarına benzerdir.

Yapılan araştırmalar incelendiğinde, probiyotiklerin oral floraaya etki mekanizmasının şu şekilde olduğu bildirilmiştir (Erickson and Hubbard, 2000, Sookkhee et al., 2001, Hillman, 2002, Reid et al., 2003, Haukioja et al., 2008, Bonifait et al., 2009):

- 1- Probiyotikler, ağız içerisinde, bakteriyosin adı verilen protein kaynaklı çeşitli antimikrobiyal maddeler üretirler. Bu antimikrobiyaller, asidik pH'da, alkali pH'ya göre daha etkilidirler. *L.salivarius*, salivacin 140; *L.plantarum*, plantaricin 423; *L.reuteri*, reuterin ve reutesilin ve *L.acidophilus* ise acidocin J1229 adı verilen bakteriyosinleri üretmektedirler.
- 2- Probiyotikler, diş yüzeyine kolonize olmak için patojen mikroorganizmalarla yarışır.
- 3- Probiyotikler, ortamdaki besin maddeleri için ağız içindeki patojenlerle yarışır.
- 4- Pelikülün yapısında değişikliğe neden olurlar. *S.mutans*'ın diş yüzeyine bağlanmasında etkili olan tükürük aglütinin seviyesinde ve tükürükte antimikrobiyal etkinliği olan peroksidaz seviyesinde azalmaya neden olurlar. Ağız içi pH ve oksidasyon-redüksiyon potansiyelinde değişikliğe neden olurlar.
- 5- Non-spesifik immun cevabı düzenleyerek enflamasyon cevabını azaltırlar, hümmoral ve hümmresel immun cevabı düzenlerler.

Diş çürüklerini önlemede kullanılan probiyotiklerin büyük bir kısmı, gastrointestinal patolojileri önlemede kullanılan probiyotiklerdir. Bu amaçla, öncelikle laktobasiller ve bifidobakteri zincirlerinin yararlı etkilerini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Bu bakteriler aynı zamanda otitis media veya faringotonsilit gibi oto-oro-faringeal enfeksiyonların önlenmesinde ve tedavisinde yer değiştirme tedavisi ile kullanılmıştır. Özellikle, antibiyotik tedavisinden sonra probiyotik

kullanımının  $\alpha$ -hemolitik streptokoklar üzerindeki başarısı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Roos et al., 1993a, Roos et al., 1993b, Roos et al., 1996, Falck et al., 1999, Roos et al., 2001).

*L.rhamnosus GG*, sücrozu fermente edemediği için karyojenik bir laktobasil türü olarak değerlendirilmez. Nase ve ark. (2001), yaşları 1-6 arasında değişen 594 çocuğa 7 ay boyunca haftada 5 gün olmak üzere LGG içeren süt içirerek gerçekleştirdikleri randomize, çift körlemeli ve plasebo kontrollü çalışmalarında, LGG'nin, özellikle 3-4 yaş grubundaki çocuklarda, diş çürüğünü azaltmada faydalı olduğunu göstermişlerdir.

*L.rhamnosus GG* ve *L.rhamnosus LC 705* içeren peynirin 3 hafta tüketilmesi ile gerçekleştirilen randomize, çift körlemeli ve kontrollü çalışmada, kısa süreli uygulamada bile faydalı mikroorganizma içeren peynirin *S.mutans*'ı azalttığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı gösterilmiştir. Bununla beraber, çalışmadan 3 hafta sonra deneklerden alınan örnekler, deney grubundaki *S.mutans* sayısındaki azalmanın kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğunu göstermektedir (Ahola et al., 2002).

*L. sporogens*, *L. bifidum*, *L. bulgaricus*, *L. termophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* suşlarının birlikte kullanılması ile hazırlanan kapsül ve likit formundaki probiyotik preparatlarının gönüllülere verildiği plasebo kontrollü çalışmada, 35 katılımcı rastgele 3 gruba ayrılmış, birinci gruba probiyotik kapsül, plasebo likit; ikinci gruba probiyotik likit, plasebo kapsül ve üçüncü gruba ise plasebo kapsül ve plasebo likit 45 gün boyunca verilmiştir. Çalışma sonunda birinci ve ikinci gruplarda laktobasil miktarının arttığı, ancak *S.mutans* seviyesinin değişmediği, üçüncü gruba ise *S.mutans* miktarında ve laktobasil miktarında bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Montalto et al., 2004).

Aktif çürük, gingivitis ve periodontal hastalığı olmayan 20 yaşındaki 40 öğrenciyle gerçekleştirilen bir çalışmada, gönüllüler 2 gruba ayrılmış, gruplardan birisine *L.reuteri* içeren yoğurt diğerine plasebo yoğurt 2 hafta süre ile verilmiştir. Çalışmanın sonunda, deney grubunda, tükürükteki *S.mutans* seviyesinin %80 oranında azaldığı belirlenmiştir (Nikawa et al., 2004).



Çağlar ve arkadaşları (2005c), yaptıkları bir çalışmada, *Bifidobacterium DN-173 010* ( $7 \times 10^7$  koloni/birim) içeren 200gr yoğurdu ve canlı bakteri içermeyen plasebo yoğurdu, yaşları 21-24 arasında değişen 21 katılımcıya vermiştir. Çalışma, 1.hafta hazırlık, 2. ve 4. haftalar uygulama dönemi ve 3.hafta temizlenme olmak üzere birbirini izleyen 4 haftada tamamlanmıştır. Uygulama dönemi olan 2 hafta boyunca ürün her gün kullanılmıştır. Çalışma sonunda tükürük örnekleri alınmış ve deney grubunda çürük oluşturan *S.mutans* sayısında anlamlı bir azalma olduğu, laktobasil sayısında ise değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Araştırmacı, başka bir çalışmada ise, *L.reuteri ATCC 55730*'u süt ürünlerine ilave etmek yerine, tablet ve kamışlara ilave ederek gönüllülere kullandırmıştır. 21-24 yaş aralığında 120 gönüllü ile gerçekleştirilen çalışmada, gönüllüler rastgele fakat eşit sayıda olmak üzere 4 gruba ayrılmış, grup A'ya 3 hafta boyunca her gün, 200ml su probiyotik bakteri içeren kamışla, grup B'ye plasebo kamışla içirilmiş, grup C'ye 3 hafta boyunca her gün probiyotik bakteri içeren tablet ve grup D'ye plasebo tablet çiğnettirilmiştir. Çalışma sonunda, tükürük *S.mutans* düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu gösterilmiştir (Çağlar et al., 2006). Araştırmacı, 2007 yılında gerçekleştirdiği çalışmada da *L.reuteri ATCC 55730* ve *L.reuteri ATCC PTA 5289*'u kullanarak geliştirdikleri sakızları deney grubundaki katılımcılara 3 hafta boyunca günde 3 defa vermiştir. Bu çalışmada katılımcıları 4 gruba ayırmıştır; birinci gruba probiyotikli sakız, ikinci gruba ksilitollü sakız, üçüncü gruba sabah ve akşam ksilitollü, öğle saatinde ise probiyotikli sakız ve dördüncü gruba plasebo sakız çiğnettirmişlerdir. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda katılımcılardan tükürük örnekleri alınmış ve birinci ve ikinci gruptaki katılımcıların tükürüklerinde *S.mutans* düzeyi anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Üçüncü grupta ise, *S.mutans* seviyesinde önemsiz bir azalma ve plasebo grubunda ise hiç bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Dört grupta da laktobasil düzeyinde bir değişiklik görülmemiştir (Çağlar et al., 2007). Aynı araştırmacının *L.reuteri ATCC 55730* ve *L.reuteri ATCC PTA 5289* probiyotik zincirleri ile gerçekleştirdiği diğer bir çalışmada, canlı bakteriler bir emzik içerisine yerleştirilerek katılımcılara verilmiştir. Bu çalışmada 20 bayan gönüllü, deney ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmış ve deney grubuna canlı bakteri içeren emzik, kontrol grubuna plasebo emzik 10 gün boyunca günde 15 dakika verilmiştir. Çalışmanın başında katılımcıların tükürük örneklerinde *S.mutans* düzeyinin  $10^5$ 'ten

daha büyük olmasına dikkat edilmiştir. Çalışma sonunda, deney grubundaki 7 katılımcıda *S.mutans* düzeyinin azaldığı ve kalan 3 katılımcının *S.mutans* düzeyinin değişmediği bildirilmiştir (Çağlar et al., 2008a). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *Bifidobacterium lactis Bb-12* dondurma içerisine ilave edilmiş ve *S.mutans* üzerindeki inhibe edici etkisi incelenmiştir. Bu çalışma, yaş ortalaması 20 olan sistemik olarak sağlıklı, günlük oral hijyen alışkanlıklarını yerine getiren ve çalışmadan 6 hafta öncesine kadar antibiyotik almamış olan, 24 katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada katılımcılar deney ve kontrol grubu olarak rastgele iki gruba ayrılmış, çalışma 4 periyotta tamamlanmıştır. Deney grubundaki katılımcılara  $1 \times 10^7$  KOB/ml *B.lactis Bb-12* içeren 53g dondurma ve kontrol grubuna canlı bakteri içermeyen dondurma günde bir defa olmak üzere çalışmanın 2. ve 4.periyodlarında verilmiştir. Uygulama periyodlarının başında ve sonunda katılımcılardan tükürük örnekleri alınmış ve mikrobiyolojik test kitleri ile mikroorganizma analizleri yapılmıştır. Çalışmanın sonunda tüm katılımcılarda *S.mutans* düzeyinin azaldığı, ancak bu azalmanın deney grubunda anlamlı olduğu bildirilmiştir (Çağlar et al., 2008b). Araştırmacı başka bir çalışmasında da *L.reuteri ATCC 55730* içeren tabletlerin kullanımından sonra, bu mikroorganizmanın oral kolonizasyon süresini incelemiştir. Çalışma, 21-22 yaşlarında 25 katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Her biri 2'şer hafta süren 3 periyotta (oral temizlenme, uygulama, takip) tamamlanan çalışmada, canlı bakteri içeren tabletler, katılımcılara, öğle saatlerinde verilmiştir. Tükürük örnekleri, birinci periyodun sonunda ve takip döneminde tükürükte *L.reuteri* bulunduğu sürece alınmıştır. Takip döneminde, uygulamadan sonraki ilk gün katılımcıların %48'inde *L.reuteri* bulunurken, bir hafta sonra sadece %8'inde bulunmuştur. Çalışmadan 5 hafta sonra katılımcıların hiç birisinde *L.reuteri* bulunmadığı belirtilmiştir (Çağlar et al., 2009).

*L.acidophilus*, *L.caseii* ve *B.bifidum* içeren yoğurdun düzenli olarak sabah kahvaltısı ve akşam yemeğinden sonra birer bardak tüketilmesini takiben 1 hafta sonra tükürükte laktobasil kolonizasyonu görülmemiştir (Busscher et al., 1999). Benzer başka bir çalışmada da canlı bakteri içeren yoğurt tüketimi sırasında *S.mutans* ve patojen laktobasil sayısında azalma olduğu ancak bu etkinin ürün tüketilmediğinde kalıcı olmadığı gösterilmiştir (Petti et al., 2001). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada da *S.thermophilus* ve

*L.bulgaricus* içeren yoğurdun seçici olarak *S.mutans* bakterisini inhibe ettiği gösterilmiştir (Petti et al., 2008). Bu çalışmaların aksine, *LGG* içeren 250 gr yoğurdun her gün tüketilmesinden sonraki 2 hafta boyunca bu bakterinin tükürükte bulunmaya devam ettiği gözlenmiştir (Meurman et al., 1994). Başka bir çalışmada ise, *LGG*, meyve suyu içerisine ilave edilmiş, 2 haftalık tüketim süresinden sonra bakteri kolonizasyonunun geçici olarak meydana geldiği gözlenmiştir (Yli-Knuuttila et al., 2006).

Günlük süt ürünlerinde bulunan 23 çeşit bakterinin incelendiği bir çalışmada, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus lactis* zincirlerinin, hidroksiapatitin yüzeyindeki biyofilmin içerisine yerleştiği ve *Streptococcus sobrinus* gibi karyojenik türlerin gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Comelli et al., 2002).

Günlük diyetle alınan probiyotik zincirlerin, olgunlaşmış oral ekolojide, yer değiştirme tedavisinde kullanılması zordur. Ancak, etken zincirin oral kavite içine daha önceden kolonize olması ile bu sorunun üstesinden gelinebilir (Teughels et al., 2008). Hillman ve ark (1994), doğal insan florasından izole ettikleri bir tür *S.mutans* bakterisinin, mutasin 1140 isimli bir bakteriyosin ürettiğini ve bunun diğer *S.mutans* türleri üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Spontan mutasyona uğradığında 3 kat daha fazla mutasin 1140 ürettiği belirtilen bu mikroorganizmanın, yer değiştirme tedavisinde, diş çürüğüne karşı etkin mikroorganizma zinciri olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

#### **2.4.2.Periodontal Problemlere Karşı Probiyotiklerin Etkisi**

Periodontal hastalıklar genel olarak, gingivitis ve periodontitis olmak üzere iki ana başlık altında incelenir. Gingivitis, enflamasyonun yapışık olmayan diş eti seviyesine kadar ilerlediği ve sadece yumuşak dokuyu tuttuğu bir periodontal hastalıktır. Periodontitis ise, tüm destek diş dokularını etkileyen ilerleyici ve yıkıcı bir periodontal hastalıktır. *P.gingivalis*, *Treponema denticola* (*T.denticola*), *Tannerella forsythia* (*T.forsythia*) ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*) periodontitisle ilişkili ana patojenik bakterilerdir (Newman et al., 2002).

Periodontal hastalıkların oluşmasında; hassas bir konak, patojenik türlerin ortamda bulunması ve faydalı bakterilerin ortamda az olması veya hiç olmaması etkilidir. Periododontopatojenler, farklı virulent özelliklere sahiptir ve subgingival bölgelere yerleşerek konağın savunma sisteminden kurtulur ve yerleştiği dokuda hasar meydana getirirler. Periodontal tedavi, zararlı bakterilerin azaltılması ile mümkün olmaktadır, subgingival mekanik temizlik ve oral hijyenin iyileştirilmesi, kabul görmüş tedavi seçenekleridir (Haffajee et al., 2003). Supragingival flora, ağırlıklı olarak, daha az patojenik olan gram pozitif aerobik türlerden oluşur ve uzaklaştırılması kolaydır, uzaklaştırılmadığı durumlarda, 1-2 hafta içinde tekrar başlangıçtaki durumuna döner ve bu durum devam ettiğinde ise, birkaç ay içinde daha agresif türlerin bölgeye yerleştiği görülür. Lokal veya sistemik olarak antibiyotik ve antiseptiklerin kullanımı, periodontal tedavide uzun dönem etkili değildir. Bu nedenle, çalışmalar probiyotiklerin kullanıldığı yer değiştirme tedavisi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Oral kavitedeki probiyotikler, endojen patojenleri baskımlarken aynı zamanda egzojen patojenlerle süper enfeksiyonu önlerler (Roberts and Darveau, 2002). Probiyotiklerin, periodontal hastalıklara olan etkisiyle ilgili sınırlı miktarda bilgi bulunmaktadır. Ağız içindeki mikroorganizmalar, gastrointestinal ve vajinal mikrobiotanın karışımı şeklindedir ve dental biyofilm tedavi edici ajanlara karşı çok dirençlidir (Socransky and Haffajee, 2002).

Probiyotiklerin, oral mukozal enfeksiyonlar üzerindeki faydalı etkileri, ilk kez 1954 yılında bildirilmiştir (Kragen, 1954). Araştırmacı, çalışmasında gingivitis, periodontitis ve hamilelik gingivitis gibi çeşitli periodontal hastalıklara sahip bireyleri *L.acidophilus* zinciri kullanarak tedavi etmiş ve katılımcıların tamamına yakınında önemli iyileşmeler olduğunu bildirmiştir. Daha sonra Rus bilim adamları tarafından geliştirilen, “Acilact®” adı verilen probiyotik karışımının gingivitis ve periodontitis tedavisinde etkili olduğu ileri sürülmüştür (Pozharitskaia et al., 1994, Grudianov et al., 2002).

Araştırmacılar, 1970’li yıllarda, probiyotiklerin, yer değiştirme tedavisinde kullanılarak periodontitis tedavisinde etkili olup olmadığına ilişkin çalışmalar yapmışlardır. Sağlıklı insanlardan aldıkları subgingival plak örneklerindeki mikroorganizmaların, *A.actinomycescomitans* ve diğer periodontopatojenleri

inhibe ettiklerini görmüşlerdir. Juvenil periodontitis ve inatçı periodontitis hastalarının, hastalıklı bölgelerinden alınan örneklerde ise inhibe edici bu tür faydalı bakterilere rastlanmazken, aynı hastaların sağlıklı bölgelerinden alınan subgingival diş plağı örneklerinde faydalı bakterilerin bulunduğu belirlenmiştir. Periodontopatojenlerin gelişimini inhibe eden bu bakterilerin *Streptococcus sanguis* ve *Streptococcus uberis* olduğu ve bu bakterilerin hidrojen peroksit üreterek *A.actinomycescomitans*'ın gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir (Hillman and Socransky, 1982, Hillman et al., 1985). Gnobiotik ratlarla yapılan bir çalışmada, ratların ağız içine *A.actinomycescomitans* kültürü yerleştirilmiş ve enfeksiyon oluşmasından 2 hafta sonra ratlar 3 gruba ayrılmıştır. Gruplardan birisine *S.sanguinis KJ3sm* ve diğer gruba hidrojen peroksit geni eksik olan *S.sanguinis KJ3sm* kültürü verilmiştir. İlk grupta 5 hafta sonra *A.actinomycescomitans* 70 kat azalırken ikinci grupta da 25 kat azalmıştır. *A.actinomycescomitans* ile *S.sanguinis* arasındaki etkileşimde sadece hidrojen peroksitin değil başka mekanizmaların da etkili olduğunu ileri sürülmüştür (Hillman and Shivers, 1988).

Teughels ve arkadaşları (2007a), periodontopatojenlerin gelişimini inhibe eden, fimbriya oluşumlarını veya yüzey aktif madde salınımlarını engelleyen yedi adet faydalı bakteriyle bir dizi çalışma gerçekleştirmiştir. Yaptıkları in vitro çalışmada, faydalı bakterilerin adezyon özelliklerini ve *A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis*, *P.intermedia* ve *T.forsythia* bakterilerinin diş sert dokularına ve epitelyum hücrelerine kolonizasyonunu değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, *S.sanguinis KTH-4*, *S.salivarius TOVE* ve *S.mitis BMS*'nin in vitro koşullarda periodontopatojenleri inhibe etmede etkili olduklarını ve bu bakterilerin *A.actinomycescomitans*'ya karşı epitelyal interlökin-8 cevabını düşürdüğünü göstermişlerdir (Teughels et al., 2007a, Van Hoogmoed et al., 2008). Araştırmacılar, in vivo çalışmalarında ise, *S.sanguinis KTH-4*, *S.salivarius TOVE* ve *S.mitis BMS* bakterilerinin karışımını periodontitisi olan köpeklere uygulamışlar. Karışımı uygulamadan önce denekleri 4 gruba ayırmışlardır: 1.gruba mekanik tedavi uygulamamışlar, 2.gruba subgingival küretaj ve kök düzeltmesi işlemlerini uygulamışlar, 3.gruba kök düzeltmesini takiben bakteri karışımından tek bir doz uygulamışlar ve 4. gruba ise kök düzeltmesi yaptıktan sonra bakteri karışımını tekrarlayan şekilde uygulamışlardır. 4 haftalık çalışma süresi sonunda,

rekolonizasyonun ne kadar sürede gerçekleştiğini görmek için köpekler bakteriyolojik olarak monitorize edilmiş ve özellikle 4.grupta belirgin bir farkla rekolonizasyonun daha geç olduğu bildirilmiştir Böylelikle, periodontitiste, mekanik tedaviden sonra, faydalı bakterilerin kullanılmasıyla antibiyotik tedavisine gereksinimin kalmayacağını ileri sürmüşlerdir (Teughels et al., 2007b).

Laktik asit bakterilerinin oral kavitedeki dağılımları, periodontal yıkım ve enflamasyonla yakından ilişkilidir. Laktobasiller, daha çok tükürükte kolonize olurken, subgingival bölgelerde nadiren kolonize olurlar. Özellikle homofermantatif laktobasiller sağlıklı insanların tükürüklerinde, periodontitisi olan hastaların tükürüklerine göre daha fazla bulunur. Bu durum, homofermantatif laktobasillerin subgingival periodonto patojenlerin gelişimini inhibe ettiğini göstermektedir (Sookkhee et al., 2001, Ishikawa et al., 2003, Koll-Klais et al., 2005a, Koll-Klais et al., 2005b). Laktik asit bakterileri, periodonsiyumda enflamasyona neden olan çeşitli parametreleri değiştirerek etki gösterirler. *L.reuteri*, *L.brevis*, *L.casei*, *L.salivarius* *WB21* ve *Bacillus subtilis*'in diş eti kanamasını azaltarak gingivitis tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Krasse et al., 2006, Riccia et al., 2007, Twetman et al., 2009). *L.reuteri* ATCC 55730 ve ATCC PTA 5289 içeren sakızların kullanılmasıyla, diş eti oluşu sırasında enflamasyona neden olan sitokinlerin azaldığı bildirilmiştir (Twetman et al., 2009). Kronik periodontitisi olan hastaların 4 gün boyunca *L.brevis* içeren pastilleri kullanması sonucunda, plak ve gingivitis skorlarının ve diş eti kanamasının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, tükürükteki matriks metalloproteinaz ve prostoglandin seviyesinde de azalma olduğu bildirilmiştir. Bu durumun, *L.brevis*'in, prostoglandin salınımı ve matriks metalloproteinaz aktivasyonundan sorumlu olan nitroz oksit üretimini inhibe etmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. (Riccia et al., 2007). Süt içerisinde tüketilen *L.casei* *Shirota* ve *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*), deney ve kontrol grupları arasında diş eti kanaması ve plak indeksi skorlarında farklılık oluşturmazken, *L.casei* *Shirota* 'nın deney grubunda polimorfonükleer elastaz ve matriks metalloproteinaz-3 aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Staab et al., 2009). Başka bir çalışmada ise *B.subtilis* ağız çalkalama solüsyonu içerisinde kullanılmış ve periodontal patojenlerin sayısını azalttığı gösterilmiştir (Tsubura et al., 2009).

Yapılan bir çalışmada, sütün fermentasyonunda yer alan *Lactobacillus helveticus* (*L.helveticus*)'un küçük peptidler ürettiği ve bu peptidlerin osteoblast hücresi gibi davranarak kemik oluşumunu aktive ettiği gösterilmiştir (Narva et al., 2004). *L.helveticus* tarafından üretilen bu bioaktif peptidler periodontitisle ilişkili kemik kaybını azaltmada kullanılabilir.

Yaşları 40-79 arasında değişen 492 katılımcı ile gerçekleştirilen, süt, peynir, yoğurt gibi günlük süt ürünlerinin tüketimi ile periodontal sağlık arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, özellikle sigara kullanmayan ve düzenli bir şekilde yoğurt veya laktik asit bakterisi içeren içecek tüketen bireylerde, yine sigara kullanmayan ancak bu ürünleri daha az tüketen bireylere göre periodontal cep derinliği ve klinik ataçman kaybının daha az olduğu görülmüştür. Süt ve peynir tüketiminde benzer bir etki görülmemiştir (Shimazaki et al., 2008).

Sağlıklı insanlardan izole edilen *Lactobacillus salivarius* TI2711'in in vitro koşullarda *P.gingivalis*, *P.intermedia* ve *Prevotella nigrescens* (*P.nigrescens*)'i inhibe ettiği gösterilmiştir (Ishikawa et al., 2003). Aynı araştırmacılar, *L.salivarius* içeren tabletlerin 8 hafta kullanılmasından sonra, deney grubunda siyah pigmentli anaerobik rodların sayısında anlamlı bir azalma olduğunu göstermişler, bununla beraber hem deney hem de kontrol gruplarında *S.mutans* ve laktobasil sayısında bir değişiklik göstermemişlerdir. Çalışma sonunda, probiyotik bakteri içeren tablet kullanımı ile tükürük pH'sında bir dengelenme meydana geldiğini, başlangıçta katılımcıların tükürük pH'sının 5,4-8,5 arasında değişirken, 8 hafta sonra pH'nın 7,3 olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, yaptıkları ikinci çalışmalarında ise, periodontitis hastalarına *L.salivarius* TI2711 içeren tabletlerden 12 hafta boyunca her gün vermişler, çalışma sonunda, deney ve kontrol gruplarının her ikisinde de toplam subgingival bakteri miktarında anlamlı bir azalma olduğunu göstermişlerdir. Uygulama bitiminden 4 hafta sonra periodontopatojenlerin eski seviyelerine döndüğünü yani, azalmanın kalıcı olmadığını ancak, deney grubunda *L.salivarius* seviyesindeki artışın önemli miktarlarda ve kalıcı olduğunu bildirmişleridir.

Özellikle sigara kullanan yüksek risk grubundaki bireylerde, *L.salivarius* WB21 içeren tabletlerin kullanımı ile diş eti cebi derinliğinin azaldığı ve plaktaki

periodontopatojenlerin sayısının azaldığı gösterilmiştir (Shimauchi et al., 2008, Mayanagi et al., 2009).

*L.reuteri*'nin gingivitis tedavisindeki etkinliğini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, *L.reuteri* içeren sakızın 14 gün kullanımından sonra, deney ve plasebo gruplarında gingivitis skorunun azaldığı, plak skorunun ise sadece deney grubunda azaldığı gözlenmiştir (Krasse et al., 2006).

*L.reuteri*, reuterin ve reuterisin adı verilen iki çeşit bakteriyosin üretmekte, dokulara güçlü bir şekilde bağlanabilmekte ve enflamasyonu başlatan sitokin salınımını inhibe etmektedir (Talarico et al., 1988, Ganzle et al., 2000, Mukai et al., 2002, Ma et al., 2004, Pena et al., 2005). Bakterinin probiyotik olarak etki göstermesi bu özelliklerine bağlı olabilir.

*Weissella cibaria* (*W.cibaria*), gram pozitif, fakültatif, anaerobik laktik asit bakterisidir, insanlardan ve fermente gıdalardan izole edilmektedir (Bonifait et al., 2009). Sağlıklı çocukların tükürüklerinden izole edilen *W.cibaria* zincirinin, *S.mutans* gelişimini inhibe ettiği ve günde 2 defa *W.cibaria* CMS1 ile hazırlanan solüsyonla çalkalama işlemi yapıldıktan sonra ise plak skorlarında %20 azalma meydana geldiği gösterilmiştir (Kang et al., 2006a).

### **2.4.3.Ağızdaki Mantar Enfeksiyonlarına Karşı Probiyotiklerin Etkisi**

Mantar enfeksiyonları, periyodontisyumda sıklıkla görülen enfeksiyonlardandır. Protez kullanımı, ağız kuruluğu, ileri yaş, geniş spektrumlu antibiyotiklerin sık kullanımı, bağışıklık sistemini baskılayan ilaçlar, antikolinergik ilaçlar, hormonal sistemdeki problemler, kemik iliği depresyonu, bağışıklık sistemini zayıflatan hastalıklar, malignensi, beslenme problemleri, radyasyon tedavisi, mantar enfeksiyonuna neden olan hazırlayıcı faktörlerdir (Herne et al., 1996). *Candida albicans*, oral ve orofaringeal mantar enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalardır. Mantar enfeksiyonu, ilaç tedavisine çok yavaş cevap verir ve tedavi enfeksiyonu tamamen ortadan kaldıramadığı gibi ayrıca bağışıklık sisteminin de zayıflamasına sebep olur (Schulze and Sonnenborn, 2009). Bu nedenle,



araştırmalar probiyotiklerin mantar enfeksiyonu tedavisinde kullanımı üzerine yoğunlaşmıştır.

