



T. C.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

***LACTOBACILLUS REUTERI*'NİN ORAL KOLONİZASYONUNUN  
HAYVAN MODELİ ÜZERİNDE İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**DİŞHEKİMİ**

**HİLAL ÖZBEY**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. NÜKET SANDALLI**

**İSTANBUL – 2013**

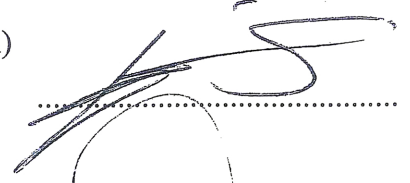
## SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Doktora öğrencisi Dt Hilal ÖZBEY'in çalışması jürimiz tarafından Pedodonti Anabilim Dalı Doktora Tezi olarak uygun görülmüştür.

### İMZA

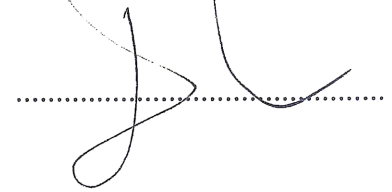
Başkan : Prof. Dr. Nüket SANDALLI( Danışman)

Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Nevzat Eşber ÇAĞLAR

Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Senem Selvi KUVVETLİ

Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



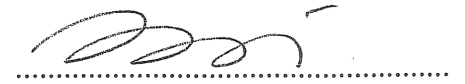
Üye : Prof. Dr. Güven KÜLEKÇİ

Üniversite : İstanbul Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Betül KARGÜL


Üniversite : Marmara Üniversitesi



### ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun .....17.1.2017 tarih ve 8-3 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selçuk YILMAZ  
Müdür



## ÖZET

Probiyotik ürünlerin kullanımının son yıllarda hızla arttığı bilinmektedir. Probiyotik bakteriler, sahip olduğu özellikler nedeniyle ortamda bulunan patojen bakterilerle yer değiştirerek konağa zarar vermeyen ve yarar sağlayan bir ortam yaratmaktadırlar. Bu nedenle çok hızlı gelişim gösteren ve ileri yıllar için umut vaat eden bu ürünlerin ağız florası ve diş plağı üzerine etkileri son yıllarda araştırma konusu olmuştur. Çalışmamızda, *L. reuteri*'nin doğumdan itibaren oral mikrobiyolojik çerçeve içerisine dahil olabilme yeteneğinin in vivo koşullarda sıçanlar üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız için Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

Tükürüklerinde *S. mutans* ve *L. reuteri* bulunmayan 1 aylık 24 adet Spraque Dawley sıçan rastgele üç gruba ayrılmıştır. İlk grup Kontrol grubu olarak belirlenmiştir. 2. ayda *S. mutans* ile infekte edildikten sonra 3. ,4. ve 5. aylarda tükürük mikrobiyolojik analizleri yapılarak *S. mutans* sayıları belirlenmiştir. İkinci grup Probiyotik I grubu olarak belirlenmiştir. 2. ayda *S. mutans* ile 3. ayda *L. reuteri* ile infekte edilmiştir. 3. ,4. ve 5. aylarda tükürük mikrobiyolojik analizleri yapılarak *S. mutans* ve *L. reuteri* sayıları belirlenmiştir. Probiyotik II grubu olarak belirlenen üçüncü grup ise 2. ayda *L. reuteri* ile 3. ayda *S. mutans* ile infekte edilmiştir. 3. ,4. ve 5. aylarda tükürük mikrobiyolojik analizleri yapılarak *S. mutans* ve *L. reuteri* sayıları belirlenmiştir.

*S. mutans* sayıları, Kontrol grubu ve Probiyotik I grubunda 3. ve 4. ayda giderek artmış, 5. ayda azalmıştır. Probiyotik II grubunda 4. ayda artmış, 5. ayda azalmıştır.

*L. reuteri* sayıları, Probiyotik I grubunda 4. ve 5. ayda giderek artmıştır. Probiyotik II grubunda da 3. ,4. ve 5. aylarda her ay artmıştır.