Enfeksiyona eğilimli farelerle gerçekleştirilen bir çalışmada, *L.acidophilus LAFTI L10* ve *L.fermentum* bakterileri 2 hafta boyunca farelere gastrik entübasyonla (doğrudan mideye verilmesi) besin olarak verilmiş, bu sürenin tamamlanmasından 1 gün sonra farelerin ağız içine topikal olarak *C.albicans* uygulanmış ve tekrar 14 gün daha probiyotikle besleme yapılmıştır. *C.albicans*'ın verilmesinden 1 gün sonra deney ve kontrol gruplarında *C.albicans* seviyesi benzer bulunmuştur. İki gün sonra ise, deney gruplarının *C.albicans* seviyesinde hızlı düşüşler gözlenmiş, 6.günde *L.acidophilus* grubunda *C.albicans*'a hiç rastlanmazken *L. fermentum* grubunda ise *C.albicans* 8.güne kadar izlenmiştir. Kontrol grubunda ise, deneyden 15 gün sonrasına kadar *C.albicans*'un olduğu tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar, fareleri 3 gruba ayırarak benzer bir çalışma daha yapmışlardır. Bu çalışmada 1.grubu 34 gün boyunca iki günde bir defa fosfat tamponlu salin içerisinde *L.acidophilus* ile, 2.grubu fosfat tamponlu salin solüsyonuyla 34 gün boyunca günde iki defa ve 3.grubu ise 20 gün iki günde bir fosfat tamponlu salin içerisinde *L.acidophilus* ile ve son 14 gün de, günde iki defa sadece fosfat tamponlu salin ile beslemişlerdir. Beslenme sürecinin sonunda ilk çalışmada olduğu gibi farelere *C.albicans* verilmiş, ancak ilk çalışmadan farklı olarak tekrar *L.acidophilus* ile besleme yapılmamıştır. *L.acidophilus* ile 34 gün beslenen grupta *C.albicans* sayısındaki azalma, 20 gün beslenen gruptan daha yavaş bir şeklide meydana gelmiştir, takip sürecinin 6.gününde 34 gün *L.acidophilus* ile beslenen grupta *C.albicans* izlenmezken, 20 gün beslenen grupta yüksek miktarda kolonizasyon olduğu belirlenmiştir (Elahi et al., 2005).

Probiyotik bakterilerin oral kandida insidansına etkisinin incelendiği, 192 yaşlı katılımcı ile gerçekleştirilen çalışmada, 16 hafta boyunca deney grubuna *Lactococcus lactis*, *L.helveticus* ve probiyotik zincir olarak *L.rhamnosus GG* (ATCC 53103), *L.rhamnosus LC705* ve *Propionibacterium freudenreichii ssp.shermanii JS* içeren 50g peynir ve kontrol grubuna ise *Lactococcus lactis* içeren 50g peynir her gün verilmiştir. Çalışma sonunda deney grubunda maya insidansı azalırken, kontrol grubunda arttığı görülmüştür. Ancak, mukozal lezyonlarda bir değişiklik

görülmemiştir. Ayrıca, deney grubunun tükürük miktarında artış olduğu, kontrol grubunda ise azalma olduğu belirlenmiştir (Hatakka et al., 2007).

Yaşları, 18-35 arasında değişen 74 katılımcı ile gerçekleştirilen bir çalışmada, katılımcılar deney ve kontrol grubu olarak ikiye ayrılmış ve çalışma 3 hafta sürmüştür. Deney grubuna, *Lactobacillus rhamnosus GG ATCC 53103* ( $1,9 \times 10^7$  kob/g) ve *Lactobacillus rhamnosus LC 705* ( $1,2 \times 10^7$  kob/g) içeren peynirden günde 5 defa 15 g ve kontrol grubuna canlı bakteri içermeyen peynirden verilmiştir. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda tükürükteki *S.mutans*, laktobasil ve maya miktarı ölçülmüştür. Çalışma sonunda, probiyotik bakterilerin tükürükteki *S.mutans* ve maya miktarında azalmaya neden olduğu ancak bu azalmanın iki grup arasında anlamlı olmadığı gösterilmiştir (Ahola et al., 2002).

#### **2.4.4. Ağız Kokusuna Karşı Probiyotiklerin Etkisi**

Ağız kokusu, çeşitli uçucu gazlarla oluşan ve toplumun büyük bir kısmını etkileyen ciddi bir hastalıktır. Orofarinksteki sülfür içeren amino asitlerin bakteriler tarafından parçalanmasıyla oluşan hidrojen sülfid, metil merkaptan ve dimetil sülfid gibi sülfür içeren gazlar ağız kokusuna sebep olmaktadır. İndol, skatol, putresin, kadaverin ve aseton da ağız kokusuna sebep olan diğer gazlara örnek olarak verilebilir. Ağız içerisindeki gıda artıkları, mukozadan dökülen hücreler, tükürük ve lökositlerden kaynaklanan aminoasitler, *F.nucleatum*, *P.gingivalis*, *P.intermedia* ve *T.denticola* gibi anaerobik bakteriler tarafından parçalanır (Scully and Greenman, 2008). *Atopobium parvulum*, *Eubacterium sulci* ve *Solobacterium moorei*, ağız kokusu olan insanların dilin dorsumuna yerleşmiş baskın mikroorganizma türleridir (Kazor et al., 2003). Bazı hastalarda ise, ağız kokusu ağız dışı nedenlerle oluşabilir. Vücudun her hangi bir yerinde oluşan kötü koku metabolitleri kan yoluyla akciğerlere gelir ve oluşan gazlar nefes verirken dışarı çıkar (Delanghe et al., 1997, Van den Velde et al., 2007). Ayrıca, solunum yolu enfeksiyonları da ağız kokusuna sebep olmaktadır (Bonifait et al., 2009).

Ağız kokusuna sebep olan bakteriler daha çok dil üzerine yerleşirler. Kimyasal ve fiziksel olarak uygulanan bazı tedavi yöntemleriyle bu bakterilerin bir kısmı

uzaklaştırılır, ancak bu geçici bir rahatlama sağlar ve uzun dönem uygulanan tedavilerin bazı yan etkileri bulunmaktadır. Ayrıca tedavi sonlandırıldığında, ağız kokusuna sebep olan bakteriler kısa süre içerisinde tekrar aynı bölgelere yerleşirler. Bu nedenle probiyotik bakterilerin oral dokulara kolonize olmasıyla, ağız kokusu hem tedavi edilmiş hem de önlenmiş olur (Burton et al., 2005).

Patolojik olmayan 2ml'lik *E.coli Nissle 1917* bakteri süspansiyonu (Mutaflor, Ardeypharm, Germany) ile 3 aylık bir tedavi sonrasında 9,5 yaşındaki kız hastada ağız kokusunun önemli miktarda azaldığı ve 4 yıllık takip sonunda tekrar ağız kokusuna sahip olmadığı bildirilmiştir (Henker et al., 2001).

Ağız kokusunun tedavisi ve önlenmesi için en uygun bakterinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, 4-7 yaşlarındaki 460 anaokulu öğrencisinden alınan tükürük örneklerinde *W.cibaria CMU*'nun, *F.nucleatum*'u ve oluşturduğu uçucu sülfür bileşiklerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Daha sonra araştırmacılar *W.cibaria CMU* ve distile su kullanarak bir gargara hazırlamışlardır. Araştırmacılar, bu gargaranın ağız kokusuna etkisini incelemek amacıyla yaşları 20-30 arasında değişen 46 diş hekimliği öğrencisini 3 gruba ayırmışlar, deney grubuna hazırladıkları gargarayı ve kontrol gruplarından birisine sadece distile suyu ve diğerine ticari olarak yoğurt içerisinde bulunan *L.casei*, *Weissalla confusa* ve distile su ile hazırladıkları gargarayı günde 2 defa ikişer dakika yaptırmışlardır. Çalışmanın ilk günü ve ikinci günü, gargara yapılmadan önce gaz kromatografisi kullanılarak katılımcıların ağız boşluğundaki uçucu sülfür bileşiklerinin miktarı değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, deney grubunda, hidrojen sülfid gazının %48,2 ve metil merkaptan gazının %59,4 oranında azaldığını göstermişlerdir. Kontrol gruplarının her ikisinde de bu gazların oranlarında anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir. (Kang et al., 2006b).

Tayland'ta fermente bir balıktan izole edilen *W.cibaria 110*'un, *Weissellicin 110* adı verilen bir bakteriyosin ürettiği ve bu bakteriyosinin bazı gram pozitif bakterilerin önlediği gösterilmiştir (Sriannual et al., 2007).

*S.salivarius*, ağız kokusu görülmeyen insanlarda dil dorsumundan sıklıkla izole edilen mikroorganizma türüdür (Kazor et al., 2003). *S.salivarius*'un ağız kokusunu önlemedeki etkinliğini belirlemek için yapılan bir in vivo çalışmada, yaşları 18-69

arasında değişen 23 katılımcı iki gruba ayrılmış, deney grubuna  $1 \times 10^9$  koloni/birim *S.salivarius K12* içeren pastil ve kontrol grubuna ise plasebo pastil verilmiştir. *S.salivarius K12*'nin, iki çeşit bakteriyosin üreterek *Streptococcus anginosus*, *Eubacterium saburreum* ve *Peptostreptococcus micros (P.micros)*'u inhibe ettiği, ancak *P.gingivalis* ve *P.intermedia*'yı inhibe edemediği gösterilmiştir. Deney öncesinde tüm katılımcılar, diş macunu ile 2 dakika dişlerini ve dilini firalamış, 30 saniye plastik dil firası ile dilini firalamış ve son olarak %2'lik klorheksidin ile 30 saniye ağzını alkalamıştır. Tüm bu işlemlerden 2 saat sonra katılımcılara pastilleri verilmiştir. Deneyin 2. ve 3. gününde de sabah ve akşam dişlerin firalanmasından sonra klorheksidin ile gargara yapılmış ve günde iki defa pastil kullanılmıştır. Daha sonra katılımcılar, bir hafta süre ile sabah ve akşam dişlerini firladıktan sonra pastillerini almışlardır. Çalışma sonucunda, deney grubunun %85'inde ve kontrol grubunun %30'unda uçucu sülfür gazının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Ancak etkinin sürekli olması için uygulamanın tekrarlanması gerektiği vurgulanmıştır (Burton et al., 2006). *S.salivarius*'un ürettiği bakteriyosinler, uçucu sülfür bileşiklerini meydana getiren bakterilerin sayısının azaltılmasında etkili olduğu, başka bir çalışmada da gösterilmiştir (Hyink et al., 2007) .

Yapılan başka bir çalışmada,  $1 \times 10^{10}$  KOB *S.salivarius K12* içeren tabletlerin (BLIS K12 Throat Guard, BLIS Technologies Limited, Wellington, New Zealand) kullanımı sonucunda ağz kokusunda azalma olduğu gösterilmiştir (Horz et al., 2007).

## **2.5.Probiyotik Bakterilerin Güvenirliliği**

### **2.5.1.Probiyotik Bakterilerin Sistemik Yan Etkileri**

Bir probiyotik zincirinin FAO (United Nations Food and Agriculture Organization) ve WHO (World Health Organisation) tarafından güvenli olarak tanımlanabilmesi için, belirlenen, antibiyotik direnç testlerinden geçmesi, metabolik aktivitesi, toksin üretimi, hemolitik aktivitesi, bağışıklık sisteminde sorun olan

hayvanları enfekte etme potansiyeli, insanlardaki yan etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Probiyotik laktobasil ve bifidobakteriler, memeli mikrobiotasına faydalı bir şekilde onlarla yaşadıkları için, insanlar tarafından uzun yıllardır yiyeceklerin içerisinde ve kapsül şeklinde güvenle alınmaktadır (Adams and Marteau, 1995, Naidu et al., 1999, Reid, 2002). Probiyotik özellik gösteren bifidobakteriler, güvenilir olarak değerlendirilmekte ve süt bazlı bebek mamalarında kullanılmaktadırlar (Saavedra et al., 2004). Ancak, nadir görülen sistemik enfeksiyonlar şeklinde yan etkiler görülebilmektedir. Özellikle, bağışıklık sistemi ile ilgili problemi olan hastalara, bağırsak kanaması görülen ve artriti olan hastalara probiyotik verilirken dikkat edilmelidir (Mackie et al., 1999, Rautio et al., 1999, Marteau, 2002).

Özellikle probiyotik bakteri *Enterococcus spp.* kullanımında dikkatli olunmalıdır. Çünkü, bu bakteri hastane enfeksiyonunun en önemli nedenidir ve vankomisine çok dirençlidir (Gardiner et al., 2002). *S.boulardii* ise probiyotik bakteri olarak sıklıkla kullanılır ancak, tekrarlayan mantar enfeksiyonuna neden olabilir (Hennequin et al., 2000).

### **2.5.2.Probiyotik Bakterilerin Oral Kavitedeki Yan Etkileri**

Probiyotik bakterilerin ağız içindeki potansiyel yan etkileriyle ilgili kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Sıklıkla kullanılan probiyotik türler olan laktobasiller ve bifidobakterilerin asidojeniteleri araştırılmamıştır (Haukioja, 2010).

Yapılan bir çalışmada, probiyotik bakteri *Lactobacillus salivarius 1952R*'nin rat dişleri üzerindeki karyojenitesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 18-22 günlük ratlarda 5 gün *Lactobacillus salivarius 1952R* kullanımının, diş çürüğü oluşumunu önemli derecede arttırdığı ve *Lactobacillus salivarius 1952R* ile birlikte *S.mutans MT8148R*'nin çürük oluşumunda daha etkili oldukları gösterilmiştir. Bu durum, *Lactobacillus salivarius 1952R*'nin tükürükle kaplı hidroksiapatite daha iyi tutunmasıyla açıklanmıştır (Matsumoto et al., 2005).

*Lactobacillus salivarius W24*'ün yapay tükürük içerisindeki hidrokasiapatit içeren diskler üzerine ilave edilmesiyle ortamda sükröz varlığında pH'yı düşürerek karyojeniteyi arttırdığı gösterilmiştir (Pham et al., 2009).

Sağlıklı insanlarda, yedi çeşit probiyotik laktobasil zincirinin birlikte kullanıldığı bir çalışmada, tükürükteki laktobasil sayısı artarken *S.mutans* sayısında bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Montalto et al., 2004).

*Streptococcus uberis KJ2sm*, *Streptococcus oralis KJ3sm* ve *Streptococcus rattus JH145* içeren ProBiora<sup>3</sup> (Oragenics Inc., Alachua, FL, USA) isimli gargaranın, düşük dozdan başlanarak ( $10^6$ KOB) yüksek doza ( $10^8$ KOB) doğru 8 ay boyunca günde iki defa kullanılmasıyla, klinik olarak hafif sınıflamasına giren boğaz ağrısı, baş ağrısı ve karın ağrıları görülmüştür (Zahradnik et al., 2009).

### 3.GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan onay alınmıştır (izin no: 23.06.2009-04/32) Ayrıca, uygulamaların öncesinde, yapılacak olan işlemler hakkında hasta ve ebeveynler bilgilendirilmiş ve ebeveynlerin yazılı izinleri alınmıştır. Çalışma, in vitro ve in vivo olmak üzere iki kısımda gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. İn Vitro Çalışma

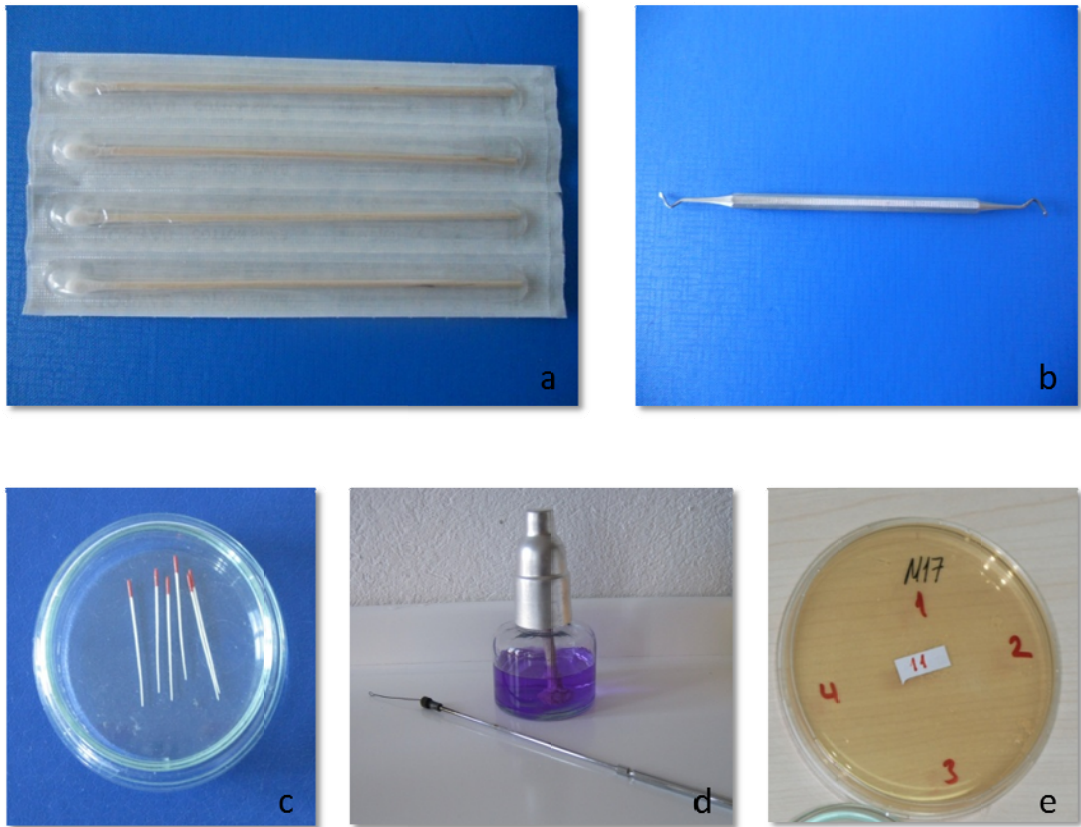
Bu çalışma ile doğal ağız florasından izole edilen laktik asit ve *S.mutans* bakterileri ve daha önceden et örneklerinden izole edilmiş olan laktik asit bakterileri arasından, diş yüzeyine en iyi tutunan laktik asit bakterisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

##### 3.1.1. Doğal ağız florasından laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin izole edilmesi

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Kliniği'ne başvuran hastalardan rastgele seçilmiş olan sistemik olarak sağlıklı, yaşları 4-16 arasında değişen, 6'sı kız, toplam 13 çocuk hastadan, steril şartlarda tükürük, diş çürüğü, plak ve diş eti oluşu sıvısı örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerle, mikrobiyolojik tanımlama için kod verilmiştir.

Örnekleme yapılmadan önce her çocuk için, ebeveyniyle birlikte bir anamnez formu doldurulmuştur. Hastanın kimlik bilgileri, sosyo-ekonomik düzeyi, doğum şekli, anne sütü alma süresi, en son tükettiği süt ürünü ve zamanı, ağız içerisinden kültür alınan bölge ve kullanılan besi yeri hazırlanan bu forma kaydedilmiştir. Tükürük örneği, steril eküvyon yardımıyla sublingual bölgeden; diş çürüğü örneği, steril ekskavator yardımıyla akut dentin çürüğünden; diş plağı örneği steril eküvyon yardımıyla kesicilerin veya daimi birinci büyük azıların veya süt ikinci molar dişlerin bukkal yüzeyinden ve diş eti oluşu sıvısı ise steril kağıt koniler yardımıyla kesici

dişler bölgesinden alınmıştır. Alınan mikrobiyal örnekler, MRS agar, M17 agar ve Patates Dekstroz Agar (PDA) agar plaklara steril öze ile ekilerek anaerobik koşullarda, M17 agar ve MRS agar için 35°C’de 48 saat, PDA agar için 25°C’de 5 gün süre ile inkübe edilmiştir (Resim 1). İnkübasyondan sonra besi yerleri soğuk zincirde taşınarak Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı’na ulaştırılmıştır. Burada gelişen kolonilerden, MRS agar ve M17 agar plaklarından farklı koloni özellikleri gösterenler aynı besi yerlerine ekilerek 35-37°C’de 48 saat anaerobik inkübatörde inkübe edilmiştir. Saf olan kültürler, %20’lik gliserol içinde -86 °C’de stoklanmıştır. Daha sonra bu kültürlerin tanımlaması moleküler düzeyde, biyokimyasal testlerle yapılmış ve riboprinter ile kontrol edilmiştir.



Resim 1: Doğal ağız florasından mikrobiyal örnek alımında kullanılan malzemeler. a: Steril eküvyon, b: Steril ekskavatör, c: Steril kağıt koni, d: Steril öze, e: Besi yeri



Doğal ağız florasından izole edilen laktik asit ve *S.mutans* bakterileri arasından diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisinin belirlenmesi için, diş yüzeyine tutunum çalışması gerçekleştirilmiştir. İn vitro çalışma sonucunda, diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisi belirlenmiş ve bu bakteri in vivo çalışmada kullanılmıştır.

### **3.1.2.İzole edilen laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin diş yüzeyine tutunması**

Doğal ağız florasından izole edilen ve tanımlamaları yapılan *S.mutans* ile laktik asit bakterileri ve Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarında daha önceden et örneklerinden izole edilen laktik asit bakterileri, diş yüzeyine tutunum deneyi için laboratuvarında geliştirilmiştir. Bu deneyde, 12 tanesi ağız içinden ve 10 tanesi et örneklerinden olmak üzere toplam 22 laktik asit bakterisi ve ağızdan izole edilen iki *S.mutans* bakterisi kullanılmıştır.

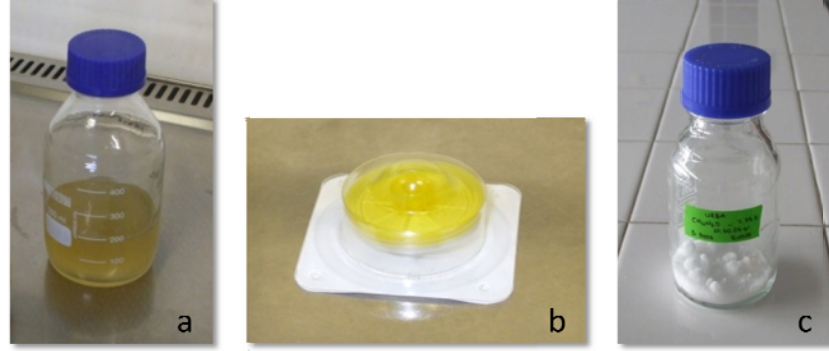
Laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin diş yüzeyine tutunumunu araştırmak için, çekilmiş çürüksüz dişler kullanılmıştır. Dişler, yumuşak doku artıklarından bir kretuar yardımıyla temizlenmiş ve deney başlayıncaya kadar serum fizyolojik içerisinde bekletilmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin diş yüzeyine tutunma konusunda, *S.mutans*'a karşı gösterdikleri yarışma incelemek ve en iyi tutunan laktik asit bakterisini belirlemek için, diş tutunum deneyleri, 2 farklı yöntemle gerçekleştirilmiş ve işlemler iki defa tekrarlanmıştır.

#### **3.1.2.1.Birinci Yöntem**

Bu deneyde, daha önceden kullanılan bir yöntem uygulanmıştır (Erten, 2005). Deneye başlamadan önce, kullanılacak olan yapay tükürük, fosfatla tamponlanmış salin (Phosphate Buffered Saline-PBS) ve fizyolojik tuzlu su (FTS) hazırlanmış ve diğer mikrobiyolojik malzemeler ise hazır olarak kullanılmıştır.

Yapay tükürük; %0,1 et ekstraktı , %0,2 maya ekstraktı , %0,5 proteoz pepton, %0,25 porcine gastrik mukoza, 6.00 mmol /NaCl, 1.8 mmol/CaCl<sub>2</sub>, 2.7 mmol/KCl ve 1 litre distile su ile hazırlanmıştır (Guan et al., 2001). Bu karışım, 121 °C'de 20 dakika otoklavlanmış ve kullanımdan hemen önce 0.45'lik steril filtreden geçirildikten sonra %40'luk üre çözeltilisinden 125 ml eklenmiştir (Resim 2).



Resim 2: Yapay tükürük hazırlanması. a: Yapay tükürük, b: Steril filtre, c: Üre çözeltisi

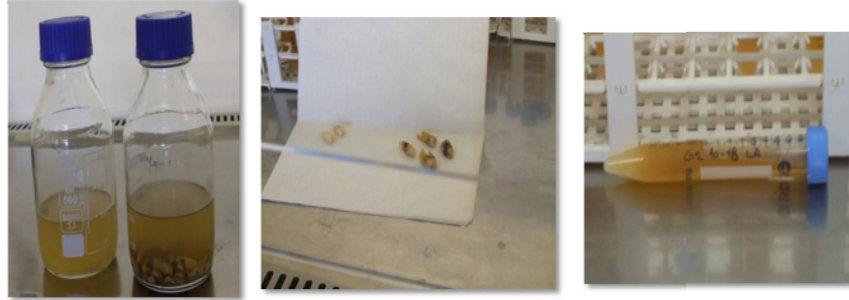
PBS; 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 800 ml distile su ile hazırlanmıştır. Kimyasal maddeler distile suda çözüldükten sonra, karışımın pH'sı 7.4±0.2 olarak ayarlanmıştır. Karışımın hacmi 1000 ml'ye tamamlandıktan sonra 121 °C'de 20 dakika steril edilmiştir (Sambrook et al., 1989)

FTS; 1000 ml distile suya, 8,5 g NaCl eklenerek hazırlanmıştır.

Bu deneyde, 22 laktik asit bakteri kültürü için MRS agar ve iki *S.mutans* kültürü için Mitis Salivarius (MS) agar besi yeri olarak kullanılmıştır. Çürüğü olmayan 66 adet çekilmiş diş ile diş yüzeyine tutunum deneyi gerçekleştirilmiştir.

Çekilmiş dişler, deneyden önce 24 saat FTS içerisinde bekletilmiş ve 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. FTS içerisindeki dişler, deney günü steril yapay tükürük içerisine alınmış ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra aseptik koşullarda, dişler steril pensle yapay tükürük içerisinden alınmış ve steril kurutma kağıdında suyu giderildikten sonra, laktik asit bakteri solüsyonu içerisine alınmıştır (Resim 3). Flakonlar, 37 °C'de 4 saat inkübe edildikten sonra, aseptik koşullarda, dişler steril pensle laktik asit bakteri solüsyonu içerisinden alınmış ve steril kurutma kağıdında suyu giderildikten sonra, her bir diş bir flakonda olacak

şekilde streptokok solüsyonunun içerisine alınmıştır. Streptokok solüsyonu içerisindeki dişler de (Resim 4) 37 °C’de 4 saat inkübe edilmiştir. Dişler, aseptik koşullarda streptokok solüsyonundan çıkarılmış ve kurutma kağıdı ile suları giderildikten sonra 10 ml’lik PBS solüsyonu içerisine alınmıştır. Diş yüzeyine tutunan mikroorganizmaların PBS içinde dağılması için flakonlar vorteks cihazında (Vitek Bio-merieux/France) 1 dakika çalkalanmıştır (Resim 5). Buradan, içerisinde PBS bulunan ependorf tüpleri kullanılarak 10<sup>6</sup>’ya kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Laktik asit bakterileri için MRS agar besiyerine ve streptokoklar için MS agar besiyerine damlatma kültür yöntemiyle dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Besiyerleri 37 °C’de 48 saat anaerobik şartlarda inkübe edilmiş (Resim 6) ve inkübasyondan sonra mikroorganizma sayımları yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir (Resim 7).



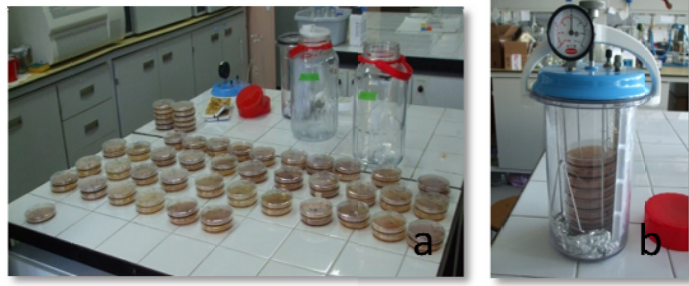
Resim 3: Dişlerin laktik asit bakteri süspansiyonu içerisine alınması. a: Yapay tükürük içerisindeki dişler, b: Dişlerin suyunun giderilmesi, c: Dişlerin flakon içerisine alınması.



Resim 4: Streptokok solüsyonu içerisindeki dişler.



Resim 5: Flakonların vorteks cihazında çalkalanması.



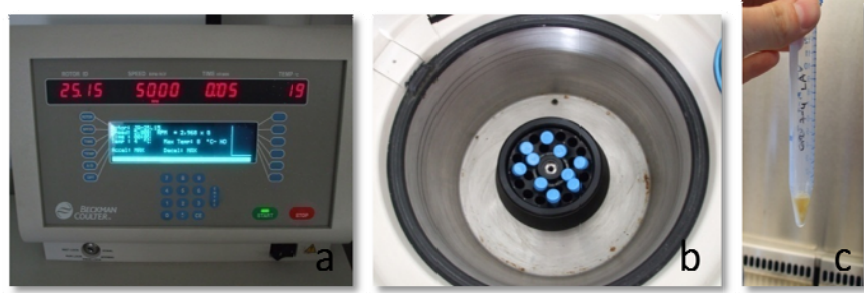
Resim 6: a: Besi yerlerinin inkübasyon öncesi görünümü, b: Anaerobik jar içerisindeki besi yerlerinin görünümü



Resim 7: İnkübasyondan sonra besi yerinin görünümü

### 3.1.2.2.Yoğunluk Deneyi

Diş yüzeyine tutunan laktik asit bakterilerinin miktarını belirlemek için, laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin başlangıç yoğunluklarının bilinmesi önemlidir. Başlangıç yoğunlukları belirlenirken, birinci deneyle paralel bir çalışma yürütülmüştür. Yoğunluğun belirlenmesi için, bakteri kültürünün bulunduğu 12 ml'lik flakonlar 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir (Resim 8). Santrifüj sonrasında, bakteriler flakonun en alt kısmında toplanmış ve süpernatant olarak adlandırılan üst kısımdaki sıvı kısım dökülmüştür. Kalan bakteri süspansiyonu (pelet), 5 ml PBS ile yıkandıktan sonra, tekrar aynı işlem uygulanmıştır. Daha sonra pelet, 12ml PBS'de sulandırılmış ve buradan  $10^{10}$ 'a kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. MRS ve MS plaklara damlatma kültür yöntemiyle ekim yapılmış ve bakterilerin başlangıç yoğunlukları belirlenmiştir.



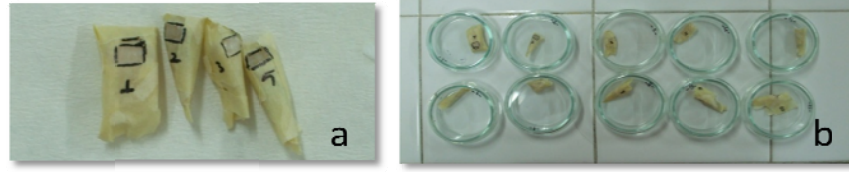
Resim 8: Bakteri yoğunluklarını belirlemek için yapılan santrifüj işlemi. a: Santrifüj cihazı, b: Santrifüj cihazındaki flakonlar, c: Santrifüj sonrası flakon.

### 3.1.2.3.İkinci Yöntem

Deneye başlamadan önce, deneyde kullanılacak olan PBS ve FTS hazırlanmış ve diğer mikrobiyolojik malzemeler hazır olarak kullanılmıştır.

Bu deneyde birinci yöntemde olduğu gibi, besi yeri olarak, 22 laktik asit bakteri kültürü için MRS agar ve iki *S.mutans* kültürü için MS agar kullanılmıştır. Çalışma, çürüğü bulunmayan 22 adet çekilmiş diş ile gerçekleştirilmiştir. Daha önceden hazırlanmış  $10 \text{ mm}^2$ 'lik etiketler, dişlerin kuron kısmına yapıştırılmış, kalan

kısım otoklav bandı ile kaplanmış ve etiketler kaldırılarak, tüm dişlerin yüzeyinde aynı ölçüde alanların açıkta kalması sağlanmıştır. Dişlerin her biri ayrı petri kaplarında steril edilmiştir (Resim 9).

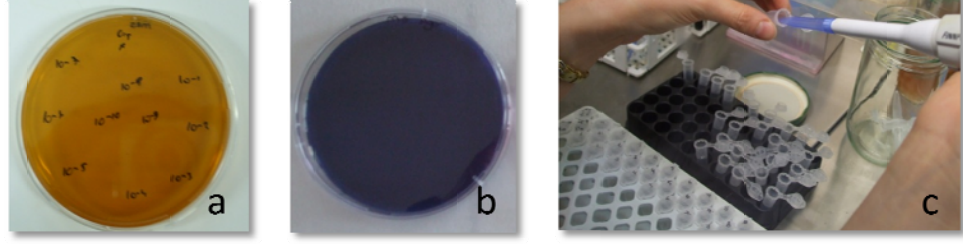


Resim 9: Dişlerin deney için hazırlanması. a: İşleme hazır dişler, b: Steril edilmiş dişler.

12 ml'de geliştirilen laktobasil kültürleri 5000 rpm'de 5dk santrifüj edilmiş ve iki defa PBS içinde yıkanmıştır. Her yıkamadan sonra santrifüj işlemi tekrar edilmiştir. Yoğunluğu,  $10^6$ - $10^8$  olacak şekilde ayarlanmış laktik asit bakteri süspansiyonu,  $10 \text{ mm}^2$ 'lik diş yüzeyine 20 mikrolitre olacak şekilde damlatılmıştır. Dişler daha sonra  $37^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, işaretli bölge steril FTS ile yıkanmış, Mc Farland cihazında (Vitek Bio-Merieux/France) (Resim 10) yoğunluğu  $10^8$ 'e ayarlanan streptokok solüsyonundan, 20 mikrolitre her bir dişin işaretli bölgesine damlatılmıştır.  $37^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika inkübasyondan sonra dişler 3 ml'lik steril FTS içerisine alınmış ve buradan  $10^6$ 'ya kadar seri dilüsyonlar yapıldıktan sonra laktik asit bakterileri için MRS agara ve streptokoklar için MS agara damlatma kültür yöntemiyle ekimler yapılmıştır (Resim 11). Ekimler tamamlandıktan sonra, 48 saat  $37^\circ\text{C}$ 'de anaerobik koşullarda inkübasyon yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.



Resim 10: Mc Farland Cihazı



Resim 11: Besi yerleri ve ekimin yapılması. a: MRS besiyeri, b:MS besiyeri, c: Damlatma kültür yöntemi ile ekim.

Her iki yöntemde de dış yüzeyine *S.mutans* tutunumunu azaltarak, kendisi yüksek miktarda tutunan laktik asit bakterisi belirlenmiştir. Bu laktik asit bakterisi, in vivo çalışmada başlangıç kültürü olarak kullanılmıştır.

### **3.1.3.Taramalı elektron mikroskopunda (TEM) mikroorganizmaların incelenmesi**

Dış yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisi ve *S.mutans* bakterisi ile birinci deney tekrarlanmış ve deneyin son kısmında, TEM kullanılarak dış yüzeyindeki mikroorganizmalar görüntülenmiştir.

### **3.2. İn Vivo Çalışma**

Çalışmanın bu kısmında, daha önceden in vitro olarak diş yüzeyine en iyi tutunumu göstermiş olan laktik asit bakterisinin, in vivo olarak oral kolonizasyonu ve *S.mutans* bakterisi ile rekabeti incelenmiştir.

Randomize, çift körlemeli ve plasebo kontrollü olarak yürütülen çalışma, 3 kısımdan oluşmaktadır:

#### **3.2.1. Hazırlık Periyodu**

Bu periyotta, çocukların ağız içi muayeneleri yapıldıktan sonra çalışma grupları oluşturulmuş ve kullanılacak olan gargara tozu hazırlanmıştır.

##### **3.2.1.1. Çocukların ağız içi muayenelerinin yapılması ve çalışma gruplarının oluşturulması**

Ağız içi muayene işlemi, gerekli onamlar alındıktan sonra bir ilköğretim okulunda gerçekleştirilmiştir. Çalışma için, 10-11 yaş grubundaki öğrenciler seçilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, öğrenciler, öğretmenler ve ebeveynler okulun seminer salonuna davet edilmiş ve ağız-diş sağlığı, diş fırçalama, probiyotikler ve yapılacak olan çalışma hakkında bilgilendirici sunumlardan ilki gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, ebeveynlere, çocuklarıyla ilgili kişisel bilgi formları verilmiş, formu çocuklarıyla birlikte doldurmaları ve üç gün sonra iade etmeleri istenmiştir (Ek 1). Formu eksiksiz olarak dolduran ve çalışma koşullarını kabul eden ebeveynler ve çocukları çalışmaya dahil edilmiştir. Okulda, 10-11 yaş grubunda bulunan toplam 127 öğrenciden, 117'sinin (58 erkek, 59 kız) ebeveyni verilen formu eksiksiz olarak doldurmuş ve hem çocuk hem de ebeveyni çalışma koşullarını kabul etmiştir.

Çalışmayı kabul eden 117 öğrencinin, ağız içi muayeneleri, gün ışığında, steril ayna ve sond yardımıyla tek bir hekim tarafından gerçekleştirilmiştir. Muayene



sırasında tüm dişlerin yüzeyleri diş çürüğü, dental plak açısından ve çeneler arası ilişki ortodontik açıdan değerlendirilmiş ve anamnez formlarına kaydedilmiştir (Ek 2).

Muayene sonrasında doldurulan formlar değerlendirilmiş, çalışma kriterlerine uygun olan, 10 yaş grubundan 19 öğrenci ve 11 yaş grubundan 21 öğrenci olmak üzere toplam 40 öğrenci çalışma için seçilmiştir. Bu öğrenciler için uygulanan seçim kriterleri şunlardır:

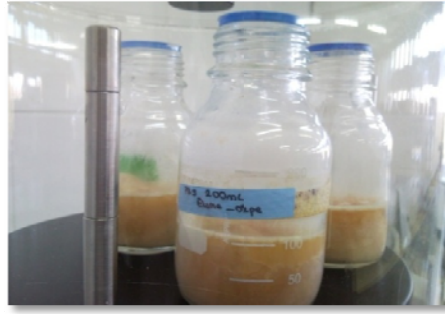
- 1-Sistemik olarak sağlıklı olması,
- 2-Günde bir defa dişlerini fırçalıyor olması,
- 3-Son bir ay içinde antibiyotik kullanmamış olması,
- 4-Son bir ay içinde probiyotik içeren süt ürünlerini kullanmamış olması,
- 5-Son bir ay içinde flor tedavisi almamış olması,
- 6-Dişlerinde 5-7 adet dentin çürüğü bulunması.

### **3.2.1.2.Gargara tozunun hazırlanması**

Doğal ağız florasından izole edilen ve çalışmanın in vitro kısmında diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisi, yoğunluğu  $10^8$  olacak şekilde ayarlandıktan sonra, 200 ml'lik 10 ayrı şişede, yüksek vakum altında  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de liyofilizatörde (Christ Alpha 1-4 Freeze Dryer/UK) dondurularak kurutulmuştur (Resim 12, 13). Liyofilizasyon işlemi 48 saat sürmüştür. Çalkalama solüsyonunun taze olarak kullanılması gerektiğinden, içinde gargara tozlarının bulunduğu şişeler, liyofilizatörden alındıktan sonra, kullanım zamanlarına kadar  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.



Resim 12: Liyofilizatör



Resim 13: Hazırlanan gargara tozları

### 3.2.2.Uygulama Periyodu

Çalışma için seçilen 40 öğrenci, çalışma ve kontrol grubu olmak üzere rastgele iki gruba ayrılmıştır. Çalışmaya, her grupta 20 kişi ile başlanmıştır.

Çalışma grubu: On yaş grubundan 10 öğrenci ve 11 yaş grubundan 10 öğrenci olmak üzere toplam 20 öğrenciden oluşmaktadır.

Kontrol grubu: On yaş grubundan 9 öğrenci ve 11 yaş grubundan 11 öğrenci olmak üzere toplam 20 öğrenciden oluşmaktadır.

Uygulama periyodu, 2 hafta sürmüştür. Uygulama, okulda hazırlanan özel bir salonda, çalışma yürütücüsü ve öğretmen gözetiminde her gün aynı saatte yapılmıştır.

Uygulamanın birinci günü, öğrenciler gruplar halinde alınarak yapılacak işlemler konusunda tekrar bilgilendirilmiş ve öğrencilere ikişer adet aynı tip diş

fırçası ve diş macunu verilmiştir. Fırça ve macunların birer tanesi evde kullanılmak üzere öğrencilere verilirken, diğer fırça ve macun, üzerinde etiketler olan özel kutulara konularak okulda muhafaza edilmiştir (Resim 14).



Resim 14: Fırça-macun kutusu



Resim 15: Steril tükürük kapları

Çalışmanın bu kısmında, yapılan işlemlerin tekrarlayan şekilde yazılmasını önlemek için, işlemler a ve b olmak üzere kodlanmıştır. Tükürük örneklerinin alınması ve sonra diş fırçalamayı takiben gargara işleminin yaptırılması “işlem a” olarak kodlanmıştır. “İşlem b” ise, tükürük örneğinin alınmadığı ancak, diş fırçalamayı takiben gargara uygulamasının yapıldığı işlemleri göstermektedir.

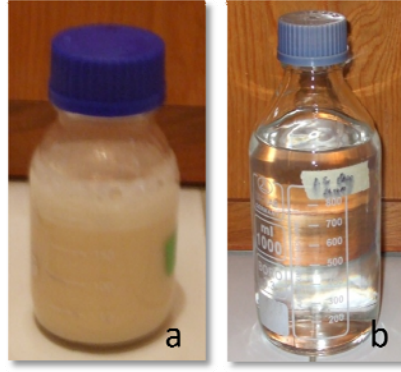
**İşlem a-)** Çalışmanın ilk günü, her iki grubun da doğal ağız mikroflorasını belirlemek amacıyla, dişler fırçalanmadan önce parafinle stimüle edilmiş tükürük örnekleri, steril kaplar içerisine alınmıştır (Resim 15). Tükürük örnekleri, alındıktan hemen sonra, steril pipetlerle, bir yüzü laktik asit bakterisi ve diğer yüzü *S.mutans* için seçici besi yeri olma özelliği gösteren mikrobiyolojik test kitlerine (CRT bacteria refill- Ivoclar Vivadent- Liechtenstein) yaydırılmış (Resim 16a), kitlerin ağzı sıkı bir biçimde kapatılmıştır. Test kitleri, Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji

Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarına götürülerek 37 °C'deki etüve konulmuş, burada 48 saat inkübe edilmiştir (Resim 16b). İnkübasyondan sonra üretici firmanın skalasına göre mikrobiyolojik değerlendirmeleri yapılmıştır (Resim 16c).



Resim 16: Mikrobiyolojik bakteri kiti. a: CRT kit, b: Etüve kaldırılmış bakteri kitleri, c: Bakteri kiti skalası

**İşlem b-)** Tükürük örneklerinin alınmasından sonra, öğrenciler, kendileri için hazırlanan özel bölmelerde, çalışma yürütücüsünün denetiminde, daha önce anlatıldığı şekilde 2 dakika dişlerini fırçalamışlardır. Diş fırçalama işlemi tamamlandıktan sonra, çalışma grubu için canlı bakteri içeren, +4 °C'de saklanan, özel olarak hazırlanmış toz, kullanımdan hemen önce 200 ml distile su ile sulandırılmıştır (Resim 17a). Solüsyon, çalışma grubundaki her öğrenciye, steril enjektör yardımıyla, 10 ml olacak şekilde tek kullanımlık kapların içerisine konularak verilmiştir. Kontrol grubuna ise, 200 ml'lik distile su, her öğrenci için 10'ar ml olacak şekilde kaplara konularak verilmiştir (Resim 17b). Çalkalama solüsyonlarının konulduğu kaplar, kabın içindeki sıvının rengini belli etmeyecek şekildedir. Çalkalama işlemi, çalışma ve kontrol gruplarını salona ayrı ayrı olarak iki seferde tamamlanmıştır (Resim 18).



Resim 17: alkalama solusyonları. a: Canlı bakteri içeren gargara, b: Distile su



Resim 18: Çalışma grubu

Öğrenciler alkalama işlemine, bir zil sesiyle başlamış ve 30 saniye çalkalama işlemi yaptıktan sonra zil sesiyle işlemi sonlandırmışlardır. Öğrencilere, alkalama işleminden sonra, 1 saat bir şey yiyip içmemeleri gerektiği tekrar hatırlatılmıştır. Böylece, işlem anlatıldığı şekilde tamamlanmıştır. Uygulama periyodu boyunca takip edilen çalışma programı tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Uygulama periyodu boyunca takip edilen çalışma programı.

<b>Uygulama Periyodu Çalışma Programı</b>		
<b>Çalışma Günleri</b>	<b>Çalışma Grubu</b>	<b>Kontrol Grubu</b>
<b>1.Gün</b>	a ve b grubu işlemleri	a ve b grubu işlemleri
<b>2.Gün</b>	b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>3.Gün</b>	b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>4.Gün</b>	b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>5.Gün</b>	a ve b grubu işlemleri	a ve b grubu işlemleri
<b>6.Gün</b>	İşlem yapılmamıştır	İşlem yapılmamıştır
<b>7.Gün</b>	İşlem yapılmamıştır	İşlem yapılmamıştır
<b>8.Gün</b>	a ve b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>9.Gün</b>	b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>10.Gün</b>	b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>11.Gün</b>	b grubu işlemleri	b grubu işlemleri
<b>12.Gün</b>	a ve b grubu işlemleri	a ve b grubu işlemleri

Çalışmanın 2,3 ve 4.günlerinde, her iki grupta da a grubundaki işlemler yapılmamış, sadece b grubundaki işlemler yapılmıştır. Çalışmanın 5.gününde, birinci günde olduğu gibi her iki grupta a ve b grubundaki işlemler tekrarlanmıştır.

İki günlük hafta sonu tatilinde, solüsyon çalkalama işlemi yaptırılmamıştır. Çalışmanın 8.günü, çalışma grubunda a ve b grubundaki işlemler yapılmış, kontrol grubunda ise, sadece b grubundaki işlemler yapılmıştır.

Çalışmanın son gününde (12.gün), her iki grupta a ve b grubu işlemler, birinci günde yapıldığı gibi tekrarlanmıştır.

### **3.2.3.Kontrol periyodu**

Son uygulamadan 1 ay sonra, kontrol işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu süre içerisinde, öğrencilerin geçirdiği enfeksiyonel hastalıklar, probiyotik ürün ve antibiyotik kullanımı sorgulanmıştır ve çalışma kriterlerine uymayan öğrenciler çalışmadan çıkarılmıştır.

Bu periyotta da, uygulama periyodundaki gibi, çalışma ve kontrol grubu öğrencilerinden, parafinle stimüle edilmiş tükürük örnekleri alınmıştır. Tükürük örnekleri steril pipetle mikrobiyolojik test kitlerine yaydırılmış ve kitler etüve kaldırılmıştır. Kırk sekiz saat sonra etüvden çıkarılan kitler mikrobiyolojik olarak, üretici firmanın skalasına göre değerlendirilmiştir.

### **3.3.Kullanılan İstatistiksel Analiz Yöntemleri**

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, SPSS (Statistical Package for Social Science, 17.0 versiyonu, 2010) istatistik programı kullanılmıştır. İn vivo çalışmada, çalışma ve kontrol gruplarına ait ölçümlerin karşılaştırılmasında, nonparametrik bir test olan ve birbirine bağımlı değerlerin karşılaştırılmasında kullanılan Mc Nemar analizi kullanılmıştır. 0,05'ten küçük p değerleri, anlamlı kabul edilmiştir.

## 4.BULGULAR

### 4.1.İn Vitro Çalışma

Araştırmanın bu bölümünde, laktik asit bakterilerinin ve *S.mutans* bakterisinin çekilmiş diş yüzeylerine tutunumu değerlendirilmiştir.

#### 4.1.1.Doğal ağız florasından laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin izole edilmesi

Diş yüzeyine tutunum deneylerinde kullanılmak üzere, laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin izole edildiği 4-16 yaş aralığındaki 13 çocuk hastanın yaş ortalaması 10,54±3,67'dir.

Çalışma sırasında doğal ağız florasından 12 adet laktik asit bakterisi ve 2 adet *S.mutans* bakterisi izole edilmiştir (Tablo-2). İzole edilen laktik asit bakterilerinin *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Pediococcus* türlerinden oluştuğu tanımlama testleriyle belirlenmiştir.

Tablo 2: Doğal ağız florasından izole edilen ve çalışmada kullanılan laktik asit ve *S.mutans* bakterileri.

Hasta örnek no	Laktik asit bakterileri
1.1-2	<i>Lactococcus spp</i>
1.1-4	<i>Lactococcus spp</i>
1.12-3	<i>Pediococcus spp</i>
1.14-1	<i>Lactococcus spp</i>
1.14-2	<i>Lactobacillus spp</i>
1.14-3	<i>Lactobacillus spp</i>
1.15-4	<i>Lactococcus spp</i>
1.16-3	<i>Lactobacillus spp</i>
2.7-4	<i>Lactobacillus spp</i>
2.8-2	<i>Lactobacillus spp</i>
2.8-3	<i>Lactobacillus spp</i>
2.10-1B	<i>Lactobacillus spp</i>
	<b><i>S.mutans</i> bakterileri</b>
2.7-2	<i>Streptococcus mutans</i>
2.4-1	<i>Streptococcus mutans</i>



Önceden et örneklerinden izole edilmiş ve diş yüzeyine tutunum deneyi için kullanılan 10 adet laktik asit bakterisi de tablo-3'te gösterilmiştir. Bu laktik asit bakterilerinin, 7 adeti *Lactobacillus* ve 3 adeti ise *Enterococcus*'tur.

Tablo 3: Et örneklerinden izole edilmiş olan laktik asit bakterileri.

<b>Et örnek no</b>	<b>Laktik asit bakterileri</b>
<b>8.P1.8</b>	<i>Lactobacillus sakei</i>
<b>28.P2.5</b>	<i>Lactobacillus sakei</i>
<b>29.P2.6</b>	<i>Enterococcus faecium</i>
<b>67.P2.22</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<b>150.P6.3</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<b>161.P5.6</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<b>164.P6.5</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<b>167.P6.5</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<b>168.P6.6</b>	<i>Enterococcus faecium</i>
<b>277.S3.11</b>	<i>Enterococcus faecium</i>

Probiyotik özellik gösteren laktik asit bakterilerinin oral kaviteye kolonize olmasında etkili olan yaş, cinsiyet, doğum şekli, anne sütü alma süreleri, en son tükettikleri süt ürünleri ve tüketim zamanları, diş fırçalama alışkanlıkları, izole edilen baskın mikroorganizma türleri ve izolasyonların yapılabildiği ağız içi alanları tablo 4'te gösterilmiştir. Laktik asit bakterilerinin 3'ü tükürük, 5'i diş çürüğü, 3'ü diş plağı ve 1 tanesi diş eti oluğu sıvısı örneklerinden izole edilirken, *S.mutans*'ın bir tanesi diş çürüğü ve diğeri diş eti oluğu sıvısı örneklerinden izole edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin 7 tanesi normal yolla doğmuş çocuklardan ve 5 tanesi sezeryanla doğmuş çocuklardan izole edilmiştir. İzolasyon yapılan çocukların en az bir yıl süreyle anne sütü aldığı öğrenilmiştir. Normal ağız florasından izole edilen toplam 12 adet laktik asit bakterisinin 7 tanesi, örneğin alındığı sabah süt ürünü tüketen çocuklardan elde edilmiş olup, kalan 5 bakteri ise en son bir gün önce süt ürünü tüketen çocuklardan izole edilmiştir. Örnek alınan çocukların, diş fırçalama alışkanlıklarının, benzer olduğu görülmüştür (Tablo 4).

Tablo 4: Doğal ağız florasından örnek alınan çocukların anamnez bilgileri

Katılımcı no	Yaş	Cinsiyet	Doğum şekli	Anne sütü alma süresi	En son tükettiği süt ürünü	Diş fırçalama sıklığı	İzole edilen mikroorganizma türü	Dört farklı bölge arasından bakteriyel izolasyonun yapılabildiği alan
1	9	erkek	normal	1,5 yıl	2 saat önce bir su bardağı süt	Ara-sıra	2 adet <i>LAB</i> (laktik asit bakterisi) (1.1-2, 1.1-4)	Tükürük
1	9	erkek	normal	1,5 yıl	2 saat önce bir su bardağı süt	Ara-sıra	1 adet <i>S.mutans</i> (2.4-1)	Diş (dentin çürüğü)
2	10	erkek	sezeryan	1,5 yıl	12 saat önce bir kase yoğurt	Ara-sıra	*	*
3	15	kız	normal	3 ay	2 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	*	*
4	12	kız	sezeryan	1 yıl	12 saat önce bir kase yoğurt	Ara-sıra	1 adet <i>LAB</i> (1.12-3)	Diş (diş plağı)
4	12	kız	sezeryan	1 yıl	12 saat önce bir kase yoğurt	Ara-sıra	3 adet <i>LAB</i> (1.14-1, 1.14-2, 1.14-3)	Diş (dentin çürüğü)
5	15	erkek	normal	1 yıl	2 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	1 adet <i>LAB</i> (1.15-4)	Tükürük
5	15	erkek	normal	1 yıl	2 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	1 adet <i>LAB</i> (1.16-3)	Diş (diş plağı)

\* İzolasyon yapılamayan çocukları göstermektedir.

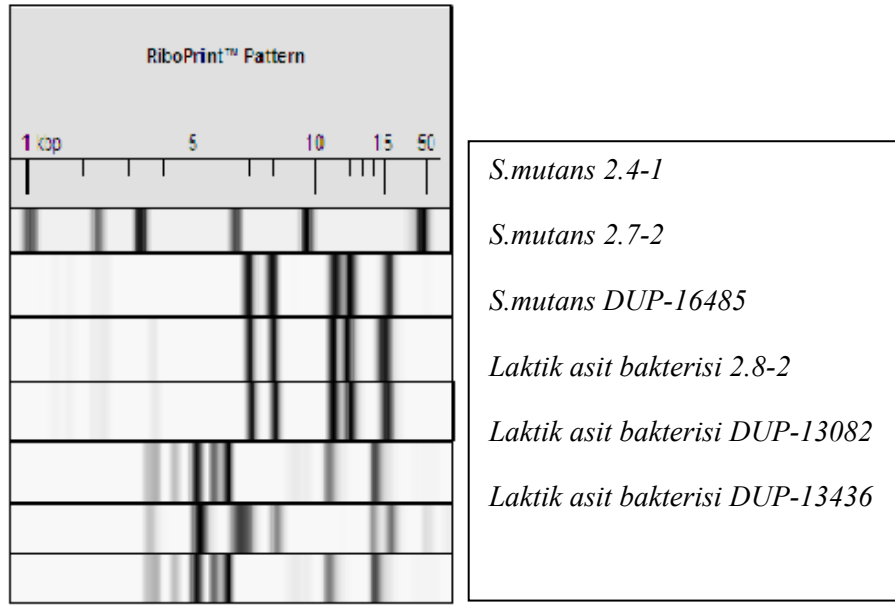
Tablo 4 (devamı): Doğal ağız florasından örnek alınan çocukların anamnez bilgileri.