Probiyotik I grubunda *L. reuteri* seviyeleri artarken, *S. mutans* seviyeleri Kontrol grubuna paralel olarak azalmıştır. Probiyotik II grubunda ise *L. reuteri* seviyeleri artarken, *S. mutans* değerleri Kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede başlayıp

tekrar azalmıştır. Bu nedenle, *L. reuteri*' nin 'ilk kolonizasyon suşu' olarak tükürükte daha iyi bir kolonizasyon gösterdiği düşünülebilir.

Sonuç olarak probiyotik suş *L. reuteri* ile daha fazla sayıda kolonizasyon çalışması yapılması uygundur.

**Anahtar kelimeler:** *Lactobacillus reuteri*, probiyotik bakteri, sıçan, *streptococcus mutans*, tükürük.

## SUMMARY

It's known that the usage of probiotic products has increased rapidly in recent years. Due to their properties, probiotic bacteria replace with pathogenic bacteria and compose an environment that do not damage and benefit the host. Therefore, the effect of these developing and promising products on oral flora and dental plaque, has been the subject of research. The aim of the present study is to investigate the ability of *L. reuteri* to colonise in oral flora in vivo.

An ethical approval was received from Yeditepe University Experimental Animal Ethics. 24 Sprague Dawley rats at the age of 1 month without having *S. mutans* and *L. reuteri* in their saliva, were randomly divided into 3 groups. The first group, Control group, was infected with *S. mutans* at 2. month. *S. mutans* counts were determined with microbiological saliva analyzes at the month of 3rd, 4th and 5th. The second group, Probiotic I group was infected with *S. mutans* at 2. month, infected with *L. reuteri* at 3. month. *S. mutans* and *L. reuteri* counts are determined with microbiological saliva analyzes at the month of 3rd, 4th and 5th. The third group, Probiotic II group was infected with *L. reuteri* at the 2. month, infected with *S. mutans* at 3. month. *S. mutans* and *L. reuteri* counts are determined with microbiological saliva analyzes at the month of 3rd, 4th and 5th.

*S. mutans* counts of Control group and Probiotic I group increased steadily at 3. and 4. months, and gradually decreased at 5. month.

*L. reuteri* counts of Probiotic I group increased steadily at 4. and 5. month. *L. reuteri* counts of Probiotic II group increased steadily at 3rd, 4th and 5th months.

In Probiotic I group, *S. mutans* counts decreased in paralel with Control group. In Probiotic II group, *S. mutans* counts started at a higher level than Control group and decreased at 5. month. Therefore, it may be concluded that, *L. reuteri* promised a better colonization as a 'first colonisation strain'.

In conclusion, it's more convenient to conduct more studies regarding *L. reuteri*.

**Keywords:** *Lactobacillus reuteri*, probiotic bacteria, rat, saliva, *streptococcus mutans*.

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince tüm bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, sevgisini, hoşgörüsünü ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bugünlere gelmemde çok büyük emeği olan; hayatımın her alanında örnek alacağım saygıdeğer hocam Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Nüket Sandallı**'ya,

Tez çalışmamı gerçekleştirmemde ve doktora eğitimimin her anında, her türlü olanakları bizlere sunan dekanımız Sayın **Prof. Dr. Türker Sandallı**' ya

Doktora eğitimine başladığım ilk günden itibaren bana hem mesleki hem de sosyal anlamda yol gösteren ve her konuda destek olan; bilgi birikimi, deneyimleri, gösterdiği içten, samimi yaklaşım ve sevgisi ile üzerimde çok büyük emeği olan, hep örnek aldığım ve alacağım, çok değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Eşber Çağlar**'a,

Doktora tezimin mikrobiyoloji bölümü çalışmaları sırasında bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Bölümü ve Mikrobiyoloji Bilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. Güven Külekçi**' ye,

Doktora tezimin hayvan çalışmaları sırasında deney hayvanları laboratuvarında bana çalışma koşulları sağlayan ve her türlü problemlerimin giderilmesinde daima yardım ve desteğini gördüğüm değerli hocam Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Bayram Yılmaz**' a,

Doktora tezim sırasında her konuda bilgisini ve ilgisini benden esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı'ndan **Dr. Emine Nursen Topcuoğlu**'na,

Doktora eğitimim sırasında, bana karşı her zaman anlayış gösteren, bilgi, tecrübe ve yardımlarını benden esirgemeyen, kendisinden çok değerli bilgiler edindiğim değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Senem Selvi Kuvvetli**'ye,