6	12	erkek	normal	2 ay	12 saat önce bir su bardağı süt	Ara-sıra	*	*
7	4	erkek	normal	1,5 yıl	2 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	1 adet <i>LAB</i> (2.7-4) 1 adet <i>S.mutans</i> (2.7-2)	Diş eti oluşu sıvısı
7	4	erkek	normal	1,5 yıl	2 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	2adet <i>LAB</i> (2.8-2, 2.8-3)	Diş (dentin çürüğü)
8	16	kız	sezeryan	1,5 yıl	12 saat önce bir su bardağı süt	Ara-sıra	1 adet <i>LAB</i> (2.10-1B)	Diş (diş plağı)
9	6	kız	sezeryan	2 yıl	2 saat önce tereyağı	Ara-sıra	*	*
10	6	kız	normal	1,5 yıl	24 saat önce bir su bardağı süt	Ara-sıra	*	*
11	11	erkek	normal	2 yıl	24 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	*	*
12	11	kız	normal	1,5 yıl	2 saat önce bir kibrit kutusu beyaz peynir	Ara-sıra	*	*
13	10	kız	normal	2 ay	24 saat önce bir su bardağı süt	Ara-sıra	*	*

\* İzolasyon yapılamayan çocukları göstermektedir.

#### 4.1.2. İzole edilen laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin diş yüzeyine tutunması

Laktik asit bakterilerinin ve *S.mutans*'ın diş yüzeyine tutunum deneyinde ise, doğal ağız florasından izole edilen 12 adet laktik asit bakterisi ve 2 adet *S.mutans* bakterisi ile daha önce Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda fermente et ürünlerinden (sucuk, pastırma) izole edilmiş olan 10 adet laktik asit bakterisi kullanılmıştır. Laktik asit bakterilerinin riboprinter ile moleküler düzeyde tanımlamaları yapılmıştır. Tanımlaması yapılarak deneylerde kullanılan izolatlara ait bant profilleri belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında kullanılan laktik asit bakterisi ve *S.mutans* bakterisine ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile standart bant profilleri şekil-1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: Deneylerde kullanılan izolatlara ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile standart bant profilleri.

Çalışmada kullanılan 66 diş ile mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunum deneyleri gerçekleştirilmiştir. Laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin başlangıç yoğunlukları ve aynı ortamda, diş yüzeyine bağlanma konusunda, birbirlerine karşı etkileri (diş yüzeyine tutunan miktar) tablo 5'te gösterilmiştir. Başlangıç yoğunluğu  $1,1 \times 10^8$  olan *Lactobacillus spp* 2.8-2'nin diş yüzeyine yüksek yoğunlukta bağlandığı

(birinci deneyde:  $1 \times 10^5$ ; ikinci deneyde  $4 \times 10^4$ ) ve aynı örnekte başlangıç yoğunluğu  $1 \times 10^8$  olan *S.mutans* 2.4-1'in düşük yoğunlukta (birinci deneyde  $27 \times 10^4$ ; ikinci deneyde  $27 \times 10^2$ ) bağlandığı tablo 5'te görülmektedir. Bu mikroorganizma, çalışmanın ikinci kısmında başlangıç kültürü olarak kullanılmıştır.

Doğal ağız florasından izole edilen laktik asit bakterileri, tükürkle kaplı diş yüzeyine daha yüksek yoğunlukta bağlanırken, et örneklerinden izole edilen laktik asit bakterileri ise, tükürkle kaplı olmayan diş yüzeyine daha yüksek yoğunlukta bağlanmıştır.

Her iki deneyde de diş yüzeyine en yüksek yoğunlukta bağlanan laktik asit bakterisi, *Lactobacillus spp.* 2.8-2 iken, en düşük yoğunlukta bağlanan laktik asit bakterisi ise, 8.P1.8'dir.

Laktik asit bakterilerinin, *S.mutans* bakterisinden bağımsız olarak diş yüzeyine bağlanma durumları değerlendirildiğinde, tükürkle kaplı diş yüzeyine en iyi bağlanan laktik asit bakterilerinin 2.8-2 ve 1.12-3 olduğu ve diş yüzeyine en düşük yoğunlukta bağlanan laktik asit bakterilerinin ise, 164.P6.5 ve 277.S3.11 olduğu belirlenmiştir.

Laktik asit bakterilerinin, tükürkle kaplı olmayan diş yüzeyine bağlanmaları değerlendirildiğinde, en iyi bağlanan laktik asit bakterilerinin 28.P2.5 ve 150.P6.3 olduğu ve diş yüzeyine en düşük yoğunlukta bağlanan laktik asit bakterisinin ise 1.15-4 olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 5: Diş yüzeyine tutunan laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin ilk ve son yoğunlukları.

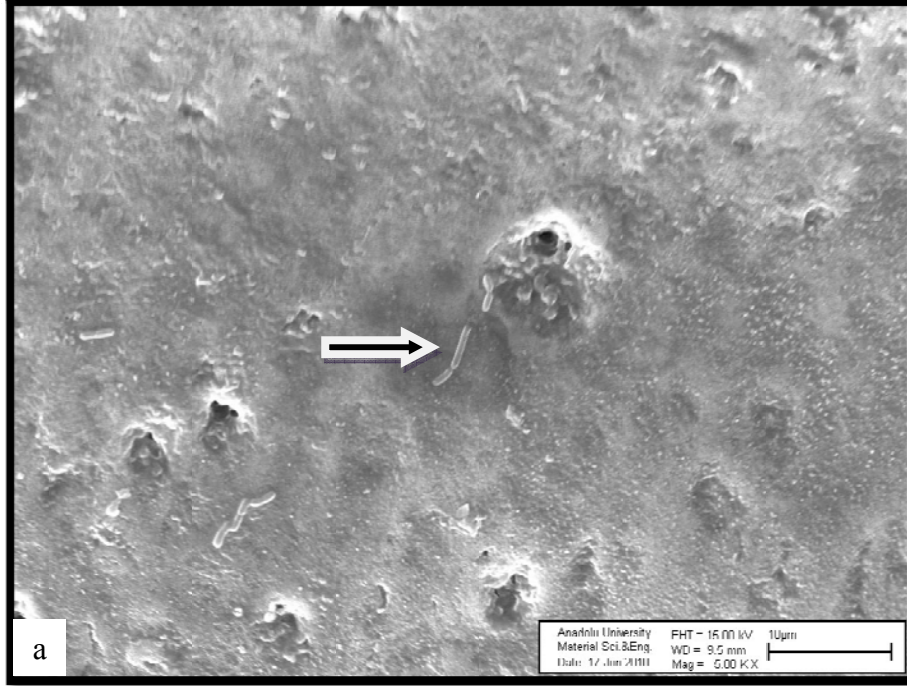
		1. DENEY (KOB/ml)		2. DENEY (KOB/mm <sup>2</sup> )	
Örnek no	Laktik asit bakterisi- <i>S.mutans</i> başlangıç yoğunluğu	Laktik asit bakterisi (yüzey ml)	<i>S.mutans</i> bakterisi (yüzey ml)	Laktik asit bakterisi (kob/10mm <sup>2</sup> )	<i>S.mutans</i> bakterisi (kob/10mm <sup>2</sup> )
1. 1-2 2. 7-2	6x10 <sup>5</sup> 1x10 <sup>8</sup>	24x10 <sup>4</sup>	58x10 <sup>4</sup>	7x10 <sup>2</sup>	22x10 <sup>4</sup>
1. 1-4 2. 4-1	5x10 <sup>8</sup> 1x10 <sup>8</sup>	3x10 <sup>4</sup>	12x10 <sup>4</sup>	1x10 <sup>5</sup>	21x10 <sup>2</sup>
1. 12-3 2. 4-1	3x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	2x10 <sup>5</sup>	17x10 <sup>4</sup>	32x10 <sup>2</sup>	30x10 <sup>2</sup>
1. 14-1 2. 4-1	5x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	83x10 <sup>3</sup>	25x10 <sup>4</sup>	53x10 <sup>3</sup>	38x10 <sup>3</sup>
1. 14-2 2. 4-1	11x10 <sup>8</sup> 1x10 <sup>8</sup>	50x10 <sup>3</sup>	20x10 <sup>4</sup>	8x10 <sup>3</sup>	25x10 <sup>2</sup>
1. 14-3 2. 4-1	5x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	3x10 <sup>4</sup>	8x10 <sup>4</sup>	6x10 <sup>4</sup>	13x10 <sup>4</sup>
1. 15-4 2. 4-1	2x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	15x10 <sup>4</sup>	16x10 <sup>4</sup>	47x10 <sup>1</sup>	13x10 <sup>2</sup>
1. 16-3 2. 7-2	17x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	14x10 <sup>3</sup>	54x10 <sup>3</sup>	*	*
2. 7-4 2. 4-1	5x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	4x10 <sup>2</sup>	27x10 <sup>3</sup>	11x10 <sup>4</sup>	10x10 <sup>4</sup>
2. 8-2 2. 4-1	1,1x10 <sup>8</sup> 1x10 <sup>8</sup>	1x10 <sup>5</sup>	27x10 <sup>4</sup>	4x10 <sup>4</sup>	27x10 <sup>2</sup>
2. 8-3 2. 7-2	22x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	5x10 <sup>5</sup>	30x10 <sup>5</sup>	4x10 <sup>2</sup>	9x10 <sup>2</sup>
2. 10-1B 2. 7-2	†	9x10 <sup>4</sup>	16x10 <sup>5</sup>	4x10 <sup>6</sup>	26x10 <sup>5</sup>
8.P1.8 2. 4-1	1,1x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	19x10 <sup>2</sup>	28x10 <sup>6</sup>	15x10 <sup>2</sup>	24x10 <sup>2</sup>
28.P2.5 2. 4-1	5,8x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	11x10 <sup>3</sup>	11x10 <sup>5</sup>	4x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>
29.P2.6 2. 7-2	8x10 <sup>8</sup> 1x10 <sup>8</sup>	7x10 <sup>5</sup>	45x10 <sup>6</sup>	6x10 <sup>5</sup>	15x10 <sup>2</sup>
67.P2.22 2. 7-2	18x10 <sup>8</sup> 1x10 <sup>8</sup>	24x10 <sup>4</sup>	125x10 <sup>5</sup>	47x10 <sup>3</sup>	24x10 <sup>2</sup>
150.P6.3 2. 4-1	4,4x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	49x10 <sup>2</sup>	21x10 <sup>4</sup>	1x10 <sup>5</sup>	9x10 <sup>5</sup>
161.P5.6 2. 4-1	4x10 <sup>6</sup> 1x10 <sup>8</sup>	24x10 <sup>2</sup>	14x10 <sup>4</sup>	35x10 <sup>4</sup>	26x10 <sup>4</sup>
164.P6.5 2. 7-2	9x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	56x10 <sup>2</sup>	39x10 <sup>6</sup>	19x10 <sup>3</sup>	22x10 <sup>3</sup>
167.P6.5 2. 4-1	5x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	17x10 <sup>3</sup>	35x10 <sup>4</sup>	60x10 <sup>3</sup>	72x10 <sup>3</sup>
168.P6.6 1. 4-2	4x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	24x10 <sup>3</sup>	39x10 <sup>4</sup>	12x10 <sup>3</sup>	10x10 <sup>3</sup>
277.S3.11 2. 7-2	3x10 <sup>7</sup> 1x10 <sup>8</sup>	34x10 <sup>2</sup>	31x10 <sup>3</sup>	21x10 <sup>4</sup>	18x10 <sup>4</sup>

\*: Kontaminasyon şüphesi nedeniyle mikroorganizma sayımı yapılmamıştır.

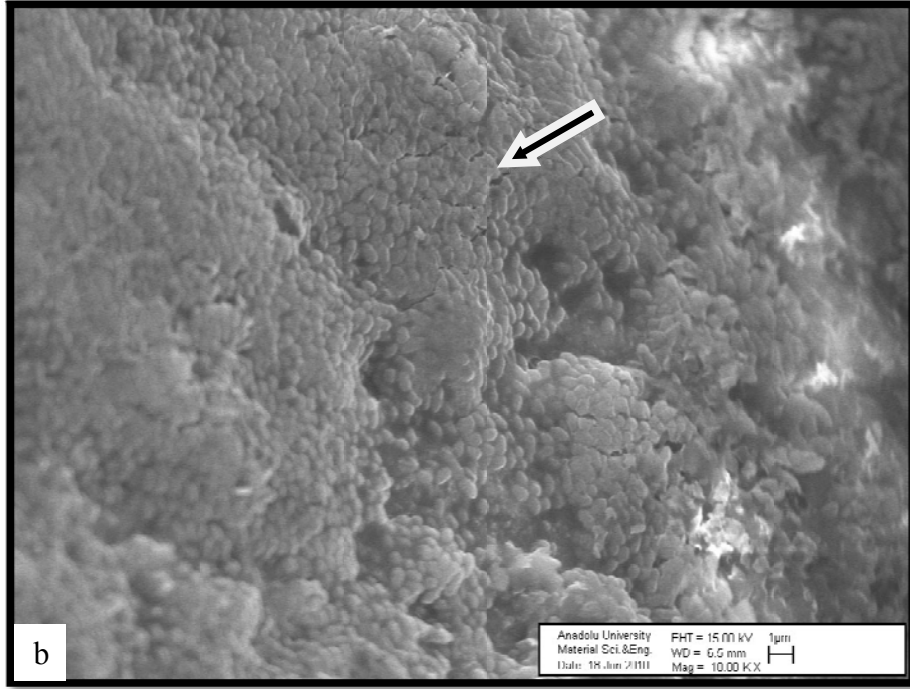
†: Mikroorganizma yoğunluğunun sayılamayacak kadar çok olması nedeniyle sayım yapılamamıştır.

#### 4.1.3.Taramalı elektron mikroskopunda (TEM) mikroorganizmaların görüntülenmesi:

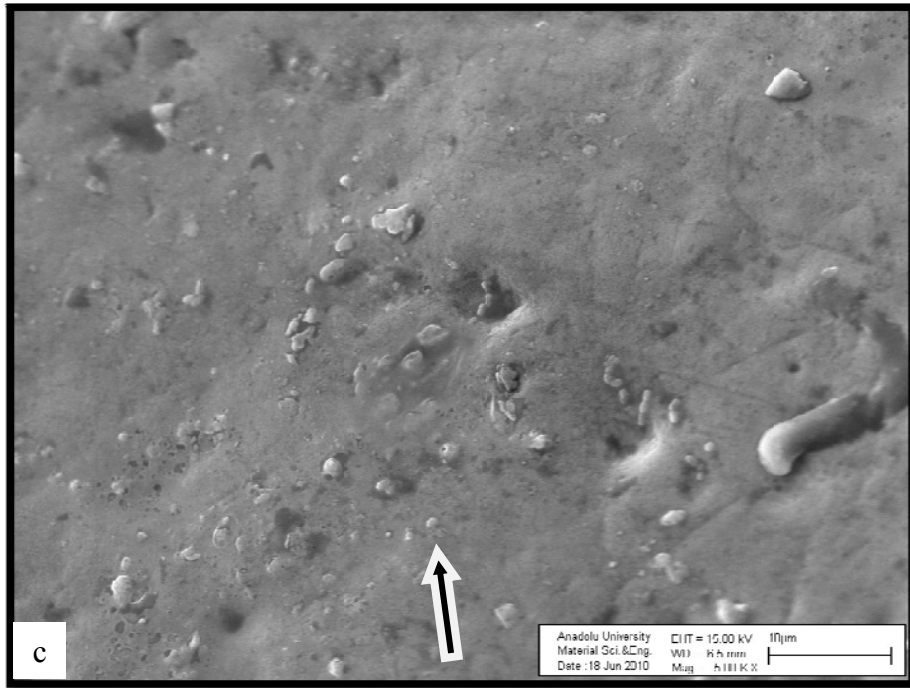
TEM kullanılarak, diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit ve *S.mutans* bakterileri görüntülenmiştir (Resim 19a, b, c).



Resim 19a: Diş yüzeyindeki laktik asit bakterilerinin TEM görüntüsü.



Resim 19b: Diş yüzeyindeki *S.mutans* bakterilerinin TEM görüntüsü.



Resim 19c: Diş yüzeyindeki *S.mutans* bakterilerinin TEM görüntüsü.



## 4.2. İn Vivo Çalışma

Çalışmanın bu kısmı, yaş ortalaması  $10,57\pm 0,5$  olan 40 öğrenci ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma ve kontrol grubu olmak üzere rastgele iki gruba ayrılan öğrenciler arasında, kızların erkeklere olan oranı 1,5'tir. İn vitro çalışmada, diş yüzeyine en yüksek düzeyde bağlandığı tespit edilen laktik asit bakterisi ile hazırlanan solüsyon, çalışma grubunu oluşturan 20 öğrenciye uygulanırken, kontrol grubunun oluşturan 20 öğrenciye ise distile su ile çalkalama işlemi uygulanmıştır. Deney öncesinde ve sonrasında her iki gruptan da belirli aralıklarla alınan tükürük örnekleri mikrobiyolojik test kitlerine yaydırılmış, kitler 48 saat inkübe edildikten sonra mikrobiyolojik değerlendirmeler, üretici firmanın skalasına göre yapılmıştır.

### 4.2.1. Çalışma Grubu Bulguları

On yaş grubundan 10 öğrenci ve 11 yaş grubundan 10 öğrenci olmak üzere toplam 20 öğrenci ile başlanan çalışma, çalışmanın devam ettiği süre içerisinde, 2 öğrencinin enfeksiyonel hastalık geçirmesi ve antibiyotik kullanmalarına bağlı olarak çalışmadan çıkarılması nedeniyle, 18 öğrenci ile tamamlanmıştır. Çalışmaya katılan öğrencilerin yaş ortalaması  $10,58\pm 0,5$ 'dir ve kızların erkeklere oranı 1,85'tir.

Birinci ölçüm: Yirmi öğrencinin doğal ağız florasındaki laktik asit ve *S. mutans* bakterilerinin başlangıç yoğunluğunu gösteren ilk tükürük örneklerinde, öğrencilerin %55,55'inde laktik asit bakteri miktarının az yoğun ( $<10^5$ ), %33,33'ünde yoğun ( $=10^5$ ) ve %11,11'inde ise çok yoğun ( $>10^5$ ) olduğu belirlenmiştir. *S. mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %22,22'sinde az yoğun, %27,77'sinde yoğun ve %50'sinde çok yoğun olduğu tespit edilmiştir.

İkinci ölçüm: Laktik asit bakterisi içeren solüsyonun 5 günlük kullanımından sonra yapılan değerlendirmelerde, laktik asit bakterisi yoğunluğunun, öğrencilerin %66,66'sında çok yoğun, %5,55'inde yoğun ve %27,77'sinde ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Birinci ve ikinci ölçümler arasında, laktik asit bakteri yoğunluğundaki

artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %72,22'sinde az yoğun, %22,22'sinde yoğun ve %5,55'inde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Birinci ve ikinci ölçümler arasında, *S.mutans* yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ).

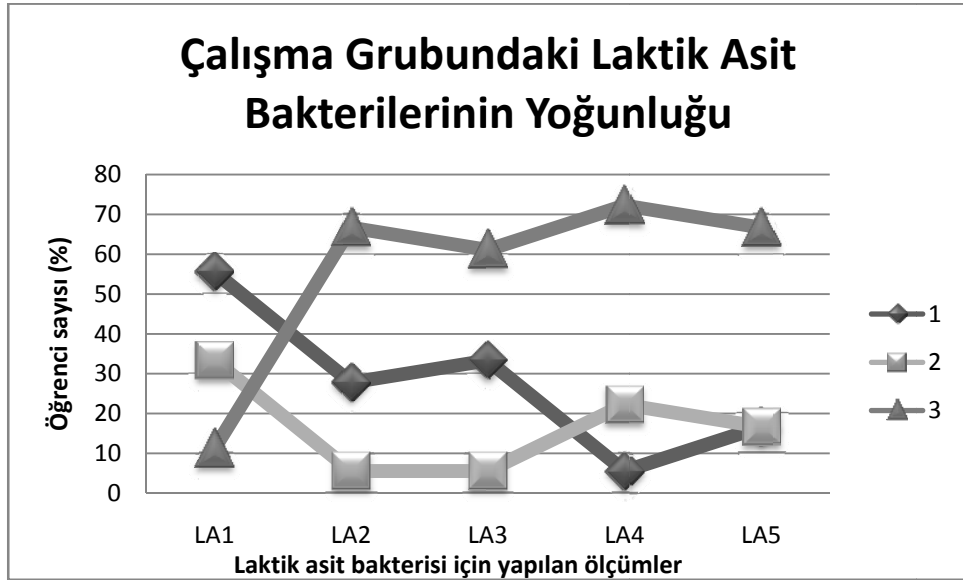
Üçüncü ölçüm: Çalışmanın 8.gününde, öğrencilerden birisi çalışmadan çıkarılmış ve çalışmaya 19 kişiyle devam edilmiştir. Yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri yoğunluğunun öğrencilerin %61,11'inde çok yoğun, %5,55'inde yoğun ve %33,33'ünde ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Birinci ve üçüncü ölçümler arasında, laktik asit bakteri yoğunluğundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). İkinci ve üçüncü ölçümler arasında, laktik asit bakteri yoğunluğunda anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ). Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %72,22'inde az yoğun, %16,66'sında yoğun ve %11,11'inde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Birinci ve üçüncü ölçümler arasında, *S.mutans* yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). İkinci ve üçüncü ölçümler arasında, *S.mutans* yoğunluğunda anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ).

Dördüncü ölçüm: Çalışmanın 12.gününde, bir öğrenci daha çalışmadan çıkarılmış ve çalışmanın devamı 18 öğrenci ile yürütülmüştür. Yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri yoğunluğunun öğrencilerin %72,22'sinde çok yoğun, %22,22'sinde yoğun ve %5,55'inde ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Birinci ve dördüncü ölçümler arasında, laktik asit bakteri yoğunluğundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, çocukların %83,33'ünde az yoğun, %11,11'inde yoğun ve %5,55'inde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Birinci ve dördüncü ölçümler arasında, *S.mutans* yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ).

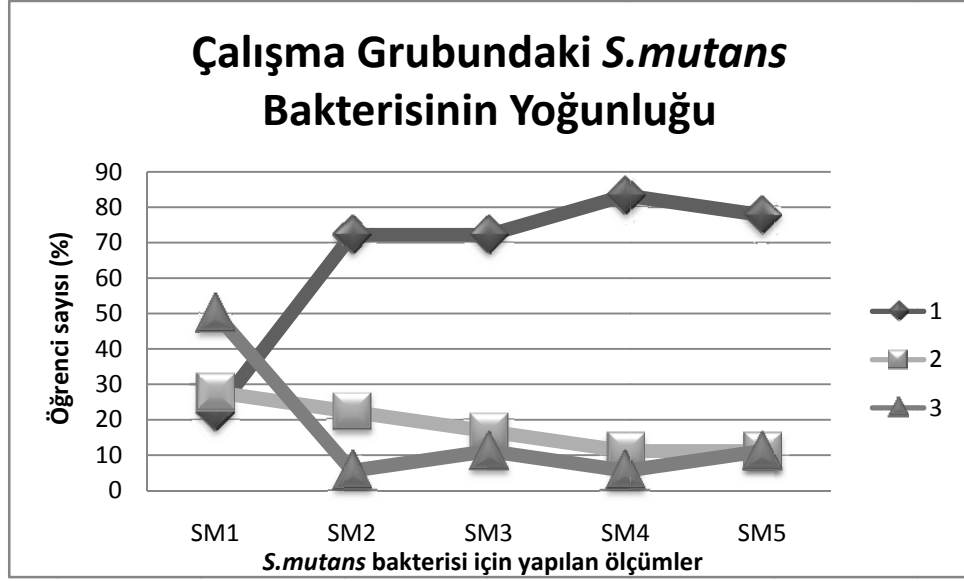
Beşinci ölçüm: Son uygulamanın yapılmasından 1 ay sonra gerçekleştirilen kontrol ölçümüdür. Çalışmaya devamlılık gösteren 18 öğrenci ile gerçekleştirilen ölçümlerde, solüsyonun kullanılmadığı bir aylık sürede, laktik asit bakteri yoğunluğunun, öğrencilerin %66,66'sında çok yoğun, %16,66'sında yoğun ve %16,66'sında ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Dördüncü ve beşinci ölçümler

arasında, laktik asit bakteri yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %77,77'sinde az yoğun, %11,11'inde yoğun ve %11,11'inde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Dördüncü ve beşinci ölçümler arasında, *S.mutans* yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

On sekiz öğrenci ile tamamlanan çalışmada, öğrencilerden beş defa tükürük örneği alınmış ve mikrobiyolojik test kitleri kullanılarak, tükürükteki laktik asit ve *S.mutans* bakterisinin çalışma boyunca yoğunlukları değerlendirilmiştir. Laktik asit bakterisi için elde edilen veriler, şekil 2'de ve *S.mutans* bakterisi için elde edilen veriler, şekil 3'te özetlenmiştir. Şekil içerisinde, 1; az yoğun, 2; yoğun ve 3; çok yoğun değerleri göstermektedir.



Şekil 2: Çalışma grubunda yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri miktarındaki değişiklik.



Şekil 3: Çalışma grubunda yapılan ölçümlerde, *S.mutans* miktarındaki değişiklik.

#### 4.2.2.Kontrol Grubu Bulguları

On yaş grubundan 9 öğrenci ve 11 yaş grubundan 11 öğrenci olmak üzere toplam 20 öğrenci ile başlanan çalışma, bir öğrencinin çalışmadan vazgeçmesi ve bir öğrencinin de acil operasyon geçirmesi nedeniyle, 18 öğrenci ile tamamlanmıştır. Öğrencilerin yaş ortalaması  $10,66 \pm 0,48$ 'dir ve kızların erkeklere oranı 1,22'tir.

Birinci ölçüm: Yirmi öğrencinin doğal ağız florasındaki laktik asit ve *S.mutans* bakterilerinin başlangıç yoğunluğunu gösteren ilk tükürük örneklerinde, öğrencilerin %61,11'inde laktik asit bakteri miktarının az yoğun ( $<10^5$ ), %27,77'sinde yoğun ( $=10^5$ ) ve %11,11'inde ise çok yoğun ( $>10^5$ ) olduğu belirlenmiştir. *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %33,33'ünde az yoğun, %22,22'sinde yoğun ve %44,44'ünde çok yoğun olduğu tespit edilmiştir.

İkinci ölçüm: Çalışmanın beşinci gününde, öğrencilerden birisi çalışmadan ayrılmış ve çalışmaya 19 öğrenci ile devam edilmiştir. Beş günlük plasebo solüsyonla çalkalama işleminden sonra yapılan değerlendirmelerde, laktik asit bakterisi yoğunluğunun öğrencilerin %33,33'ünde çok yoğun, %33,33'ünde yoğun

ve %33,33'ünde ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %44,44'ünde az yoğun, %22,22'sinde yoğun ve %33,33'ünde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Birinci ve ikinci ölçümler arasında, laktik asit bakterisi ve *S.mutans* yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

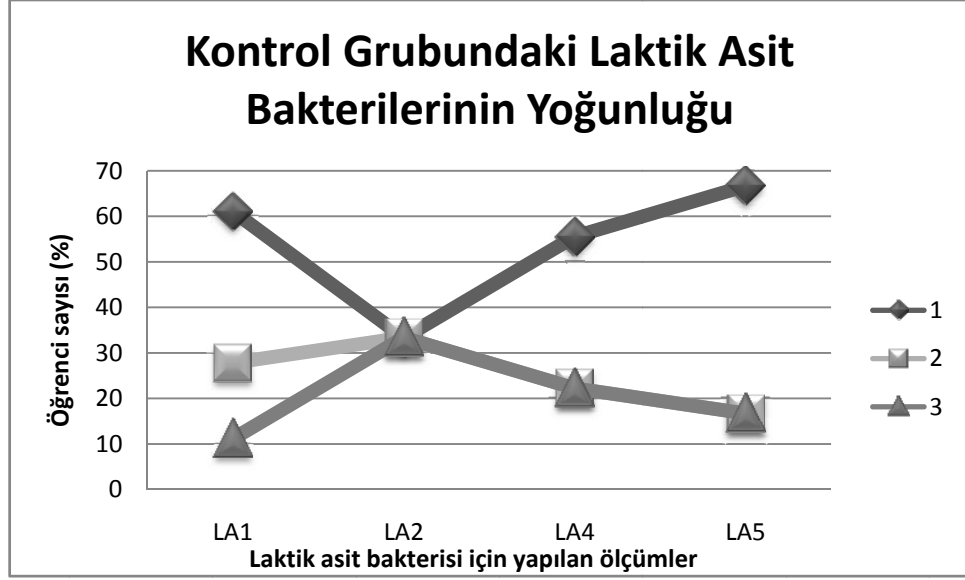
Kontrol grubunda, 8.gün diş fırçalamayı takiben gargara uygulaması yapılmış, tükürük örneği alınmamıştır.

Dördüncü ölçüm: Toplam 19 öğrenci ile yürütülen çalışmada, yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri yoğunluğunun öğrencilerin %22,22'sinde çok yoğun, %22,22'sinde yoğun ve %55,55'inde ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %44,44'ünde az yoğun, %16,66'sında yoğun ve %38,88'inde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Birinci ve dördüncü ölçümler arasında, laktik asit bakterisi ve *S.mutans* yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

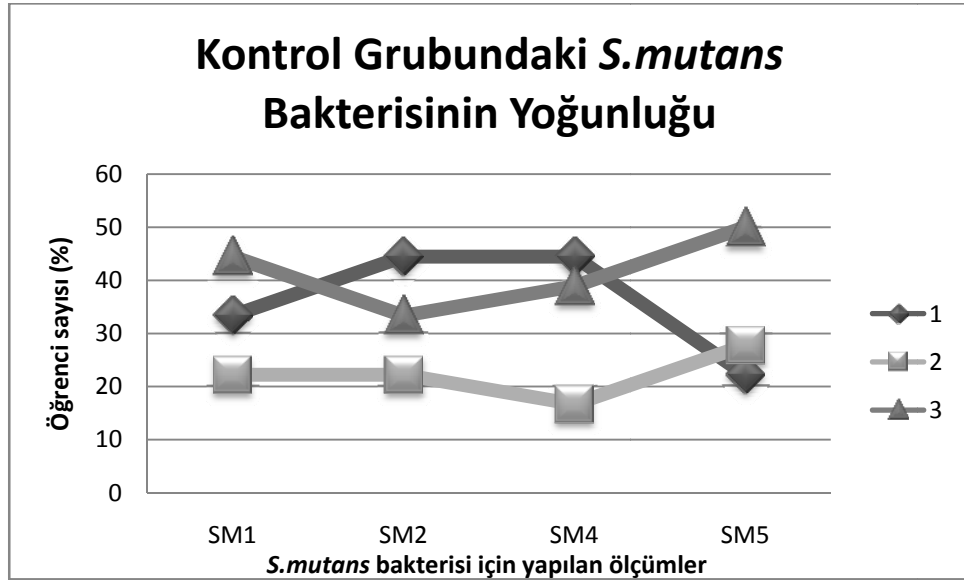
Beşinci ölçüm: Son uygulamanın yapılmasından 1 ay sonra gerçekleştirilen kontrol ölçümüdür Kontrol ölçümünün yapıldığı gün, acil bir operasyon geçirmesi nedeniyle bir öğrenci daha çalışmadan çıkarılmış ve kontrol ölçümleri 18 öğrenci ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre, plasebo solüsyonun kullanılmadığı bir aylık sürede, laktik asit bakteri yoğunluğunun öğrencilerin %16,66'sında çok yoğun, %16,66'sında yoğun ve %66,66'sında ise az yoğun olduğu belirlenmiştir. Bu süre içindeki *S.mutans* yoğunluğunun ise, öğrencilerin %22,22'sinde az yoğun, %27,77'sinde yoğun ve %50'sinde ise çok yoğun olduğu tespit edilmiştir. Dördüncü ve beşinci ölçümler arasında, laktik asit bakterisi ve *S.mutans* yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

On sekiz öğrenci ile tamamlanan çalışmada, öğrencilerden 4 defa tükürük örneği alınmış ve mikrobiyolojik test kitleri kullanılarak, tükürükteki laktik asit bakterisi ve *S.mutans* bakterisinin, çalışma boyunca yoğunlukları değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda üçüncü ölçüm yapılmamış ve çalışma grubu ile paralellik göstermesi için, üçüncü ölçüm ismi atlanarak dördüncü ölçüm ismi kullanılmıştır. Laktik asit bakterisi için elde edilen veriler şekil 4'te ve *S.mutans* bakterisi için elde

edilen veriler şekil 5’te özetlenmiştir. Şekil içerisinde, 1; az yoğun, 2; yoğun ve 3; çok yoğun değerleri göstermektedir.



Şekil 4: Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde, laktik asit bakteri miktarındaki değişiklik.



Şekil 5: Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde, *S.mutans* miktarındaki değişiklik.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmanın birinci kısmında, laktik asit ve *S.mutans* bakterileri doğal ağız florasından izole edilmiş ve izole edilen bu bakterilerin laboratuvar ortamında diş yüzeyine tutunumu incelenmiştir. Çalışma sonunda, probiyotik özellik gösteren ve diş yüzeyine en iyi bağlanan laktik asit bakterisi belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ise, diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisi ile özel olarak hazırlanan gargara solüsyonu bir grup ilköğretim öğrencisine uygulanmış ve bu bakterinin çocukların oral florasındaki *S.mutans* bakterisine etkisi incelenmiştir.

### 5.1. İn Vitro Çalışma

Araştırmacılar, 100 yılı aşkın bir süredir, probiyotik özellik gösteren laktik asit bakterilerinin, insan sağlığını geliştirmedeki rolü üzerinde, çeşitli çalışmalar yapmaktadırlar. Son yirmi yılda ise, probiyotik bakterilerin bilimsel olarak tanımlanmaları mümkün olmuştur. *Lactobacillus* ve *Bifidobacteri*'lerin, probiyotik özellik gösteren çok sayıda türü bulunduğu belirlenmiştir (Ouweland et al., 2002). Bu bakteriler, süt ürünlerinin fermentasyonunda ve gıdaların korunmasında kullanıldığı gibi, vücudun çeşitli bölgelerinde de doğal olarak bulunurlar (Stamatova and Meurman, 2009).

Oral kavite, çeşitli mikrobiyal türlerin bir arada bulunduğu karmaşık ve dinamik bir ekosistemdir. İçerisinde binden fazla tür bulunduğu tahmin edilen bu ekosistem, probiyotik özellik gösteren *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'ların da doğal yaşama alanıdır (Colloca et al., 2000, Chhour et al., 2005, Keijser et al., 2008). Oral kavitede  $10^3$ - $10^4$  KOB/g *lactobacillus* bulunduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Bernardeau et al., 2008). Benzer türler sağlıklı insanların rektal mukozası ve dil yüzeyinden de izole edilmiş ve yapılan izolasyonlarda katılımcıların %52'sinde *L.plantarum*, %26'sında *L.rhamnosus* ve %17'sinde *L.paracasei* türlerinin baskın olduğu görülmüştür (Ahrne et al., 1998). Çalışmamızda ise, sistemik olarak sağlıklı 13 çocuk hastanın her birinden tükürük, diş çürüğü, diş plağı

ve diş eti oluğu sıvısı örnekleri alınmıştır. Çalışmamız, ocuk ve genç bireylerin oral kavitesinin dört farklı bölgesinden izolasyonların gerçekleştirildiği ilk çalışmadır. Daha önce yapılan benzer bir çalışmada, ocuk hastaların sadece tükürük rneği alınmış ve laktik asit bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Chung et al., 2004). Test edilen izolatların, *Pediococcus spp*, *Lactobacillus spp*, ve ağız içerisinde kolonizasyonunun zor olduğu bilinen *Lactococcus spp*’den oluştuğu tespit edilmiştir.

Oral floradan alınan örneklerden bakteri izolasyonunun gerçekleştirilmesi, zahmetli ve zaman alıcı bir işlemdir. Bu nedenle, araştırıcıların büyük bir kısmı, hazır kültürlerle çalışmayı tercih etmektedir. Çalışmamızda, ağız florasının çeşitli bölgelerinden çok sayıda örnek almamıza karşın, tekrarlayan n çalışmalarımızın sonucunda, 14 adet doğal izolat elde edilmiştir.

Bakteri izolasyonlarının yapıldığı çocukların doğum şekli, anne sütü alma süreleri ve en son tükettikleri süt ürünü, normal oral florayı etkilediği için anamnez formunda özellikle yer almıştır. Normal yolla doğan çocuklarda, sezeryanla doğan çocuklara göre laktik asit bakteri sayısının daha fazla olduğu ve daha kısa süre anne sütü alan çocuklarda ise bu sayının daha az olduğu ileri srlmştr (Coşkun, 2006). Çalışmamızda da, laktik asit bakteri izolasyonu gerçekleştirdiğimiz çocuklar arasında normal yolla doğan ocuk sayısı daha fazla bulunmuştur. Ayrıca, bu çocukların izolasyondan 2-12 saat önce süt ürünü tükettikleri ve anne sütü alma sürelerinin en az bir yıl olduğu da belirlenmiştir. İzole edilen laktik asit bakterilerinin önemli bir kısmı, 4 yaşında, normal yolla doğmuş, 1,5 yıl anne sütü almış ve izolasyondan 2 saat önce kibrit kutusu kadar beyaz peynir tüketmiş olan bir çocuğun diş eti oluğu sıvısı ve diş rrğ örneklerinden elde edilmiştir. Bu durum, yaşamın erken dönemlerinde laktik asit bakterilerinin oral kaviteye kolonize olduğunu gösteren diğer çalışmalarla desteklenmektedir (Nase et al., 2001, Yli-Knuuttila et al., 2006). Hastanın normal yolla doğmuş olması ve izolasyondan kısa bir süre önce süt ürünü tüketmesi de laktik asit bakteri kolonizasyonunun olası nedenleri arasında gösterilebilir. Ancak, izolasyonların üçte birinin yapıldığı 12 yaşındaki hastanın ise sezeryan yoluyla doğduğu, yukarıda anlatılan dört yaşındaki hasta ile kıyaslandığında ise, bebeklik döneminde daha kısa süre anne sütü aldığı ve izolasyondan 12 saat önce bir kase yoğurt tükettiği öğrenilmiştir. Yaş, doğum şekli,



anne sütü alma süresi, en son tüketilen süt ürünü gibi laktik asit bakterilerinin oral kolonizasyonunu etkileyen genel faktörler dnda, sosyokültürel seviye, beslenme ve oral hijyen alışkanlıkları gibi bireysel farklılıklar ve izolasyon sırasında meydana gelebilecek olası kontaminasyonlar gibi beklenmedik etkilerin de kolonizasyonu etkileyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda, bireysel farklılıkları en az düzeye indirmek için sosyokültürel seviyesi, beslenme ve oral hijyen alışkanlıkları benzer çocuklardan örnek almamıza rağmen, anamnez sırasında özellikle anne sütü alma süresi gibi geçmişe dayalı ve ebeveynlerin hafızalarını zorlayıcı soruların yanlış cevap alınma ihtimalini arttırdığını düşünmekteyiz. Bu nedenle, birincil amacı laktik asit bakterilerinin oral kolonizasyonunu değerlendirmek olan çalışmaların, bebeklik döneminden itibaren uzun takipli olarak planlanmasının daha faydalı olacağı görüşündeyiz.

ocuk hastaların oral kavitelerinden izole ettiğimiz 12 adet laktik asit bakterisi ve 2 adet *S.mutans* bakterisi ve daha önceden et örneklerinden izole edilmiş olan 10 adet laktik asit bakterisi diş yüzeyine tutunum deneyinde kullanılmıştır. Yapılan tanımlama testleri sonucunda, diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisinin *Lactobacillus spp* 2.8-2 olduğu belirlenmiştir. Bu mikroorganizma, izolasyonların büyük bir kısmının yapıldığı 4 yaşındaki hastanın diş çürüğü kavitesinden izole edilmiştir. Ayrıca aynı hastanın diş çürüğü kavitesinden *Lactobacillus spp* 2.8-3, diş eti oluğu sıvısından *Lactobacillus spp* 2.7-4 ve *S.mutans* 2.7-2 bakterileri de izole edilmiştir. Çalışmamıza benzer başka bir çalışmada da, yaşları, 9-28 arasında değişen 44 sağlıklı katılımcının diş, dil, tükürük ve diş etinden örnekler alınarak yapılan *lactobacillus* izolasyonunda, *lactobacillus*'ların %17,6'sının diş yüzeyinden, %42,3'ünün dilden, %28,2'sinin tkrkten ve %11,8'inin diş eti örneklerinden izole edildiği gösterilmiştir. Bu alışmada, *L.salivarius* ve *L.acidophilus*'un diş yüzeyinde; *L.fermentum* ve *L.plantarum*'un dil yüzeyinde; *L.fermentum* ve *L.delbrueckii sp delbrueckii*'nin tkrkte ve *L.rhamnosus*'un ise diş etinde baskın olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, *L. delbrueckii sp delbrueckii*'nin ve *L.rhamnosus*'un örnek alınan dört bölgede de kolonize olduğu belirtilmiştir (Colloca et al., 2000). Çalışmamızda ise, *Lactococcus spp* 'nin (1.1-2, 1.1-4 ve 1.15-4) rnek alınan ağız içi alanlarının arasında en fazla tkrkten izole edildiği gösterilmiştir. Yaptığımız diğer izolasyonlarda ise bir bakteri türü belirli bir

bölgede yoğunluk göstermemiştir. Bunun nedeni, çalışmadaki asıl amacımızın bakterilerin dış yüzeyine tutunumunun belirlenmesi olmasından dolayı elde edilen doğal izolat sayısının yeterli görülmesidir. Bunun yanında, mikrobiyal örnekleme sırasında meydana gelen kontaminasyonlar, izolasyon işleminin zahmetli olması ve uzun süre gerektirmesi doğal izolat sayısının az olmasının olası sebepleri arasında gösterilebilir.

Probiyotik ürünlerin büyük bir kısmı oral yolla tüketilir, ürün içerisindeki probiyotik bakteriler, tüketim sırasında oral yüzeylere tutunur (Haukioja et al., 2006). Probiyotik bakterilerin oral yüzeylere tutunması, bu bakterilerin ağız içerisine kolonizasyonunda ilk ve en önemli adımdır (Çağlar et al., 2009, Stamatova et al., 2009, Stamatova and Meurman, 2009). Probiyotik mikroorganizmaların oral dokulara tutunması, dış yüzeyindeki pelikula tutunma, epitelyum hücrelerine tutunma ve diğer bakterilere tutunma şeklinde olmaktadır (Haukioja et al., 2006).

Laktik asit bakterilerinin ağızdaki yumuşak ve sert dokulara tutunumunda bakteriye özel ve özel olmayan mekanizmalar rol oynamaktadır (Gibbons, 1996). Laktobasiller, tükürük proteinlerine bağlanarak, epitelyum hücrelerine tutunarak veya tutunacakları bölgede bulunan diğer bakterilere bağlanarak oral dokulara tutunurlar (Stamatova and Meurman, 2009). Hidrofobik olan bağırsak mukozası ile hidrofobik bakteriyel yüzey arasındaki etkileşim, bakteri tutunumunun meydana gelmesinde önemlidir. Bağırsak mukozasının hidrofobik olmasının nedeni olan mukus, aynı zamanda tükürükte de bulunduğu için, oral dokulara tutunumda da aynı mekanizmanın rol alabileceği ileri sürülmüştür (He et al., 2001). Çalışmamızda, laktik asit bakterilerinin dış yüzeyine tutunumunu değerlendirirken birinci yöntemde dişleri tükürük içerisinde beklettikten sonra, ikinci yöntemde ise tükürük kullanmadan bakterilerin tutunumu değerlendirilmiştir. Her iki yöntemde de laktik asit bakteri tutunumu olduğu görülmüştür. Dış yüzeyine bakteri tutunumunda iki yöntem arasında fark olup olmadığının araştırılması, çalışmamızın temel amaçları arasında yer almadığı için, yöntemler arasındaki farklılık belirlenmemiştir. Tükürüğün tutunuma olan etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için, dış yüzeyine bakteri tutunumunda iki yöntemin kıyaslandığı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

*Lactobacillus* tutunumunun, diş etinde bulunan amonyum sülfat miktarına bağlı olarak arttığı, yapılan bir çalışmada gösterilmiştir, ancak konu ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Colloca et al., 2000). Bakterilerin yüzey özelliklerinin, tutunumda önemli bir rol oynadığı bildirilmiş, *L.reuteri*'nin yüzeyindeki glikojen uzantıları sayesinde bağırsak mukozasına tutunduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Mukai et al., 1998). Diş yüzeyine tutunumda ise, fiziksel etkileşimler gibi kimyasal etkileşimlerin de rol aldığı bildirilmiştir. Mine yapısındaki hidroksiapatitin,  $Ca^{+2}$  iyonları ile bakteri hücre yüzeyindeki negatif iyonlar arasında meydana gelen etkileşim, diş yüzeyine tutunmayı kolaylaştırır (Carlen et al., 1996). Ayrıca, aynı kolonizasyon bölgesi için, bakterilerin rekabete girmesi de bakteri tutunumunu artırıcı etkiye neden olmaktadır. Yapay olarak oluşturulan ağız ortamında, *L.rhamnosus* ve *L.plantarum*'un tek başına oral dokulara düşük düzeyde tutunduğu, ortama *Actinomyces* türleri eklendiğinde, tutunmanın *L.rhamnosus*'ta 7-20 kat ve *L.plantarum*'da ise 4-7 kat arttığı, ortama ilave edilen *S.mutans*'ın da tutunmayı artırıcı etkisinin olduğunu, ancak *V.parvula*'nın tutunmayı etkilemediği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Filoche et al., 2004). Benzer şekilde çalışmamızda da yapılan izolasyonlarda, aynı hastadan *S.mutans* izole edilirken en az 2 tane de laktik asit bakterisi izole edilmiştir.

Diş yüzeyindeki pelikülda, bakterilerin bağlanmaları için özel reseptörler bulunmaktadır. Probiyotik bakterilerin pelikülün yapısında bazı değişiklikler meydana getirmesiyle, bu reseptörlere bağlanan bakteri türlerinin değiştiği ileri sürülmüştür. *S.mutans*'ın peliküla bağlanması için gerekli olan esas protein, bir tükürük proteini olan aglütinin gp340'tır. Probiyotik bakterilerin bu proteine bağlanmasının veya bu proteinin miktarında azalmaya yol açmasının, diş yüzeyine *S.mutans* tutunumunu azalttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar, pelikülda çok sayıda reseptöre bağlanabilen *S.gordinii*'nin, aglütinin gp340 miktarındaki değişiklikten etkilenmediğini ve probiyotik bakteri varlığında *S.mutans*'tan daha yüksek düzeyde diş yüzeyine bağlandığını da bildirmişlerdir. Ayrıca, probiyotik bakterilerin peliküldaki peroksidaz seviyesinde azalmaya neden olduğunu da göstermişlerdir (Haukioja et al., 2008).

Chung ve ark.(2004), biyofilmdeki *S.mutans* inhibisyonunda laktik asit bakterilerinin rolünü gösterdikleri çalışmalarında, laktik asit bakterilerini doğal oral

floradan izole etmişler ve daha sonra biyofilm oluşumundaki etkinliğini incelemişlerdir. Çalışmalarında, yaşları 4-7 arasında değişen, sistemik olarak sağlıklı, diş çürüğü olmayan ancak, az miktarda diş plağı bulunan 160 anaokulu öğrencisinden, tükürük örnekleri almışlardır. Bu örneklerden toplam 150 adet *Lactobacillus* zinciri izole etmişlerdir. Yapılan tanımlama testleri sonucunda, izolatların %99,52'nin *L.fermentum* olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamız, yaşları 4-16 arasında değişen çocuk ve gençlerden mikrobiyal örneklerin alınması nedeniyle yaş grubu bakımından bu çalışmaya benzer özellik gösterirken, örnek aldığımız bölgeleri sadece tükürük ile sınırlı tutmamamız izolatların çeşitliliğini arttırmıştır. Diş yüzeyine tutunumun araştırıldığı başka bir çalışmada ise, 14-42 yaş aralığında 19 bireyin diş plağı ve diş çürüğü örnekleri alınmış, çok sayıda doğal izolat elde edilmiştir (Erten, 2005).

Çeşitli çalışmalarda, hidroksiapatit ile kaplanmış yüzeylerde, mikrotitre kuyucuklarda, epitelyum hücrelerinde, ortodontik tel yüzeyinde ve mine çiplerinde bakteri tutunumunu incelenmiştir (Busscher et al., 1999, Comelli et al., 2002, Erten, 2005, Haukioja et al., 2006, Stamatova et al., 2009). Diş yüzeyini taklit eden yapay yüzeylere bakteri tutunumunun incelenmesi, çalışmanın yürütülmesini büyük oranda kolaylaştırmasına rağmen, çalışmamızda gerçek diş yüzeyine tutunum değerlendirilmiştir. Erişilebilir kaynaklardan yapılan literatür taraması sonucunda, çalışmamızın bakteri tutunumunun gerçek diş yüzeyinde değerlendirildiği ikinci çalışma olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda, diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisini belirlemek amacıyla iki farklı yöntemle gerçekleştirdiğimiz deneylerimizde 2.8-2'nin her iki yöntemde de *S.mutans*'in tutunumunu inhibe ederek kendisinin yüksek düzeyde bağlandığı gösterilmiştir. Birinci yöntemde tükürükle kaplı dişin tüm yüzeyine tutunum incelenmiş, ikinci yöntemde ise diş yüzeyinde 10 mm<sup>2</sup>'lik bir alan belirlenerek, üzerinde tükürük bulunmayan bu yüzeye tutunum değerlendirilmiştir. Her iki yöntemde de 2.8-2'nin, *S.mutans* tutunumunu önemli derecede azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde yapılan bir in vitro çalışmada da paslanmaz çelik tel üzerinde, *L.fermentum*'un glukan üreten *S.mutans* oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Chung et al., 2004).

Aynı kolonizasyon bölgesi için, *Streptococcus* ve *Lactobacillus*'ların, rekabete girdiklerini gösteren bir çalışmada, tutunma yüzeyi olarak gerçek diş yüzeyi, kalsitleme çözeltisi ile kaplanmış polistiren yüzey ve 4 farklı hidroksiapatit materyali ile kaplanmış polistiren yüzey kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan *Lactobacillus* ve *S.mutans* bakterileri, katılımcıların doğal oral florasından izole edilmiştir. Mikrobiyal örneklerden *Lactobacillus casei subsp.rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Candida* ve *Enterococcus* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Hidroksiapatit ile kaplı yüzeylerde, *Lactobacillus casei subsp.rhamnosus* 1955 ve *Lactobacillus salivarius* 1970'in *S.mutans* tutunumunu önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir. Daha sonra diş yüzeyine tutunum denemeleri bu iki laktik asit bakterisi ve 4 çeşit *S.mutans* bakterisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu bakterilerin tek başlarına diş yüzeyine tutunumu değerlendirildikten sonra, birbirlerine karşı etkisini belirlemek amacıyla iki bakterinin birlikte diş yüzeyine tutunumu değerlendirilmiştir. Sonuçta, kullanılan *Lactobacillus* ve *S.mutans* bakterilerinin başlangıç yoğunlukları ile deney sonundaki yoğunlukları arasında önemli düzeyde farklılıklar olmadığı tespit edilmiştir (Erten, 2005). Bu sonucun, Guan ve ark.nın (2001), *Streptococcus* yoğunluğu  $10^6$ 'dan daha yüksek olduğunda diğer mikroorganizmaların yüzeye daha az tutunduğunu ileri sürdükleri çalışmalarının sonucuyla uyumlu olduğu görülürken, bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olmadığı görülmektedir. Guan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın sonucuna göre, çalışmamızda başlangıç yoğunluğu  $10^8$  olan *S.mutans*'ın, diğer bakterilerin yüzeye tutunmasını engellemesi beklenirken, laktik asit bakterilerinin her iki deneyde de diş yüzeyine *S.mutans*'tan daha yüksek yoğunlukta bağlandığı görülmüştür. Laktik asit bakterileri arasından, diş yüzeyine en yüksek yoğunlukta bağlandığı belirlenen bakteri suşu ise, in vivo çalışmamızda başlangıç kültürü olarak kullanılmıştır.

*Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'ların oral tutunumlarının değerlendirildiği bir çalışmada 10 tür *Lactobacillus* ve 1 tür *Bifidobacterium* hazır kültür olarak kullanılmış, 7 tür *Lactobacillus* ve 6 tür *Bifidobacterium* ise doğal dışkı florasından elde edilmiştir (Haukioja et al., 2006). Bu çalışmada, hazır kültür olarak kullanılan ve dışkı örneklerinden izole edilen doğal kültürler arasında tükrükle kaplı hidroksiapatite bağlanma açısından bir farklılık bulunmamıştır. Çalışmamızda ise,

doğal ağız florasından izole edilen laktik asit bakterilerinin, et örneklerinden izole edilmiş olan laktik asit bakterileri ile kıyaslandığında, diş yüzeyine daha yüksek yoğunluklarda bağlandığı belirlenmiştir. Çalışmada, *LGG*'nin, diğer mikroorganizmalarla kıyaslandığında, tükürükle kaplı mikrotitre kuyucuklara, tükürükle kaplı hidroksiapatite, BSA (bovine-serum-albumin) kaplı hidroksiapatite ve bukkal epitelium hücrelerine en yüksek düzeyde bağlandığı, *bifidobacterium*'ların ise düşük düzeyde bağlandığı gösterilmiştir. Tükürük proteinlerinin bağlanmayı artırıcı etkisi nedeniyle, tükürükle kaplı hidroksiapatite bağlanma BSA kaplı hidroksiapatite bağlanmadan daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu çalışmada, *L.reuteri SD 2112 (ATCC 55730)*'nin de tükürükle kaplı mikrotitre kuyucuklara, tükürükle kaplı hidroksiapatite, BSA (bovine-serum-albumin) kaplı hidroksiapatite düşük derecede bağlandığı gösterilmiştir. Ayrıca, probiyotik bakterilerin *Fusobacterium nucleatum* kaplı yüzeylere bağlanmasının da değerlendirildiği bu çalışmada, *bifidobacterium*'ların *F.nucleatum* ile kaplı hidroksiapatite yüksek düzeyde bağlandığı gösterilmiştir (Haukioja et al., 2006). Bu durumun, *F.nucleatum* ile probiyotik *lactobacillus*'ların aynı kolonizasyon bölgesi için rekabet etmesini gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. *F.nucleatum* gibi bağırsakta bulunan diğer bakterilerin, bağırsaktaki *bifidobacterium* kolonizasyonunu kolaylaştırmasının da bu çalışmanın sonucuyla ilişkilendirildiği bildirilmiştir Buna ilaveten, bağırsak mukozasına iyi tutunan bir probiyotik zincirin her zaman ağız içinde de iyi tutunum göstermediği sonucu çıkarılabilir. Bu sonuç, GİS'teki etkinliği kanıtlanmış olan laktik asit bakterilerinin, oral kavitede etkin olup olmadığının çalışmalarla değerlendirilmesinin önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

*L.delbrueckii bulgaricus* ve *LGG*'nin tükürükle kaplı hidroksiapatite tutunmasının incelendiği bir çalışmada, *LGG*'nin tükürükle kaplı hidroksiapatit yüzeye, *L. delbrueckii bulgaricus* ve *S.sanguinis*'ten daha güçlü tutunduğu gösterilmiştir (Stamatova et al., 2009). Çalışmamızda ise, tükürükle kaplı diş yüzeyine en yüksek yoğunlukta bağlanan suşların 2.8-2 ve *Pediococcus spp* olduğu, en düşük yoğunlukta bağlanan suşların ise, *L.plantarum* ve *Enterococcus faecum* olduğu belirlenirken, tükürükle kaplı olmayan diş yüzeyine en yüksek yoğunlukta bağlanan suşların *L.sakei* ve *L.plantarum* olduğu, en düşük yoğunlukta bağlanan suşun ise, *Lactococcus spp* olduğu tespit edilmiştir. Bu verilere dayanılarak, et örneklerinden

izole edilen laktik asit bakterilerinin tükrükle kaplı olmayan diş yüzeyine daha yüksek yoğunlukta bağlandığı söylenebilir. Bu durum, et örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin, diş yüzeyine tutunması için pelikıldaki reseptörlere ihtiyaç duymadığı, başka mekanizmaların tutunmada etkili olabileceği fikrini düşündürmektedir.

Comelli ve ark.(2002), yirmi üç tanesi süt ürünlerinden ve 5 tanesi oral kaviteden izole edilmiş olan laktik asit bakterilerinin tükrükle kaplı hidroksiapatite bağlanmasını incelemişler ve *S.thermophilus* NCC1561 ve *Lactococcus lactis* NCC2211'in tükrükle kaplı hidroksiapatite yüksek düzeyde bağlandığını ve bağlanma bölgeleri ve besin maddesi için *V.dispar* ve *A.naeslundii* ile rekabete girerek bu mikroorganizmaları inhibe ettiklerini göstermişlerdir. Ayrıca, *Lactococcus lactis* NCC2211'in biyofilmdeki diğer mikroorganizmaları modifiye ettiği, özellikle *S.sobrinus* ve *S.oralis*'in yoğunluğunu azalttığı bildirilmiştir. *Lactococcus lactis* NCC2211'in, özellikle ağız içerisine ilk kolonize olan türler arasında yer alan *S.sobrinus*'un bağlanma bölgelerine bağlanması ile bu iki bakterinin tükürük reseptörlerinin aynı olabileceğini ilişkilendirilmiştir. Ancak, konuyla ilgili moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, *L.acidophilus*, *L.casei* ve *Bifidobacterium bifidum* içeren bio-yoğurttaki *L.acidophilus* ve *L.casei* izole edilerek, yüzeyinde pelikıl olan ve olmayan mine çiplerinin üzerine uygulanmıştır (Busscher et al., 1999). Çalışma öncesinde, tutunumu değerlendirmek üzere, mine yüzeyindeki *S.sobrinus*, *S.sanguis* ve *Actinomyces*'in başlangıç kolonizasyonu belirlenmiştir. *L.acidophilus*'un, *L.casei*'den daha yüksek düzeyde mine yüzeyine tutunduğu gösterilmiş ve bu durum *L.acidophilus*'un, *L.casei*'den daha hidrofobik olmasına bağlanmıştır. Her iki bakterinin de mine yüzeyinde pelikıl olmadığına tutunum değerlerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Özellikle, *L.casei*'nin mine yüzeyinde pelikıl yokken gösterdiği tutunumun, pelikıl varlığında gösterdiği tutunumun yaklaşık olarak iki katı olduğu gösterilmiştir. Benzer bulguları elde ettiğimiz çalışmamızda, izole ettiğimiz iki adet *L.casei*'den bir tanesinin (1.14-3), belirli bir yüzey alanı ile sınırlı olmasına rağmen, tükrükle kaplı olmayan diş yüzeyine tutunumunun tükrükle kaplı diş yüzeyindeki tutunumunun 2 katı olduğu gösterilmiştir. Diğer *L.casei* (1.16-3)

suşunun tükürkle kaplı olmayan diş yüzeyine tutunma durumu ise, kontaminasyon şüphesi nedeniyle değerlendirilemediği için bu çalışma ile kıyaslanması mümkün olmamıştır. Aynı araştırmacılar, çalışmalarının ikinci kısmında da, yaş ortalaması 26 olan, tükürüğünde ve dişlerinin ara yüzündeki plak örneklerinde *Lactobacillus* olmayan, 14 kişiye 1 hafta boyunca günde iki defa 100 ml bio-yoğurt vermişler ve *L.acidophilus* ve *L.casei*'nin diş yüzeyindeki tutunumunu değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda, katılımcıların diş yüzeyinde test bakterilerinin bulunmadığını göstermişlerdir (Busscher et al., 1999).

Yapılan bir in vitro çalışmada, doğal ağız florasından izole edilen laktobasillerin streptokokları inhibe etme durumu değerlendirilmiştir. İzolasyonlar, 3 farklı grubun tükürük ve diş plağından alınan mikrobiyal örneklerden yapılmıştır. Birinci grubun (n=36) hiç diş çürüğü veya yapılmış bir restorasyonu olmayan bireyler; ikinci grubun (n=28) son iki yılda ilerleme göstermeyen durağan çürük lezyonları olan, yapılmış restorasyonları olan veya olmayan bireyler ve üçüncü grubun (n=27) ise son 2 yıl içinde veya daha uzun süreden beri aktif çürüğü olan bireylerden oluştuğu bildirilmiştir. Toplam 91 katılımcıdan alınan örneklerde, en sık izole edilen laktobasil türlerinin *L.plantarum*, *L.paracasei* ve *L.rhamnosus* olduğu belirlenmiştir. Birinci grubun %31'inden, ikinci grubun %71'inden ve üçüncü grubun %89'undan *S.mutans* izolasyonu yapıldığı gösterilmiştir. Birinci gruptan izole edilen laktobasillerin testte kullanılan tüm streptokokları (hazır kültür olarak ve doğal izolatlardan elde edilen) inhibe ettiği, inhibisyonda ikinci ve üçüncü gruptaki laktobasillerden daha etkili olduğu belirtilmiştir. Diş çürüğü olmayan birinci gruptaki laktobasillerin otojen *S.mutans*'ları inhibe etmesinin beklenen bir sonuç olduğu bildirilmiştir. Ancak, diş çürüğü oluşumdaki diğer faktörlerin in vitro ortamda sağlanamadığının da göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca, *S.mutans* inhibisyonunda etkili olan laktobasiller arasında etkinlik sırasına göre *L.paracasei*, *L.plantarum* ve *L.rhamnosus*'un ilk üçü paylaşmakta olduğu bildirilmiştir (Simark-Mattsson et al., 2007). Bizim çalışmamızda olduğu gibi bu çalışmada da, patojen mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesinde doğal izolatların kullanımının önemli olduğu gösterilmiştir.



## 5.2. İn Vivo Çalışma

Dünya Sağlık Örgütü tarafından, yeterli miktarda alındığında konak sağlığına faydalı mikroorganizmalar olarak tanımlanan probiyotiklerin, konak üzerindeki etki mekanizması hala tam olarak bilinmemekle beraber lokal veya sistemik olarak konağın immun sistemini etkilediği düşünülmektedir (Tvetman et al., 2009). Probiyotik mikroorganizmaların, bazı GİS hastalıklarında, ürogenital hastalıklarda, solunum sistemi rahatsızlıklarında, alerjik hastalıklarda ve kanser tedavisinde destekleyici etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Fuller and Gibson, 1997, Kalliomaki et al., 2001b, Reid et al., 2003, Reid and Devillard, 2004, Commane et al., 2005, Coşkun, 2006, Gill and Prasad, 2008). Probiyotik mikroorganizmaların, diş çürüğü, periodontal hastalıklar, oral mukozal lezyonlar ve ağız kokusu gibi ağız hastalıklarına karşı gösterdiği etkiler de yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Çağlar et al., 2005c, Meurman, 2005, Çağlar et al., 2006, Krasse et al., 2006, Çağlar et al., 2007, Teughels et al., 2007b, Shimauchi et al., 2008, Teughels et al., 2008, Tvetman and Steckslen-Blicks, 2008).

Diş yüzeyinde plak oluşumu, diş çürüğü ve periodontal hastalıkların en önemli etyolojik sebebidir. Plak gelişimi, diş yüzeyinde oluşan pelikula patojen mikroorganizmaların tutunmasıyla başlar. Bu nedenle, patolojik mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunumunun önlenmesi ile diş çürüğü ve periodontal hastalıkların önüne geçilmiş olur (Liljemark and Bloomquist, 1996, Xie et al., 2008). Plak gelişimi ve diş çürüğünü önlemek için klorheksidin, triklosan, setilprimidyum klorid ve flor gibi kimyasal maddeler kullanılmakta ve çeşitli koruyucu tedaviler uygulanmaktadır. Ancak, bu yöntemlerin uzun dönem kullanımları bazı istenmeyen etkilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Ağız içerisindeki patolojik mikroorganizmaları inhibe etmek için, aşılama ve antibiyotik kullanımı gibi yöntemler üzerinde ise araştırmalar devam etmektedir. Uzun yıllar alacak bu araştırmalar sonuçlansa bile, bu yöntemlerin kullanımı sınırlı ve yüksek maliyetli olacaktır. Bu nedenle, probiyotik kullanımı, oral hastalıkların önlenmesinde etkili ve alternatif bir yaklaşım olarak düşünülmektedir. Diş çürüğünü önlemede flor uygulaması ve probiyotik kültür kullanımı kıyaslandığında; flor uygulamasının yaygın olarak bilinen ve ucuz bir yöntem olması avantaj iken, kaynakların kontrol

edilememesi ve doz ayarlamasında güçlük çekilmesi ise dezavantajı olarak görülmektedir. Buna karşın probiyotik kültürler ise, daha az bilinen ve pahalı bir yöntemdir ancak, kaynakların kontrol edilebilir olması ve doz ayarlamasının yapılabilmesi avantajları arasındadır. Probiyotik kültür kullanımının pahalı bir yöntem olması sorunu, probiyotik kültürlerin yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanması ile ortadan kalkacaktır.

Çalışmamızın birinci kısmında, in vitro koşullarda diş yüzeyine en iyi tutunumu gösteren laktik asit bakterisinin 2.8-2 olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, çalışmamızın ikinci kısmı, GİS enfeksiyonlarının tedavisinde de sıklıkla kullanılan ve üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış olan bu probiyotik bakteri ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız, doğal ağız florasından izole edilmiş olan 2.8-2'nin ağız çalkalama solüsyonu içerisine ilave edilerek kullanıldığı ilk çalışmadır. Erişilebilir kaynaklardan yapılan literatür taramasında, probiyotik bakterilerin oral floraya etkilerinin incelendiği benzer çalışmalarda, probiyotik bakteri olarak doğal izolatlar yerine hazır kültürlerin fabrikasyon ürünler içerisine ilave edilerek kullanıldığı görülmüştür. Çalışmamızda, doğal izolatların, fabrikasyon bir ürün içerisine ilave edilmesi yerine, kendi hazırladığımız gargara içerisine ilave edilmesi, kullanılan probiyotik kültürün kontrolünü sağladığı için, çalışmamızın güvenilirliğini arttırmıştır.

Bu güne kadar, probiyotik bakterilerin oral kavitedeki patojen türler üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar, bizim çalışmamızda da olduğu gibi genellikle kısa süreli olarak yapılmıştır. Okul çağındaki çocuklarda yapılan çalışmalarda, bu tür uygulamalar eğitim programını aksatabildiği için, çalışma sürelerinin kısa tutulmasına mecbur kalınmaktadır. Yapılan çalışmalar içinde sadece bir tanesi 7 ay sürmüş, diğerlerinin süreleri 10 gün ile 20 gün arasında değişmiştir (Nase et al., 2001). Ayrıca bu çalışmalarda, çalışma grubunu genellikle erişkinler oluşturmaktadır. Erişkin florası, çocukların florasına benzemekle birlikte tamamen aynı olmadığından erişkinlerle yapılan çalışmaların, çocuklarla yapılan çalışmalarla aynı sonuçları vereceği şüphelidir. Çocuk katılımcılarla gerçekleştirdiğimiz çalışmamızın konuyla ilgili bilgi eksikliklerini azaltmada faydalı olacağını düşünmekteyiz. Koruyucu diş hekimliğine verilen önem ve ilginin giderek arttığı bu

dönemde, özellikle çocuk katılımcılarla yapılan çalışmaların artmış olması önemlidir. Çalışmamızdaki yaş grubu, koruyucu diş hekimliğinin belki de en önemli olduğu dönemlerden biri olan, karma dişlenme dönemindeki çocuklardan oluşmaktadır. Katılımcı sayısının artırılması, bu tür çalışmalarda karşılaşılan zorluklardan birisidir. Çocuklarla yapılan çalışmalarda, haklı olarak her yeni çalışmaya şüpheyle yaklaşan ebeveynlerin onamından kaynaklanan sıkıntılar katılımcı sayısının sınırlı tutulmasına neden olmaktadır. Ayrıca, mikrobiyolojik çalışmalarda, katılımcı sayısının artmasıyla birlikte maliyet yükselmektedir. Çalışmamızda, güvenilirliği kanıtlanmış bir bakteri süşunun kullanılması ve çalışma boyunca sürekli ebeveynlerle iletişim halinde olunması nedeniyle, ebeveynlerin desteği alınmış ancak, çalışmada kullanılan mikrobiyolojik kitlerin yüksek maliyeti nedeniyle katılımcı sayısı sınırlı tutulmuştur. Buna rağmen, çalışmamız, benzer çalışmalara kıyasla oldukça yüksek sayıda katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sırasında, okul, aile, öğrenci ve hekim işbirliği en üst düzeyde tutulmuş, okul idaresi ve ebeveynler her gün yeniden bilgilendirilmiştir. Çalışmada katılımcı sayısının sınırlı olması nedeniyle, grup hakimiyeti daha kolay sağlanmış, böylece hem çalışma sonuçlarının güvenilirliği artmış hem de öğrencilerin eğitim programları en az düzeyde aksatılmıştır.

Çalışmamızda,  $1 \times 10^8$  KOB/ml 2.8-2 içeren gargara iki hafta boyunca 10-11 yaş grubundaki öğrencilere uygulanmış ve uygulamanın sonunda çalışma grubunda, *S.mutans* miktarında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Çalışma grubunda laktik asit üreten ve çalışma başında faydalı olduğu gösterilen probiyotik bakteri miktarındaki artma da anlamlı bulunmuştur. Son gargara uygulamasından 1 ay sonra, katılımcılardan tükürük örnekleri alınmış ve çalışma grubunda, laktik asit bakteri miktarında azalma ve *S.mutans* miktarında artma olduğu belirlenmiş, ancak bu değişikliklerin anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuç, anlamlı çıkmamasına karşın, probiyotik bakteri içeren gargaranın etkinliğini sürdürebilmesi için, uygulamanın günlük olarak veya belirli aralıklarla tekrarlanması gerektiğini düşündürmüştür.

Çalışmamızın sonucu, laktik asit bakterisi içeren probiyotik ürünlerin kullanıldığı diğer çalışmaların sonuçlarıyla paraleldir (Meurman et al., 1994, Nase et al., 2001, Ahola et al., 2002, Nikawa et al., 2004, Çağlar et al., 2006). Çocukların

oral mikroflorasının, yetişkinlerde olduğu gibi tam olarak olgunluğa erişmediği, bu nedenle etkilenmesinin daha kolay olabileceği düşünülmektedir. Yetişkinlerle yapılan çalışmalarda, probiyotik ürün alımının sonlandırılmasından hemen sonra bakteri yoğunluklarında meydana gelen ani düşüşler göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızın sonucunda laktik asit bakteri yoğunluğundaki azalmanın daha yavaş olduğu görülmektedir (Ahola et al., 2002).

Bir tür laktik asit bakterisi olan *L.rhamnosus*'un bağırsaklardaki bağışıklığı düzenleyici ve çocuklarda erken atopik hastalıkların önlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (Kalliomaki et al., 2001a, Kalliomaki et al., 2003). *L.rhamnosus*'un oral kavitedeki etkisi ise, az sayıda çalışma ile gösterilmiştir (Nase et al., 2001, Ahola et al., 2002). *L.rhamnosus*'un, homofermentatif laktobasillerden olduğu için sükrozu ve laktozu fermente edemediği, buna bağlı olarak, dış çürüğü oluşumunu önleyici etkisi bulunduğu bildirilmiştir (Gorbach, 1990, Meurman et al., 1994, Meurman et al., 1995). Buna karşın, heterofermentatif laktobasillerin, dış çürüğü aktivitesini arttırdığı bilinmektedir (Nase et al., 2001). *L.rhamnosus*'un, proglutamik asit gibi antimikrobiyal maddeler üreterek oral kavitedeki diğer mikroorganizmalarla yarıştığı bildirilmiştir (Silva et al., 1987). *Lactobacillus GG*'nin, pH 5 değerinin altında iken, oral kaviteye ilk tutunan bakterilerden olan *S.sobrinus*'un aktivitesini inhibe ettiği de gösterilmiştir (Meurman et al., 1995).

*Lactobacillus GG* (ATCC 53103)'nin oral kolonizasyonunu araştıran ilk çalışma 1994 yılında Finlandiya'da yapılmıştır. Bu çalışmada,  $10^8$  KOB/ml LGG içeren 250g yoğurt, günde 2 defa bir hafta süreyle, yaş ortalaması 25 olan dokuz kişiye verilmiştir. Uygulamaya başlamadan önce katılımcıların tükürük örneklerinde LGG bulunmazken, uygulamadan bir hafta sonra tüm katılımcılarda ve 2 hafta sonra ise sekiz katılımcının tükürüğünde LGG bulunduğu gösterilmiştir (Meurman et al., 1994). Çalışmamızda da, probiyotik kültür içeren gargaranın uygulandığı son günden itibaren 1 ay sonra çalışma grubundaki tüm katılımcıların tükürük örneklerinde laktik asit bakteri varlığı tespit edilmiştir. Tüm katılımcılarda bir ay sonra laktik asit bakterilerinin bulunması ve kolonizasyonun daha uzun süre devam etmesi, çalışmadaki yaş grubumuzda bu durum arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız, probiyotik bakteri içeren süt tüketen çocuklar

arasından özellikle 3-4 yaş grubunda kolonizasyonun daha güçlü olduğunu gösteren Nase ve arkadaşlarının çalışmasını destekler niteliktedir (Nase et al., 2001).

Süt; içerdiği kalsiyum, fosfor ve kolloidal organik maddeler nedeniyle çocukların diş çürüklerinden korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Çocuklarda uzun dönem probiyotik içerikli süt tüketiminin, özellikle gastrointestinal ve solunum yolu hastalıklarına etkisinin incelediği çalışmanın bir parçası olarak ağız sağlığına etkisi de değerlendirilmiştir. Bu çalışma, randomize, çift körlemeli ve plasebo kontrollü olarak yürütülmüştür. Çalışmada, 1-6 yaş grubundaki 594 çocuk rastgele iki gruba ayrılmıştır. Çalışma grubuna  $5-10 \times 10^5$  KOB/ml *L.rhamnosus GG ATCC 53103* içeren süt ve kontrol grubuna plasebo süt, 7 ay boyunca haftada 5 gün olmak üzere, okullarında verilmiştir. Çalışmanın başında, ortasında ve sonunda çocuklardan diş plağı ve tükürük örnekleri alınmış ve değerlendirilmiştir. Ayrıca, diğer çalışmalardan farklı olarak, çalışmanın başlangıcında 100 çocuktan ve çalışmanın ortasında ve sonunda 60 çocuktan dışkı örnekleri alınmıştır. Çalışma sonucunda, *LGG*'nin, *S.mutans* ve patojen laktobasilleri inhibe ettiği ve özellikle 3-4 yaş grubunda diş çürüğünü önlemede faydalı olduğu gösterilmiştir. Dışkı örnekleri incelendiğinde, çalışmanın başlangıcında çalışma grubunun %12'sinde *LGG* tespit edilirken, çalışma sonunda bu oranın %91'e çıktığı gösterilmiştir. Kontrol grubunun dışkı örneklerinde ise, başlangıçta %4 olan *LGG* kolonizasyonunun çalışmanın sonunda %15 olduğu gösterilmiştir. Çalışma boyunca her iki grupta da çeşitli enfeksiyonlar nedeniyle antibiyotik kullanıldığı, ancak, çalışma grubunda antibiyotik ihtiyacının daha az olduğu bildirilmiştir (Nase et al., 2001). Çalışma, küçük yaş grubuyla uzun süreli yapılan ilk ve tek çalışmadır. Uzun süreli benzer çalışmalarda tüm değişkenleri kontrol etmek güç olduğu için, bakteri kolonizasyonunu etkileyen antibiyotik uygulamasının da önüne geçilememiştir. Buna rağmen, probiyotik bakteri tutunumunun azalmadığı görülmüştür. Çalışmamız, bu çalışmada olduğu gibi okul ortamında öğretmenlerin desteği ile gözetim altında yürütülmüştür. Çalışmamızda ve bu çalışmada, yaş grubunun erişkin olmaması ve probiyotik ürünün gözetim altında düzenli olarak uygulanması, elde edilen sonuçların paralel olmasına neden olmuştur.

Çiğneme sırasında tükürük akışını uyardığı bilinen peynirin, içeriğindeki kalsiyum, fosfor ve kazeinfosopeptidler nedeniyle de diş çürüğünü önleme özelliği

olduğu bilinmektedir (Sela et al., 1994, Reynolds et al., 1995). Peynir, ağız içerisinden daha uzun sürede temizlendiği için probiyotik ilavesi için süttten daha uygun bir gıda maddesi olarak düşünülmektedir. Araştırmacılar, EDAM peyniri içerisine  $1,9 \times 10^7$  KOB/ml *L.rhamnosus GG ATCC 53103* ve  $1,2 \times 10^7$  KOB/ml *L.rhamnosus LC 705* ilave etmişler ve bu peynirin tüketimi ile *S.mutans*, maya ve *lactobacillus* miktarındaki değişimi incelemişlerdir (Ahola et al., 2002). Çalışma, deney ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrılan, 18-35 yaş aralığında 74 katılımcı ile hazırlık, uygulama ve tedavi sonrası olmak üzere, her biri 3 haftadan oluşan üç periyotta tamamlanmıştır. Her periyotta katılımcılardan tükürük örnekleri alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. Deney grubuna 15 g deney peyniri ve kontrol grubuna plasebo peynir günde 5 defa verilmiştir. Uygulama döneminde deney grubunda *S.mutans* miktarında azalma olduğu ancak bu azalmanın anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Uygulama periyodunun bitmesinden 3 hafta sonra alınan tükürük örneklerinde ise, deney grubunda *S.mutans* düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar, 3 hafta gibi kısa bir sürede, iki grup arasında *S.mutans* miktarında belirlenen farklılığın yanıtıcı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu nedenle tedavi sonrasındaki dönemde bakteri miktarında meydana gelen değişikliği yorumlamışlardır. Bu çalışmaya benzer bir çalışmada da katılımcılara, *L.paracasei GMNL-33* içeren tabletler, 2 hafta boyunca günde 3 defa verilmiş ve tükürükteki *S.mutans* ve laktobasil sayısı ile tükürüğün tamponlama kapasitesindeki değişiklikler başlangıçta, uygulama döneminin sonunda ve uygulama döneminden 2 hafta sonra değerlendirilmiştir. Uygulama döneminin sonunda, deney grubunda *S.mutans* seviyesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, uygulamanın bitmesinden 2 hafta sonra alınan tükürük örneklerinde *S.mutans* seviyesinde anlamlı bir azalma olduğu belirtilmiştir (Chuang et al., 2010). Çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak uygulama periyodunun ortası olan 5. ve 6. günlerde ve son günde katılımcılardan tükürük örnekleri alınarak *S.mutans* miktarındaki değişiklik belirlenerek yorumlanmış ve hem çalışmanın ortasında hem de sonunda çalışma grubunda *S.mutans* miktarında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Çalışma grubumuzun, floranın daha kısa sürede etkilendiği bir yaş grubundan oluşması ve probiyotik ürünün düzenli olarak uygulanmasına bağlı olarak, çalışmamızda *S.mutans* miktarında kısa sürede anlamlı bir azalma meydana geldiği görülmüştür. Çalışma

yürütücüsünün gözetimi olmaksızın, probiyotik uygulamaların gün içerisinde kısa aralıklarla tekrarlanması, katılımcıların unutulması, uygulamadan sıkılması vb. nedenlerle düzenli olmayabilir. Bu durum, yanıtıcı sonuçların alınmasına neden olabileceği için uygulamaların az tekrarlı ve gözetim altında yapılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Finlandiya’da erişkin yaş grubundaki 56 katılımcı ile yapılan bir çalışmada, *LGG*’nin oral kolonizasyonu değerlendirilmiştir. Çalışma, her biri 2 hafta süren 3 periyoddan oluşmuştur. Birinci periyod hazırlık dönemidir. Bu dönemin sonunda tüm katılımcılardan tükürük örneği alınmıştır. İkinci periyod, uygulama periyodudur, bu dönemde katılımcılara  $5 \times 10^6$  KOB *LGG* içeren 200 ml meyve suyu günde 3 defa verilmiştir. Üçüncü periyod, uygulama sonrası dönemdir, bu dönemde tükürükte *LGG* bulunmadığı belirlenene kadar her gün tükürük örneği alınmıştır. Üçüncü periyoddan bir gün sonra, katılımcıların %66’sının tükürüğünde *LGG* bulunduğu ve 7 gün sonra ise sadece %3,6’sında *LGG* bulunduğu tespit edilmiştir. Ancak, çalışmanın tamamlanmasından 5 ay sonra katılımcıların birisinden tükürük örneği alınmış ve tükürüğünde *LGG* bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca, katılımcının, bu 5 aylık süre içerisinde *LGG* içeren herhangi bir ürün tüketmesi de yasaklanmıştır. Bu katılımcıdan alınan anamnez bilgisinde, 10 yaşındayken atopik dermatit tedavisine destek amacıyla 1 yıl boyunca *LGG* içeren süt tükettiği öğrenilmiştir (Yli-Knuuttila et al., 2006). Bu durum, probiyotik mikroorganizma kolonizasyonunun daimi değil geçici olduğunu ancak, küçük yaşlarda uzun süreli probiyotik alımının daimi kolonizasyon için önemli olduğunu göstermektedir. Ancak, tükürükte *LGG* bulunmaması, her zaman *LGG*’nin oral kavitede kolonize olmadığını bir göstergesi değildir. Benzer bir çalışmada, GİS’te laktik asit bakterisinin kolonizasyonu incelenmiş, katılımcılara 12 gün boyunca günde 2 defa  $6 \times 10^{10}$  KOB *LGG* içeren 100 ml meyve suyu verilmiştir. Çalışma sonunda katılımcılar 3 gruba ayrılmış birinci grupta hemen, ikinci grupta 1 hafta sonra ve üçüncü grupta 2 hafta sonra kolonoskopi işlemi yapılmış ve tüm gruplardan dışkı örneği de eş zamanlı olarak alınmıştır. Kolonoskopi sırasında alınan biyopsiler ile dışkı örneklerindeki *LGG* karşılaştırıldığında, üçüncü grupta dışkı örneklerinde *LGG*’ye rastlanmamış ancak, biyopsi örneklerinde rastlanmıştır. Bu çalışmada, dışkı örneğinin probiyotik

mikroorganizma kolonizasyonunu göstermede tek başına yetersiz olduğu gösterilmiştir (Alander et al., 1999).

*L.reuteri*, gastrointestinal mikroflorada doğal olarak bulunan, zorunlu heterofermantatif mikroorganizmadır. Reuterin ve reutesilin adı verilen antimikrobiyal maddeleri üretmektedir. Bu antimikrobiyal maddeler, *L.reuteri*'nin probiyotik özellik göstermesinde etkilidir (Talarico et al., 1988, Ganzle et al., 2000, Çağlar et al., 2006, Twetman et al., 2009). *L.reuteri*'nin genel sağlığa olan faydalı etkilerini gösteren çalışmaların yanı sıra, oral kavitedeki etkinliğini gösteren çeşitli çalışmalar da yapılmıştır (Nikawa et al., 2004, Valeur et al., 2004, Weizman et al., 2005, Çağlar et al., 2006, Çağlar et al., 2007, Çağlar et al., 2008a, Çağlar et al., 2009, Twetman et al., 2009) .

Kısa süreli probiyotik kullanımı sonrasında ağız içerisindeki enflamasyon cevabını inceleyen ilk çalışmada, *L.reuteri*'nin diş eti oluşu sıvısındaki (DOS) sitokin düzeyine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, yaş ortalaması 24 olan ve en az iki dişinin bukkal diş eti kenarında orta düzeyde gingivitis olan 42 katılımcı rastgele 3 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba, 1 tane canlı bakteri içeren sakız ve 1 tane plasebo sakız; ikinci gruba, 2 tane canlı bakteri içeren sakız ve üçüncü gruba 2 tane plasebo sakız verilmiştir. Canlı bakteri içeren deney sakızlarında  $1 \times 10^8$  KOB *L.reuteri* ATCC 55730 ve ATCC PTA 5289 bulunmaktadır. Deneye başlamadan önce, birinci haftanın sonunda, ikinci haftanın sonunda ve başlangıçtan 4 hafta sonra katılımcılardan DOS örnekleri alınmıştır. Çalışma süresi olan 2 hafta boyunca katılımcılar, sabah kahvaltısı ve akşam yemeğinden 1 saat sonra, 10 dakika olmak üzere günde iki defa sakızlarını çiğnemişlerdir. Çalışmanın bittiği 2.haftanın sonu ile başlangıç arasında sondlamada kanama değerinde ve DOS miktarında birinci ve ikinci grupta istatistiksel olarak anlamlı azalmaların olduğu gösterilmiştir. Sadece ikinci grupta, birinci haftanın sonunda TNF- $\alpha$  skorunda; ikinci haftanın sonunda IL-8 skorunda ve dördüncü haftanın sonunda IL-6 skorunda anlamlı azalmaların olduğu kaydedilmiştir (Twetman et al., 2009). Diğer bir araştırmada ise, *L.reuteri*'nin, TNF- $\alpha$  üretimini inhibe edici özellikte, bağışıklık düzenleyici bir madde ürettiği gösterilmiştir (Von Bodman et al., 2008). Laktobasillerin bağışıklık cevabının başlamasına neden olan özel reseptörler salgıladığı ve bu yolla epitelyum hücrelerinin patojen olan ve



olmayan mikroorganizmaları tanınmalarının kolaylaştığı da bildirilmiştir (Rakoff-Nahoum et al., 2004). Laktik asit bakterilerinin sadece günlük süt ürünleri içerisine ilave edilerek değil farklı şekillerde de katılımcılara verildiği görülmektedir. Sıcaklık, nem ve hava ile temas etmeleri halinde canlılıklarını kaybetme tehlikesi ile karşı karşıya kalan laktik asit bakterilerinin, soğuk ve havasız ortamda saklanan süt ürünlerine ilavesi, canlılıklarını tehdit etmeyen bir saklama ortamı oluşturmaktadır. Bu nedenle aynı koşulların sağlanmasının zor olduğu farklı şekillerle katılımcılara sunulması bakterilerin canlılığının korunmasında sıkıntılar meydana getirebilir. Çalışmamızda, laktik asit bakterisi içeren gargara, uygun şekilde saklanmış ve öğrencilerin okullarına gidilerek gözetim altında uygulanmıştır. Böylece, saklama sırasında, bakteri canlılığında meydana gelebilecek riskler en az düzeye indirilmiştir. Bunun yanı sıra, gargara uygulamasının gözetimimiz altında yapılması, çalışma sonuçlarının güvenilirliğini arttırmış, ayrıca ebeveynlerin ve öğrencilerin günlük olarak bilgilendirilmesi ile onların da çalışmaya karşı güven duygularının artması sağlanmıştır.

*L.reuteri ATCC 55730* ile hazırlanan pipet ve tabletlerin erişkin katılımcılarda kullanımı ile tükürükteki *S.mutans* miktarının değişimini inceleyen bir çalışmada, canlı bakteri içeren pipet ve tabletlerin kullanımından sonra tükürükteki *S.mutans* düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu ve laktobasil seviyesinin değişmediği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, probiyotik mikroorganizmaların oral kavitedeki etkinliği için doğrudan alınması ile dolaylı olarak alınması arasında bir farklılık olmadığı da vurgulanmıştır (Çağlar et al., 2006). Araştırmacı, *L.reuteri ATCC 55730* ve *L.reuteri ATCC PTA 5289* içeren sakızların kullanımı ile de benzer sonuçlar elde etmiştir. Canlı bakteri içeren sakızları ve ksilitollü sakızları kullanan gruplarda *S.mutans* seviyesinde anlamlı azalmalar olduğunu, ancak laktobasil seviyesinde bir değişiklik olmadığını bildirmiştir. Çalışmada, probiyotik kültür ve ksilitol içeren sakızların ayrı ayrı kullanımı ile birlikte kullanımının *S.mutans* seviyesi üzerinde farklı etkiler yaptığı gösterilmiştir. Araştırmacılar probiyotik kültür ve ksilitolün birlikte verildiğinde *S.mutans* seviyesinde daha az azalma meydana getirdiklerini göstermişler, bu durumun sebebinin ise yapılacak çalışmalarla ortaya koyulabileceğini bildirmişlerdir (Çağlar et al., 2007). Çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde canlı bakteri içeren gargara ile çalkalama yapan grubun tükürük örneklerinde

*S.mutans* seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenirken, bu çalışmalardan farklı olarak laktobasil seviyesinde ise anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Bazı probiyotik kültürler, kendileri ağız içerisinde kolonize olmaksızın *S.mutans* seviyesini azaltmaktadır. Çalışmamızda, *S.mutans* seviyesi azalırken, laktik asit bakteri seviyesinin artması, kullandığımız suşun ağız içerisine iyi kolonize olan bir tür olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, çalışmamızda uygulama döneminden bir ay sonra gerçekleştirdiğimiz kontrolde laktik asit bakteri kolonizasyonunun çalışma grubundaki tüm katılımcılarda devam ettiği görülmüştür. Çalışmamızdan farklı olarak, aynı araştırmacının *L.reuteri* ATCC 55730 içeren tabletleri, 2 hafta uyguladığı çalışmada ise uygulama döneminin bitmesinden 2 hafta sonra, katılımcıların hiç birinde *L.reuteri* bulunmadığı gösterilmiştir (Çağlar et al., 2009).

*L.reuteri* ATCC 55730 ve *L.reuteri* ATCC PTA 5289 probiyotik zincirleri ile gerçekleştirilen bir çalışmada, canlı bakteriler bir emzik içerisine yerleştirilerek katılımcılara verilmiştir. Çalışma sonunda, deney grubundaki katılımcıların %70'inde *S.mutans* düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir (Çağlar et al., 2008a). Dişlenme dönemindeki çocukların büyük bir kısmında emme alışkanlığının olduğu göz önünde bulundurulduğunda, emziğin koruyucu diş hekimliği uygulamaları için iyi bir vasıta olduğu ileri sürülmüştür (Çağlar et al., 2005b). Özellikle, çürük riskinin yüksek olduğu bebeklerde ve oyun çağı çocuklarında probiyotik kültürlerin emzik içerisinde verilmesi alternatif ve etkili bir yöntem olabilir. Ayrıca, bu çalışmada olduğu gibi birden fazla probiyotik kültürün bir arada kullanımı ile ağız içerisinde canlılığını devam ettiren faydalı bakterilerin sayısı da arttırılabilir. Çalışmamız, probiyotik kültürün gargara içerisine eklenerek çocuklarda kullanıldığı ilk çalışmadır. Daha sonra yapılacak olan çalışmalarda, gargara içerisinde farklı kültürlerin bir arada kullanılması ile ortaya çıkabilecek sinerjistik etki değerlendirilebilir.

Yapılan bir çalışmada, birden fazla probiyotik zincir (*L. sporogens*, *L. bifidum*, *L. bulgaricus*, *L. termophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus*) bir arada kullanılarak kapsül ve likit şeklinde probiyotik preparatlar hazırlanarak gönüllülere verilmiş ve tükürükteki *S.mutans* ve laktobasil düzeyindeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Probiyotik kapsül ve likit kullanan gruplarda laktobasil

miktarının arttığı, ancak *S.mutans* seviyesinin değişmediği, kontrol grubunda ise *S.mutans* miktarında ve laktobasil miktarında bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Likit formdaki probiyotik, doğrudan oral dokularla temasta olduğu için tükürükte laktobasil miktarını arttırıcı etkide bulunması beklenen bir durum iken, aynı etkinin, oral dokularla hiç temasta bulunmamış olan kapsül formunda da görülmesinin şaşırtıcı bir durum olduğu bildirilmiştir (Montalto et al., 2004). Bu durum, sistemik olarak alınan probiyotik mikroorganizmaların, oral kavitede de etkili olabileceğinin göstergesi olabilir. Bu nedenle, sistemik olarak kullanılan probiyotiklerin oral kavitedeki lokal etkisini gösteren çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Oral kavitenin doğal florasında bulunan *Streptococcus uberis* KJ2sm, *Streptococcus oralis* KJ3sm ve *Streptococcus rattus* JH145 içeren ProBiora<sup>3</sup> (Oragenics Inc., Alachua, FL, USA) isimli gargaranın, *S.mutans* ve periodontal hastalıklara neden olan mikroorganizmaların miktarını azaltmadaki rolünü inceleyen çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın birinci aşamasında, gargaranın güvenliği, ikinci aşamasında etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmaya, yaş aralığı 21-35 olan 20 gönüllü katılmıştır. Güvenlik çalışmasında, katılımcılar gargarayı düşük dozda ( $10^6$  KOB/ml) 4 hafta kullanmışlar, katılımcılarda her hangi bir yan etki görülmediği için, sonra yüksek doz ( $10^8$  KOB/ml) gargara uygulamasına geçilmiş ve gargara günde 2 defa 4 hafta boyunca kullanılmıştır. Etkinlik çalışması, 11 katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma öncesinde ve sonrasında katılımcılardan tükürük ve diş plağı örnekleri alınmıştır. Çalışmanın bu kısmında yüksek dozdaki gargara 1 ay kullanılmıştır. Güvenlik çalışmasının sonunda, klinik sınıflamada hafif olarak değerlendirilen boğaz, baş ve karın ağrılarının görüldüğü bildirilmiştir. Etkinlik çalışmasının sonucunda ise, tükürükteki *S.mutans* seviyesinin başlangıca göre %60 oranında azaldığı ve *C.rectus* ve *P.gingivalis* düzeyinde de azalma meydana geldiği, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (Zahradnik et al., 2009). Bu çalışmada kullanılan *Strep.oralis* ve *Strep.uberis*, ürettikleri hidrojen peroksite bağlı olarak probiyotik aktivite göstermekte ve periodontopatojenlerle mücadele etmektedirler (Hillman and Socransky, 1982, Hillman et al., 1985, Hillman and Shivers, 1988). *S.rattus* zinciri ise, *S.mutans* zincirine çok benzediği için 1980'li yıllarda *S.mutans* zinciri olarak sınıflandırılmış ancak, *S.rattus*'un laktat dehidrogenaz enziminin üretiminden sorumlu geninde mutasyon olması nedeniyle

laktik asit üretmediği ve diş çürüğüne neden olmadığı bildirilmiştir (Johnson et al., 1980). Birbirine benzeyen *S.rattus* ve *S.mutans*'ın aynı kolonizasyon bölgesi için yarış halinde olması nedeniyle, *S.rattus*'un diş çürüğünün önlenmesinde probiyotik zincir olarak kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir (Zahradnik et al., 2009). Çalışmamız boyunca ve çalışmanın tamamlanmasından sonraki bir aylık süreçte, yan etkiler konusunda bilgilendirilmiş olan öğrenciler ve ebeveynlerden, geri bildirimler alınmış ve hiçbir öğrencide, her hangi bir yan etki görülmemiştir. Bu durumun, kullandığımız probiyotik bakteri suşunun doğal ağız florasından izole edilmesine ve miktar olarak bu çalışmada güvenli kabul edilen  $1 \times 10^8$  KOB/ml olarak kullanılmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamız, doğal kültürlerin gargara içerisinde katılımcılara sunulması yönünden bu çalışmaya benzer özellik göstermesine karşın, bu çalışmada kullanılan gargaranın üretici firma tarafından üretilmesi, bizim çalışmamızda ise gargaranın laboratuvar koşullarında çalışma yürütücüleri tarafından üretilen bir gargara olması yönüyle farklılık göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada kullanılan probiyotik kültürlerin doğal ağız florasından izole edilmesi veya hazır kültür olarak kullanılması konusu açık değilken, çalışmamızda kullanılan probiyotik kültürler doğal ağız florasından izole edilmiştir.

Probiyotik kültür olarak sıklıkla kullanılan bifidobakteriler, oral kavitenin ve bağırsak mukozasının doğal mikrobiyal ekolojisinde önemli yeri olan mikroorganizmalardır (Becker et al., 2002). Bifidobakterilerin, normal bağırsak florasının korunmasında, enfeksiyona olan hassasiyetin, alerji ve laktoz intoleransının azaltılmasında, yüksek tansiyon ve kolesterolün düşürülmesinde faydalı olduğu bilinmektedir. (Fuller and Gibson, 1997, Reid et al., 2003). Bu mikroorganizmaların, oral kavitedeki etkinliğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Çağlar et al., 2005a, Çağlar et al., 2005c, Lenoir-Wijnkoop et al., 2007, Meurman and Stamatova, 2007).

Bifidobakterilerin diş çürüğüne neden olan mikroorganizmalara karşı etkisini araştıran, Çağlar ve arkadaşları,  $7 \times 10^7$  KOB/ml *Bifidobacterium DN-173 010* içeren yoğurdu deney grubundaki katılımcılara vermişlerdir. Çalışma sonunda, deney grubunda *S.mutans* seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenirken, her iki grupta da laktobasil sayısında bir değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir (Çağlar et al., 2005c).

Aynı araştırmacılar tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *Bifidobacterium lactis Bb-12* dondurma içerisine ilave edilmiş *S.mutans* üzerindeki inhibe edici etkisi incelenmiştir. Kontrol grubuna ise, canlı bakteri içermeyen dondurma verilmiştir. Bu alışma sonucunda da tüm katılımcılarda *S.mutans* düzeyinin azaldığı, ancak bu azalmanın deney grubunda anlamlı olduğu bildirilmiştir. Dondurmanın soğuk ortamda muhafaza edilmesinin, probiyotik kültürlerin canlılığını korumada avantaj sağlayacağı da ileri srlmştr (ağlar et al., 2008b).

Probiyotik mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunumu konusunda çok sayıda araştırma yapılmasına karşın, farklı mikroorganizmaların farklı deney koşulları altında gerçek diş yüzeyine bağlanma durumu net olarak belirlenememiştir. Çalışmamız, bu konuda aydınlatıcı bilgiler taşımaktadır. Oral kavitedeki *S.mutans* tutunumunu azaltacak uygun yöntemlerin belirlenmesi için, daha fazla sayıda çalışma yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda olduğu gibi, gargara içerisine probiyotik kültür ilavesi veya yapılacak olan çalışmalarla diş macunu ve diş ipliği içerisine probiyotik ilavesi ile hem oral hijyen hem de probiyotik kültürlerin ağız içerisine kolonize olması sağlanabilir. Çalışmamızda probiyotik kültür içeren gargara uygulaması ile olumlu sonuçlar almamıza karşın, gargara uygulaması, oral kavitedeki patojen bakteri sayısını azaltmada mekanik temizliğin yerini almamalı, destekleyici olarak uygulanmalıdır.

## 6.SONUÇ ve ÖNERİLER

- Çocuk ve genç bireylerin doğal ağız florasından 12 adet laktik asit bakterisi ve 2 adet *S.mutans* bakterisi izole edilmiştir.
- Doğal ağız florasından izole edilen laktik asit bakterileri; *Lactococcus spp*, *Pediococcus spp*, *Lactobacillus spp*'dir.
- Et örneklerinden izole edilmiş olan laktik asit bakterileri; *Lactobacillus.sakei*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*'dur.
- Doğal ağız florasından izole edilen laktik asit bakterileri ve daha önceden fermente et örneklerinden izole edilen laktik asit bakterileri arasından diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisi *Lactobacillus spp 2.8-2*'dir.
- Laktik asit bakterisi ile hazırlanan gargaranın 10 günlük kullanımı ile tükürükteki *S.mutans* seviyesinde anlamlı bir düşüş ve tükürükteki laktik asit bakterisi seviyesinde anlamlı bir artış sağlanmıştır.
- Laktik asit bakterisi ile hazırlanan gargaranın son kullanımından sonra, kullanılmadığı bir aylık süreçte tükürükteki *S.mutans* ve laktik asit bakterisi seviyesinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir.
- Küçük yaştaki bireylerde probiyotik mikroorganizmaların kolonizasyonu daha kısa sürede meydana gelmekte ve kolonizasyon uzun süre devam etmektedir.
- Başta ebeveynler ve öğretmenler olmak üzere, probiyotik mikroorganizmalar hakkında tüm toplumun daha fazla bilgilendirilmesi ve probiyotik kültürlerin, ağız ve diş sağlığına olan olumlu etkilerini gösteren çalışmaların sayısının artması ile özellikle çocuklarda ve genç bireylerde probiyotik ürünlerin kullanımları yaygın hale gelecektir.
- Yapılacak olan çalışmalarla, restoratif materyallerin içerisine de doğal izolatlardan oluşan probiyotik kültür ilavesi yapılabilirse, özellikle çürük insidansının yüksek olduğu çocuklarda *S.mutans* seviyesinin düşmesine katkıda bulunulabilir.

## ÖZET

### Laktik Asit Bakterilerinin Ağız Sağlığına Olan Etkilerinin İncelenmesi

Oral kavite, zengin ve farklı türlerin bir arada bir denge içinde bulunduğu karmaşık bir ekosistem olarak tanımlanabilir. Ağız ekolojisindeki bu denge bozulduğunda, potansiyel patojenler rekabet üstünlüğü kazanır ve diş çürüğü gibi enfeksiyonel hastalıkları oluşturabilir. Enfeksiyonel ağız hastalıklarını önlemede ve hastalıklardan korunmada yeni yöntemlerin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmektedir. *Streptococcus mutans* ve laktik asit üreten bazı laktobasillerin karbonhidratları fermente ederek düşük pH oluşturdukları ve sonucunda diş çürüğüne sebep oldukları gösterilmiştir. Buna karşın, bazı laktik asit bakterilerinin gastrointestinal ve oral enfeksiyonların kontrolünde kullanıldığı bildirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite gösteren bu bakterilerin, konak sağlığı için faydalı olan, probiyotik özellik gösterdiği kabul edilmektedir. Probiyotik kültürler içeren süt ve süt ürünlerinin diş sağlığını olumlu yönde etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda, diş sağlığı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle, doğal floradan izole edilmiş ve probiyotik özellik gösteren en uygun laktik asit bakterisinin in vitro yöntemle belirlenmesi, belirlenen probiyotik özellikli bakterinin ağız probiyotiği olarak kullanılması ve ağız sağlığına olumlu etkilerinin in vivo yöntemle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, doğal ağız florasından izole edilmiş ve diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisi belirlenmiş ve bu bakteri kültürü ile hazırlanan gargara çalışmanın ikinci kısmında çalışma grubunu oluşturan 20 ilkokul öğrencisine uygulanmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 20 öğrenciye ise distile su ile çalkalama işlemi eş zamanlı olarak yaptırılmıştır. Çalışma sonunda, çalışma grubundaki öğrencilerin oral florasındaki *S.mutans* miktarında anlamlı bir azalma olduğu ve kontrol grubunda ise anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, özellikle çocuklarda, doğal ağız florasından izole edilmiş, probiyotik kültürlerin düzenli kullanımının, ağız içi florasındaki *S.mutans* bakterilerinin sayısını azalttığı gözlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Diş çürüğü, laktik asit bakterileri, *S.mutans*, probiyotik kültürler.

## ABSTRACT

### Investigation of the Effects of Lactic Acid Bacteria on Oral Health

Oral cavity can be described as a complex ecosystem with balance of a combination of rich and different species. When this balance of oral ecology fails, potential pathogens can create competitive advantage and make infectious diseases, such as dental caries. Researches are ongoing for the development of new methods to the prevention and protection from infectious oral diseases. It has been shown that some of *Streptococcus mutans* and *lactobacilli* producing lactic acid by fermenting carbohydrates and formed to cause tooth decay as a result of low pH. However, it has been reported that some lactic acid bacteria were used in the control of gastrointestinal and oral infections. It has been considered that this bacterium, showing the antimicrobial activity, which is useful for the health of the host, shows probiotics property. It has been demonstrated that these bacteria, showing the antimicrobial activity, beneficial for host health, considered probiotic properties. Various studies have demonstrated that milk and milk products containing probiotic cultures, have positive effect on dental health.

Due to positive effects on dental health most appropriate lactic acid bacteria, isolated from the natural flora and possess probiotic, in our study, it has been aimed that determining the probiotic bacteria with in-vitro method, using the bacteria for mouth probiotics, and investigating the positive effects to oral health in-vivo. For this purpose, lactic acid bacteria, determined that, it is the lactic acid bacteria, isolated from the natural oral flora and shows the best hold to the tooth surface. On the second part of this study gargle prepared by culture of bacteria applied on experimental group which was a group of 20 elementary school students. The control group consisted of 20 students was built simultaneously with the process of rinsing with distilled water. At the end of the study, the experimental group students showed a significant decrease in the amount of oral flora *S.mutans*, and change in the control group was not significant.

As a result, especially on children, the regular use of probiotic cultures which have been isolated from the natural oral flora, decreases the number of *S.mutans* bacteria in oral flora.

**Key words:** Dental caries, lactic acid bacteria, *S.mutans*, probiotic cultures.



## KAYNAKLAR

Adams MR, Marteau P. On the safety of lactic acid bacteria from food. *Int J Food Microbiol* 1995; 27: 263-264.

Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH. et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol* 2002; 47: 799-804.

Ahrne S, Nobaek S, Jeppsson B, Adlerberth I, Wold AE, Molin G. The normal Lactobacillus flora of healthy human rectal and oral mucosa. *J Appl Microbiol* 1998; 85: 88-94.

Alander M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T. et al. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, Lactobacillus rhamnosus GG, after oral consumption. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 351-354.

Amerongen AV, Veerman EC. Saliva--the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002; 8: 12-22.

Andersson H, Asp N, Bruce A, Roos S, Wadstrom T, Wold A. Health effects of probiotics and prebiotics: a literature review on human studies. *Scand J Nutr* 2001; 45: 58-75.

Axelsson P. *Diagnosis and risk prediction of dental caries*. Germany: Quintessence Publishing, 2000.

Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL. et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1001-1009.

Bengmark S. Pre-, pro- and synbiotics. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4:571-579.

Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, Gueguen, M. Safety assessment of dairy microorganisms: the Lactobacillus genus. *Int J Food Microbiol* 2008; 126: 278-285.

Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc* 2009; 75: 585-590.

Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. A preliminary study of the effect of probiotic Streptococcus salivarius K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol* 2006; 100: 754-764.

Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using Streptococcus salivarius probiotics. *Oral Dis* 2005; 11 Suppl 1: 29-31.

Busscher HJ, Mulder AF, Van der Mei HC. In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt. *Caries Res* 1999; 33: 403-404.

Carlen A, Olsson J, Ramberg P. Saliva mediated adherence, aggregation and prevalence in dental plaque of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces* spp, in young and elderly humans. *Arch Oral Biol* 1996; 41: 1133-1140.

Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 1993; 72: 37-45.

Chhour KL, Nadkarni MA, Byun R, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 843-849.

Chiang BL, Sheih YH, Wang LH, Liao CK, Gill HS. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54: 849-855.

Chuang LC, Huang CS, Ou-Yang LW, Lin SY. Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clin Oral Investig* 2010;

Chung J, Ha ES, Park HR, Kim S. Isolation and characterization of *Lactobacillus* species inhibiting the formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 214-216.

Cole MF, Bryan S, Evans MK, Pearce CL, Sheridan MJ, Sura PA. et al. Humoral immunity to commensal oral bacteria in human infants: salivary antibodies reactive with *Actinomyces naeslundii* genospecies 1 and 2 during colonization. *Infect Immun* 1998; 66: 4283-4289.

Colloca ME, Ahumada MC, Lopez ME, Nader-Macias ME. Surface properties of lactobacilli isolated from healthy subjects. *Oral Dis* 2000; 6: 227-233.

Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser JR. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 218-224.

Commane D, Hughes R, Shortt C, Rowland I. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. *Mutat Res* 2005; 591: 276-289.

Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006; 49: 128-148.

Cross ML, Mortensen RR, Kudsk J, Gill HS. Dietary intake of *Lactobacillus rhamnosus* HNOO1 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice. *Med Microbiol Immunol* 2002; 191: 49-53.

Çağlar E, Çıldır SK, Ergeneli S, Sandallı N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium

Lactobacillus reuteri ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand* 2006; 64: 314-318.

Çağlar E, Kargül B, Tanboğa İ. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis* 2005a; 11: 131-137.

Çağlar E, Kavaloğlu SC, Kuşcu OO, Sandallı N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Investig* 2007; 11: 425-429.

Çağlar E, Kuşcu OO, Cıldır SK, Kuvvetli SS, Sandallı N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Int J Paediatr Dent* 2008a; 18: 35-39.

Çağlar E, Kuşcu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloğlu Cıldır S, Sandallı N, Twetman S. Short-term effect of ice-cream containing Bifidobacterium lactis Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Acta Odontol Scand* 2008b; 66: 154-158.

Çağlar E, Larsson E, Andersson EM, Hauge MS, Ogaard B, Bishara S. et al. Feeding, artificial sucking habits, and malocclusions in 3-year-old girls in different regions of the world. *J Dent Child (Chic)* 2005b; 72: 25-30.

Çağlar E, Sandallı N, Twetman S, Kavaloğlu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of yogurt with Bifidobacterium DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontol Scand* 2005c; 63: 317-320.

Çağlar E, Topcuoğlu N, Cıldır SK, Sandallı N, Külekçi G. Oral colonization by Lactobacillus reuteri ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int J Paediatr Dent* 2009; 19: 377-381.

D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ* 2002; 324: 1361.

Delanghe G, Ghyselen J, Van Steenberghe D, Feenstra L. Multidisciplinary breath-odour clinic. *Lancet* 1997; 350: 187.

Drakes M, Blanchard T, Czinn S. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infect Immun* 2004; 72: 3299-3309.

Edwards CA, Parrett AM. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88 Suppl 1: S11-18.

Elahi S, Pang G, Ashman R, Clancy R. Enhanced clearance of Candida albicans from the oral cavities of mice following oral administration of Lactobacillus acidophilus. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 29-36.

Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr* 2000; 130: 403S-409S.

- Erten Ö. (2005) Diş çürüklerine karşı probiyotiklerin kullanılma olanakları. Süleyman Demirel Üniversitesi *Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*. Isparta, 2005.
- Falck G, Grahn-Hakansson E, Holm SE, Roos K, Lagergren L. Tolerance and efficacy of interfering alpha-streptococci in recurrence of streptococcal pharyngotonsillitis: a placebo-controlled study. *Acta Otolaryngol* 1999; 119: 944-948.
- Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi, V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr Suppl* 2003; 91: 48-55.
- Fejerskov O, Kidd E. *Dental Caries The Disease And Its Clinical Management*. 1.st.ed., Denmark: Blackwell Munksgaard, 2003.
- Filoche SK, Anderson SA, Sissons CH. Biofilm growth of Lactobacillus species is promoted by Actinomyces species and Streptococcus mutans. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 322-326.
- Fitzgerald RJ, Adams BO, Fitzgerald DB, Knox KW. Cariogenicity of human plaque lactobacilli in gnotobiotic rats. *J Dent Res* 1981; 60: 919-926.
- Folster-Holst R. Probiotics in the treatment and prevention of atopic dermatitis. *Ann Nutr Metab* 2010; 57 Suppl: 16-19.
- Fukushima Y, Kawata Y, Hara H, Terada A, Mitsuoka T. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int J Food Microbiol* 1998; 42: 39-44.
- Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut* 1991; 32: 439-442.
- Fuller R, Gibson GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1997; 222: 28-31.
- Ganzle MG, Holtzel A, Walter J, Jung G, Hammes WP. Characterization of reutericyclin produced by Lactobacillus reuteri LTH2584. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 4325-4333.
- Gardiner D, Murphey S, Ossman E, Jungkind D. Prevalence and acquisition of vancomycin-resistant enterococci in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23: 466-468.
- Gibbons RJ. Role of adhesion in microbial colonization of host tissues: a contribution of oral microbiology. *J Dent Res* 1996; 75: 866-870.
- Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401-1412.
- Gill H, Prasad J. Probiotics, immunomodulation, and health benefits. *Adv Exp Med Biol* 2008; 606: 423-454.

- Gill HS, Cross ML, Rutherford KJ, Gopal PK. Dietary probiotic supplementation to enhance cellular immunity in the elderly. *Br J Biomed Sci* 2001a; 58: 94-96.
- Gill HS, Rutherford KJ, Cross ML, Gopal, P. K. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *Am J Clin Nutr* 2001b; 74: 833-839.
- Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G. et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119: 305-309.
- Gorbach SL. Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med* 1990; 22: 37-41.
- Gorbach SL, Goldin BR. The intestinal microflora and the colon cancer connection. *Rev Infect Dis* 1990; 12 Suppl 2: S252-261.
- Grudianov AI, Dmitrieva NA, Fomenko EV. Use of probiotics Bifidumbacterin and Acilact in tablets in therapy of periodontal inflammations. *Stomatologiya (Mosk)* 2002; 81: 39-43.
- Guan YH, De Graaf T, Lath DL, Humphreys SM, Marlow I, Brook AH. Selection of oral microbial adhesion antagonists using biotinylated *Streptococcus sanguis* and a human mixed oral microflora. *Arch Oral Biol* 2001; 46: 129-138.
- Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S. Is lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 453-457.
- Haffajee AD, Arguello EI, Ximenez-Fyvie LA, Socransky SS. Controlling the plaque biofilm. *Int Dent J* 2003; 53 Suppl 3: 191-199.
- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG. et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-67.
- Hata Y, Yamamoto M, Ohni M, Nakajima K, Nakamura Y, Takano TA. Placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 767-771.
- Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH. et al. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly--a randomized controlled trial. *J Dent Res* 2007; 86: 125-130.
- Haukioja A. Probiotics and oral health. *Eur J Dent* 2010; 4: 348-355.
- Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuo J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 336-343.

- Haukioja, A., Yli-Knuuttila, H., Loimaranta, V., Kari, K., Ouwehand, A. C., Meurman, J. H., et al. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 326-332.
- Hayatsu H, Hayatsu T. Suppressing effect of *Lactobacillus casei* administration on the urinary mutagenicity arising from ingestion of fried ground beef in the human. *Cancer Lett* 1993; 73: 173-179.
- He F, Ouwehand AC, Isolauri E, Hosoda M, Benno Y, Salminen S. Differences in composition and mucosal adhesion of bifidobacteria isolated from healthy adults and healthy seniors. *Curr Microbiol* 2001; 43: 351-354.
- Henker J, Schuster F, Nissler K. Successful treatment of gut-caused halitosis with a suspension of living non-pathogenic *Escherichia coli* bacteria--a case report. *Eur J Pediatr* 2001; 160: 592-594.
- Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard JP, Ricour C, Jacquemin JL. et al. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 16-20.
- Herne K, Cirelli R, Lee P, Tyring SK. Antiviral therapy of acute herpes zoster in older patients. *Drugs Aging* 1996; 8: 97-112.
- Hillman JD. Genetically modified *Streptococcus mutans* for the prevention of dental caries. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 82: 361-366.
- Hillman JD, Chen A, Duncan M, Lee SW. Evidence that L-(+)-lactate dehydrogenase deficiency is lethal in *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 1994; 62: 60-64.
- Hillman JD, Shivers M. Interaction between wild-type, mutant and revertant forms of the bacterium *Streptococcus sanguis* and the bacterium *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in vitro and in the gnotobiotic rat. *Arch Oral Biol* 1988; 33: 395-401.
- Hillman JD, Socransky SS. Bacterial interference in the oral ecology of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and its relationship to human periodontitis. *Arch Oral Biol* 1982; 27: 75-77.
- Hillman JD, Socransky SS, Shivers M. The relationships between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Arch Oral Biol* 1985; 30: 791-795.
- Horz HP, Meinelt A, Houben B, Conrads G. Distribution and persistence of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in the human oral cavity as determined by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 126-130.
- Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2625-2634.
- Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001; 85: 162-169.

- Hyink O, Wescombe PA, Upton M, Ragland N, Burton JP, Tagg JR. Salivaricin A2 and the novel lantibiotic salivaricin B are encoded at adjacent loci on a 190-kilobase transmissible megaplasmid in the oral probiotic strain *Streptococcus salivarius* K12. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 1107-1113.
- Ishihara K, Miyakawa H, Hasegawa A, Takazoe I, Kawai Y. Growth inhibition of *Streptococcus mutans* by cellular extracts of human intestinal lactic acid bacteria. *Infect Immun* 1985; 49: 692-694.
- Ishikawa H, Aiba Y, Nakanishi M, Oh-hashii Y, Koga Y. Suppression of periodontal pathogenic bacteria in the saliva of humans by the administration of *Lactobacillus salivarius* TI 2711. *J Jpn Soc Periodontol* 2003; 45: 105-112.
- Johnson CP, Gross SM, Hillman JD. Cariogenic potential in vitro in man and in vivo in the rat of lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 1980; 25: 707-713.
- Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res* 1992; 32: 141-144.
- Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001a; 107: 129-134.
- Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001b; 357: 1076-1079.
- Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869-1871.
- Kang MS, Chung J, Kim SM, Yang KH, Oh JS. Effect of *Weissella cibaria* isolates on the formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *Caries Res* 2006a; 40: 418-425.
- Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee C, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol* 2006b; 33: 226-232.
- Kargül B, Çağlar E, Tanboğa İ. History of water fluoridation. *J Clin Pediatr Dent* 2003; 27: 213-217.
- Kaya S. *Tükürük Bezi Hastalıkları*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 1997.
- Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE. et al. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 558-563.
- Keijser BJ, Zaura E, Huse SM, Van der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC. et al. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res* 2008; 87: 1016-1020.

- Kirkup BC Jr. Bacteriocins as oral and gastrointestinal antibiotics: theoretical considerations, applied research, and practical applications. *Curr Med Chem* 2006; 13: 3335-3350.
- Koch G, Poulsen S. *Pediatric Dentistry-a clinical approach*. 2nd ed., Copenhagen: Blackwell Munksgaard,, 2003.
- Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster JS, Palmer RJ Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66: 486-505, table of contents.
- Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarstrom L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol* 2005a; 20: 354-361.
- Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Mikelsaar M. Oral microbial ecology in chronic periodontitis and periodontal health. *Microb Ecol Health Dis* 2005b; 17: 146-155.
- Kononen E, Kanervo A, Takala A, Asikainen S, Jousimies-Somer H. Establishment of oral anaerobes during the first year of life. *J Dent Res* 1999; 78: 1634-1639.
- Kragen H. The treatment of inflammatory affections of the oral mucosa with a lactic acid bacterial culture preparation. *Zahnarztl Welt* 1954; 9: 306-308.
- Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 2006; 30: 55-60.
- Lee YK, Salminen S. *Handbook of Probiotics and Prebiotics*. 2nd. Canada: Wiley, 2009.
- Lenoir-Wijnkoop I, Sanders ME, Cabana MD, Çağlar E, Corthier G, Rayes N. et al. Probiotic and prebiotic influence beyond the intestinal tract. *Nutr Rev* 2007; 65: 469-489.
- Levine RS. Milk, flavoured milk products and caries. *Br Dent J* 2001; 191: 20.
- Lidbeck A, Nord CE, Gustafsson JA, Rafter J. Lactobacilli, anticarcinogenic activities and human intestinal microflora. *Eur J Cancer Prev* 1992; 1: 341-353.
- Liljemark WF, Bloomquist C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996; 7: 180-198.
- Lodi CS, Manarelli MM, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem AC, Martinhon CC. Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: in situ study. *Arch Oral Biol* 2010; 55: 29-33.
- Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50: 353-380.



- Ma D, Forsythe P, Bienenstock J. Live *Lactobacillus reuteri* is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. *Infect Immun* 2004; 72: 5308-5314.
- Mack DR, Lebel S. Role of probiotics in the modulation of intestinal infections and inflammation. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20: 22-26.
- Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1035S-1045S.
- Madsen K, Cornish A, Soper P, McKaigney C, Jijon H, Yachimec C. et al. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2001; 121: 580-591.
- Madsen KL. The use of probiotics in gastrointestinal disease. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 817-822.
- Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 644-654.
- Maltz M, De Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int* 2002; 33: 151-159.
- Manning TS, Gibson GR. Microbial-gut interactions in health and disease. Prebiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 287-298.
- Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. 4th ed. . Chine: Oxford: Wright, 1999.
- Marteau PR. Probiotics in clinical conditions. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002; 22: 255-273.
- Marthaler TM. Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004; 38: 173-181.
- Matsumoto M, Tsuji M, Sasaki H, Fujita K, Nomura R, Nakano K. et al. Cariogenicity of the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* in rats. *Caries Res* 2005; 39: 479-483.
- Matsuzaki T, Chin J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol* 2000; 78: 67-73.
- Matsuzaki T, Yamazaki R, Hashimoto S, Yokokura T. The effect of oral feeding of *Lactobacillus casei* strain Shirota on immunoglobulin E production in mice. *J Dairy Sci* 1998; 81: 48-53.
- Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y. et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 506-513.
- McDonald R, Avery D, Dean JA. (2004) *Dentistry for the Child and Adolescence*. 8 th. ed. ed. USA, Mosby.

Meurman J, Antila H, Salminen S. Recovery of Lactobacillus strain GG (ATCC 53103) from saliva of healthy volunteers after consumption of yoghurt prepared with the bacterium *Microb Ecol Health Dis* 1994; 7: 295-298.

Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 188-196.

Meurman JH, Antila H, Korhonen A, Salminen S. Effect of Lactobacillus rhamnosus strain GG (ATCC 53103) on the growth of Streptococcus sobrinus in vitro. *Eur J Oral Sci* 1995; 103: 253-258.

Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis* 2007; 13: 443-451.

Michail S, Sylvester F, Fuchs G, Isseman R. Clinical efficacy of probiotics: review of the evidence with focus on children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 43: 550-557.

Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Verdu E, Herranz M. et al. Effect of whey-based culture supernatant of Lactobacillus acidophilus (johnsonii) La1 on Helicobacter pylori infection in humans. *Digestion* 1999; 60: 203-209.

Miettinen M, Lehtonen A, Julkunen I, Matikainen S. Lactobacilli and Streptococci activate NF-kappa B and STAT signaling pathways in human macrophages. *J Immunol* 2000; 164: 3733-3740.

Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V. et al. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion* 2004; 69: 53-56.

Monten U, Wennstrom JL, Ramberg P. Periodontal conditions in male adolescents using smokeless tobacco (moist snuff). *J Clin Periodontol* 2006; 33: 863-868.

Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of Helicobacter pylori to the glycolipid receptors by probiotic Lactobacillus reuteri. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 32: 105-110.

Mukai T, Kaneko S, Ohori H. Haemagglutination and glycolipid-binding activities of Lactobacillus reuteri. *Lett Appl Microbiol* 1998; 27: 130-134.

Muscettola M, Massai L, Tanganelli C, Grasso G. Effects of lactobacilli on interferon production in young and aged mice. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 717: 226-232.

Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr* 1999; 39: 13-126.

Nalini N, Manju V, Menon VP. Effect of coconut cake on the bacterial enzyme activity in 1,2-dimethyl hydrazine induced colon cancer. *Clin Chim Acta* 2004; 342: 203-210.

- Narva M, Halleen J, Vaananen K, Korpela R. Effects of *Lactobacillus helveticus* fermented milk on bone cells in vitro. *Life Sci* 2004; 75: 1727-1734.
- Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T. et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 2001; 35: 412-420.
- Newman M, Takei H, Carranza F. *Carranza's Clinical Periodontology*. Ninth. Philadelphia-USA: WB. Saunders Company, 2002.
- Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K. et al. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol* 2004; 95: 219-223.
- Nolte A. *Oral microbiology with basic microbiology and immunology*. USA: Mosby Company, 1982.
- Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 82: 279-289.
- Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol* 2006; 100: 1171-1185.
- Pena JA, Rogers AB, Ge Z, Ng V, Li SY, Fox JG. et al. Probiotic *Lactobacillus* spp. diminish *Helicobacter hepaticus*-induced inflammatory bowel disease in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 2005; 73: 912-920.
- Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I. et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118: 511-521.
- Perdigon G, Vintini E, Alvarez S, Medina M, Medici M. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1999; 82: 1108-1114.
- Petti S, Tarsitani G, D'Arca AS. A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora. *Arch Oral Biol* 2001; 46: 705-712.
- Petti S, Tarsitani G, Simonetti D'Arca A. Antibacterial activity of yoghurt against viridans streptococci in vitro. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 985-990.
- Pham LC, Van Spanning RJ, Roling WF, Prosperi AC, Terefework Z, Ten Cate JM. et al. Effects of probiotic *Lactobacillus salivarius* W24 on the compositional stability of oral microbial communities. *Arch Oral Biol* 2009; 54: 132-137.
- Polonskaya M. Antibiotic from acidophilus. *Microbiologiya* 1952; 21: 303-310.
- Pozharitskaia MM, Morozova LV, Mel'nichuk GM, Mel'nichuk SS. The use of the new bacterial biopreparation Acilact in the combined treatment of periodontitis. *Stomatologiia (Mosk)* 1994; 73: 17-20.

- Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004; 118: 229-241.
- Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H, Pietarinen I, Saxelin M, Tynkkynen S. et al. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1159-1160.
- Reid G. Safety of lactobacillus strains as probiotic agents. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 349-350.
- Reid G, Devillard E. Probiotics for mother and child. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S94-101.
- Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 658-672.
- Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH. et al. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995; 74: 1272-1279.
- Riccia DN, Bizzini F, Perilli M, Polimeni A, Trinchieri V, Amicosante G. et al. Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease. *Oral Dis* 2007; 13: 376-385.
- Roberts FA, Darveau RP. Beneficial bacteria of the periodontium. *Periodontol* 2000 2002; 30: 40-50.
- Roos K, Grahn E, Holm SE, Johansson H, Lind L. Interfering alpha-streptococci as a protection against recurrent streptococcal tonsillitis in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1993a; 25: 141-148.
- Roos K, Hakansson EG, Holm S. Effect of recolonisation with "interfering" alpha streptococci on recurrences of acute and secretory otitis media in children: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2001; 322: 210-212.
- Roos K, Holm SE, Grahn-Hakansson E, Lagergren L. Recolonization with selected alpha-streptococci for prophylaxis of recurrent streptococcal pharyngotonsillitis--a randomized placebo-controlled multicentre study. *Scand J Infect Dis* 1996; 28: 459-462.
- Roos K, Holm SE, Grahn E, Lind L. Alpha-streptococci as supplementary treatment of recurrent streptococcal tonsillitis: a randomized placebo-controlled study. *Scand J Infect Dis* 1993b; 25: 31-35.
- Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 261-267.
- Salminen S, Von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, De Vos WM. et al. Demonstration of safety of probiotics -- a review. *Int J Food Microbiol* 1998; 44: 93-106.

Samaranayake L. *Essential microbiology for dentistry. 3rd.* London: Churchill Livingstone, 2006.

Sambrook J, Fritsch E, Maniatis F. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* Second. 1989.

Savino F, Pelle E, Palumeri E, Oggero R, Miniero R. Lactobacillus reuteri (American Type Culture Collection Strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic: a prospective randomized study. *Pediatrics* 2007; 119: e124-130.

Schulze J, Sonnenborn U. Yeasts in the gut: from commensals to infectious agents. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106: 837-842.

Scully C, Greenman J. Halitosis (breath odor). *Periodontol 2000* 2008; 48: 66-75.

Sela M, Gedalia I, Shah L, Skobe Z, Kashket S, Lewinstein I. Enamel rehardening with cheese in irradiated patients. *Am J Dent* 1994; 7: 134-136.

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

Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 958-966.

Sheih YH, Chiang BL, Wang LH, Liao CK, Gill HS. Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium Lactobacillus rhamnosus HN001. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 149-156.

Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K. et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with Lactobacillus salivarius WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 897-905.

Shimazaki Y, Shiota T, Uchida K, Yonemoto K, Kiyohara Y, Iida M. et al. Intake of dairy products and periodontal disease: the Hisayama Study. *J Periodontol* 2008; 79: 131-137.

Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 1231-1233.

Simark-Mattsson C, Emilson CG, Hakansson EG, Jacobsson C, Roos K, Holm S. Lactobacillus-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur J Oral Sci* 2007; 115: 308-314.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002; 28: 12-55.

Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J Appl Microbiol* 2001; 90: 172-179.

- Srionnual S, Yanagida F, Lin LH, Hsiao KN, Chen YS. Weissellicin 110, a newly discovered bacteriocin from *Weissella cibaria* 110, isolated from plaa-som, a fermented fish product from Thailand. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 2247-2250.
- Staab B, Eick S, Knofler G, Jentsch H. The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 850-856.
- Stamatova I, Kari K, Vladimirov S, Meurman JH. In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion to saliva-coated surfaces. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24: 218-223.
- Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: health benefits in the mouth. *Am J Dent* 2009; 22: 329-338.
- Stecksen-Blicks C, Sunnegardh K, Borssen E. Caries experience and background factors in 4-year-old children: time trends 1967-2002. *Caries Res* 2004; 38: 149-155.
- Sullivan A, Nord CE. Probiotics in human infections. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: 625-627.
- Szajewska H, Mrukowicz JZ. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33 Suppl 2: S17-25.
- Tagg JR, Dierksen KP. Bacterial replacement therapy: adapting 'germ warfare' to infection prevention. *Trends Biotechnol* 2003; 21: 217-223.
- Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ. Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32: 1854-1858.
- Tanboğa İ, Çağlar E, Kargül B. Campaign of probiotic food consumption in Turkish children, oral perspectives 'Probiotics for your child'. *Int J Paediatr Dent* 2003; 13 (Suppl 1): 59.
- Tanner AC, Milgrom PM, Kent R Jr, Mokeem SA, Page RC, Riedy CA. et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. *J Dent Res* 2002; 81: 53-57.
- Tannock GW, Fuller R, Smith SL, Hall MA. Plasmid profiling of members of the family Enterobacteriaceae, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1225-1228.
- Teughels W, Kinder Haake S, Sliepen I, Pauwels M, Van Eldere J, Cassiman JJ. et al. Bacteria interfere with *A. actinomycetemcomitans* colonization. *J Dent Res* 2007a; 86: 611-617.
- Teughels W, Newman MG, Coucke W, Haffajee AD, Van Der Mei HC, Haake SK. et al. Guiding periodontal pocket recolonization: a proof of concept. *J Dent Res* 2007b; 86: 1078-1082.

- Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000* 2008; 48: 111-147.
- Toi C, Mogodiri R, Cleaton-Jones P. Mutants streptococci and lactobacilli on healthy and carious teeth in the same mouth of children with and without dental caries. *Microbial Ecol Health Dis* 2000; 12: 227-233.
- Tsubura S, Mizunuma H, Ishikawa S, Oyake I, Okabayashi M, Katoh K. et al. The effect of Bacillus subtilis mouth rinsing in patients with periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28: 1353-1356.
- Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yücel-Lindberg T, Steckslen-Blicks C. Short-term effect of chewing gums containing probiotic Lactobacillus reuteri on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 19-24.
- Twetman S, Steckslen-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent* 2008; 18: 3-10.
- Valeur N, Engel P, Carbajal N, Connolly E, Ladefoged K. Colonization and immunomodulation by Lactobacillus reuteri ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 1176-1181.
- Van den Velde S, Quirynen M, Van Hee P, Van Steenberghe D. Differences between alveolar air and mouth air. *Anal Chem* 2007; 79: 3425-3429.
- Van Hoogmoed CG, Geertsema-Doornbusch GI, Teughels W, Quirynen M, Busscher HJ, Van der Mei HC. Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 43-48.
- Von Bodman SB, Willey JM, Diggle SP. Cell-cell communication in bacteria: united we stand. *J Bacteriol* 2008; 190: 4377-4391.
- Weizman Z, Aslı G, Alsheikh A. Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics* 2005; 115: 5-9.
- Xie Q, Li J, Zhou X. Anticaries effect of compounds extracted from Galla chinensis in a multispecies biofilm model. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 459-465.
- Yli-Knuuttila H, Snall J, Kari K, Meurman JH. Colonization of Lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 129-131.
- Zahradnik RT, Magnusson I, Walker C, McDonnell E, Hillman CH, Hillman JD. Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of ProBiora3, a probiotic mouthwash. *J Appl Microbiol* 2009; 107: 682-690.

Ek-1

EĞER ÇOCUĞUNUZUN MUAYENE EDİLMESİNİ İSTEMİYORSANIZ FORMU  
DODURMADAN AŞAĞIDAKİ KUTUYU İŞARETLEYEREK LÜTFEN FORMU İADE  
EDİNİZ.

Çocuğumun ağız ve dişlerinin muayene edilmesini istemiyorum.

Çocuğun adı soyadı:

Veli imza:

## BÖLÜM -1 EBEVEYN TARAFINDAN DOLDURULACAKTIR

### BİLGİ EDİNME FORMU

#### Çocuğunuzun:

- **Adı soyadı:**
- **Adresi:**
- **Tel:**
- **Kardeş sayısı:**      **Doğum tarihi (gün/ay/yıl):**      **Doğum yeri:**
- **Doğum şekli:**      Normal       Diğer
- **Doğum zamanı:**      Normal       Erken
- **Çocuğunuzun kalp hastalığı, böbrek hastalığı gibi ciddi bir rahatsızlığı var mı?**  
.....
- **Çocuğunuz herhangi bir sebepten dolayı hiç ameliyat oldu mu (oldu ise ne ameliyatı?), hastanede yattı mı (Sebebi?):**.....
- **Devamlı içmek zorunda olduğu ilaç var mı? Varsa isimleri:**.....
- **Penisilin, aspirin, yumurta, çilek vb herhangi bir şeye karşı alerjisi var mı?**.....
- **Çocuğunuzun herhangi bir kötü alışkanlığı var mı? (varsa işaretleyiniz).**  
Dil ya da dudak emme       Emzik emme       Dudak-yanak  
ısıрма



- Kalem ısırma  Tırnak yeme  Parmak emme   
Diş gıcırdatma  Elini devamlı çeneye dayama   
Uzun süreli sakız çiğneme  Uzun süreli biberon ya da emzik kullanımı

Diğer

(Belirtiniz).....

- Dişlerini hangi sıklıkla fırçalıyor?

Günde 1:  Günde 2:  Günde 3:  Ara sıra.  Hiç:

- Kullandığı çocuk diş macununun markası:.....

- Çocuğunuzun sıklıkla tükettiği yiyecek ve içecek türlerinden beş tanesini yazınız

.....  
.....

- Çocuğunuz günde ne kadar süt, yoğurt, peynir tüketmektedir?

.....

A. Anne ve babanın eğitim seviyesi:

	İlkokul	Ortaokul	Lise	Üniversite	Yaptığı iş
Anne:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Baba:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

B. Anne ve babanın meslekleri ve şu an yaptıkları işler:

Anne.....

Baba.....

- Çocuğunuzun dişleriyle ilgili olarak hoşunuza gitmeyen durumlar nelerdir?

Dişlerinin eğriliği:  Dişlerinin üzerindeki beyaz, kahverengi

lekeler:

Dişlerinin aralıklı oluşu:

Dişlerinin çürük oluşu:

- Çocuğunuzun hangi sıklıkla diş hekimine götürüyorsunuz?

3 ayda bir kez:

6 ayda bir kez:

Senede bir kez:

Şikayeti

olduğunda:

Bunlara ek olarak çocuğunuzla ilgili olarak belirtmek istediğiniz bir şey var mı? .....

.....

Bize iletmek istediğiniz düşünceniz.....

.....

## AĞIZIÇI MUAYENE BULGULARI


\*\*Dişlerdeki çürük lezyonlarının derecesini ve dişlerde gözlenen problemleri aşağıdaki kodları kullanarak muayene bulgularına ekleyiniz.

<p>Çürük lezyonu (Ç: çürük)</p> <p>Ç (0): Opak renkleşmeli çürük lezyon</p> <p>Ç (1): Sadece mineyi içeren çürük</p> <p>Ç (2): Dentin + mineyi içeren çürük</p> <p>Ç (3): Pulpa perforasyonlu çürük</p> <p>Ç (4): Sadece kökü içeren çürük</p>	<p>+: Travma sonucu kırığı olan diş</p> <p>●: Çapraz kapanışta olan diş</p> <p>++: Rotasyona uğramış diş</p> <p>■: Herediter bozukluk</p> <p>▲: Turner hipoplazisi</p>	<p>□: Sürnünerer diş</p> <p>○: Konjenital eksik diş</p> <p>‡: Ark dışında kalmış diş</p> <p>⊗: Sürmekte olan diş</p> <p>E: Ektopik diş</p>
--	--	--

- Oral hijyen durumu (Basitleştirilmiş Oral Hijyen İndeksine göre):

(16) Bukkal	(11) Labial	(26) Bukkal	Debris! Çökümlü!
(46) Lingual	(31) Labial	(36) Lingual	

Okluzyonun değerlendirilmesi

Hastanın ağzında mevcut olan okluzyon	Sağ alt-üst yarım çeneler için			Sol alt-üst yarım çeneler için		
	Sınıf I	Sınıf II	Sınıf III	Sınıf I	Sınıf II	Sınıf III
Daimi azı dişleri						
	Mezial	Distal	Başabaş	Mezial	Distal	Başabaş
Süt azı dişleri						
Süt kanin dişleri						

- Overjet:.....mm
- Overbite:.....mm
- Derin kapanış: var O (varsa:.....mm) yok O
- Open-bite: var O yok O
- Yüz profili düz O konveks O konkav O
- Yüz şekli köşeli O oval O yuvarlak O uzun köşeli O

**Yapılan muayene sonucu çocuğun diş hekimi ve/veya diş uzman hekimine başvurması**

Gerekmektedir O

Gerekmemektedir O

**S.D.Ü. TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI FAKÜLTE ETİK KURULU KARARLARI**

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
23.06.2009	04	32

Fakülte Etik Kurulu 23 Haziran 2009 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.,

32- SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Zuhal KIRZIOĞLU'nun "Laktik Asit Bakterilerinin Ağız Sağlığına Olumlu Etkilerinin İncelenmesi." konulu çalışma;

Etik Kurul tarafından uygun görülmüştür.

(İMZA)  
Prof. Dr.Yıldırım SONGÜR  
BAŞKAN

(KATILMADI)  
Prof. Dr. Ahmet Rifat ÖRMECİ  
ÜYE

(KATILMADI)  
Prof.Dr.Mahmut BÜLBÜL  
ÜYE

(İMZA)  
Doç.Dr.Pınar YÜKSEL BAŞAK  
ÜYE

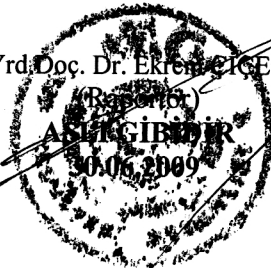
(İMZA)  
Yrd.Doç. Dr. Esin KULAÇ  
ÜYE

Doç.Dr.Nilgün KAPUCUOĞLU  
ÜYE  
(İMZA)

Yrd.Doç.Dr.Duygu KUMBUL DOĞUŞ  
ÜYE  
(İMZA)

Yrd. Doç. Dr.Ekrem ÇİÇEK  
ÜYE  
(İMZA)

Yrd.Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK



## ÖZGEÇMİŞ

### I-Bireysel Bilgiler

**Adı:** Özge

**Soyadı:** (ERKEN) GÜNGÖR

**Doğum yeri ve tarihi:** Sivrihisar/ESKİŞEHİR-05.07.1982

**Uyruğu:** TC

**Medeni durumu:** Evli

### II-Eğitim Bilgileri

1989-1993: Cumhuriyet İlk Okulu-Sivrihisar/ESKİŞEHİR

1993-1996: Sivrihisar Lisesi- Sivrihisar/ESKİŞEHİR

1996-2000: Hoca Ahmed Yesevi Lisesi-ESKİŞEHİR

2000-2005: Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi-ANKARA

2006-2011: Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD.

**Yabancı dili:** İngilizce