Sakinliğini, çocuklara yaklaşım şeklini ve sabrını örnek almaya çalıştığım, mesleki bilgilerinden çok faydalandığım, tecrübelerini ve desteğini benden hiç esirgemeyen değerli hocam Sayın **Yrd. Doç. Dr. Özgür Önder Kuşcu**'ya,

Doktora eğitimim boyunca bana gösterdiği ilgi ve destek için, çalışma azmi ve bilgi birikimini örnek almaya çalıştığım Sayın **Yrd. Doç. Dr. Didem Özdemir Özenen**'e,

Hem mesleki hem sosyal anlamda her konuda desteğini esirgemeyen, iyi niyeti ve gülyüzüyle her zaman motive olmamı sağlayan Sayın **Yrd. Doç. Dr. Elif Sungurtekin**' e

Doktora eğitimim süresince ilgisini benden esirgemeyen, bilgisiyle, çalışkanlığıyla, yaptığı her işte gösterdiği özenle bana örnek olan Sayın **Doç. Dr. Şule Kavaloğlu Çıldır**'a,

Tez çalışmalarım sırasında bana her zaman verdikleri moral, destek ve yardımlar için, Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki tüm arkadaşlarıma,

Hayatımın her döneminde bana yol gösteren ve her konuda destek olan, acı tatlı her anımı benimle paylaşan, canım Annem **Türkan Özbey**'e, Babam **Nesimi Özbey**'e, Teyzem **Safire Obüs**' e ve Kardeşim **Cem Özbey**'e çok teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK .....	i
ÖZET .....	ii
SUMMARY .....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ .....	xiv
GRAFİKLER LİSTESİ .....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Probiyotikler.....	3
2.1.1. Prebiyotikler .....	4
2.1.2. Probiyotiklerin Tarihsel Gelişimi .....	6
2.1.3. Probiyotiklerin Genel Özellikleri .....	8
2.1.4. Probiyotiklerin Klasifikasyonu.....	9
2.1.4.1. <i>Lactobacillus reuteri</i> .....	11
2.1.5. Probiyotiklerin Yararları.....	12
2.1.6. Probiyotik İçerikli Ürünler .....	13
2.1.7. Probiyotiklerin Kullanım Kontrendikasyonları .....	14
2.2. Probiyotikler ve Genel Sağlık .....	16
2.3. Probiyotikler ve Ağız-Diş Sağlığı.....	19
2.4. Oral Bölge Üzerinde Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları .....	22
2.4.1. Probiyotiklerin Oral Kaviteye Adezyonu ve Kolonizasyonu .....	24
2.5. Ağız İçi Flora .....	30
2.5.1. Pelikül-Biyofilm-Dental Plak.....	32
2.5.2. Çürük Mikrobiyolojisi .....	36
2.5.2.1. Mutans Streptokoklar.....	36
2.5.2.2. Laktobasiller .....	37
2.6. Araştırmalarda Kullanılan Deney Hayvanları.....	38
2.6.1. Sıçanlar.....	40

2.6.1.1. Spraque-Dawley Kolonisi.....	44
2.6.1.2. Sıçanlarda Oral Kavite.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası .....	47
3.2. Deney Hayvanları Etik Kurul Raporu Temini .....	47
3.3. Hayvan Seçimi .....	47
3.3.1. Araştırmada Kullanılan Sıçanlar .....	48
3.4. Çalışma Grupları .....	50
3.5. Mikrobiyolojik Analiz.....	60
3.5.1. <i>S. mutans</i> varlığının ve sayısının değerlendirilmesi .....	60
3.5.2. <i>L. reuteri</i> varlığının ve sayısının değerlendirilmesi.....	63
4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	65
5. BULGULAR .....	66
6. TARTIŞMA.....	74
7. SONUÇLAR.....	96
8. KAYNAKLAR .....	97
9. ÖZGEÇMİŞ.....	127
Ek 1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası.....	128
Ek 2. Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Raporu.....	129

## KISALTMALAR VE SİMGELER

**Aerob** : Oksijene ihtiyaç duyan

**Anaerob** : Oksijene ihtiyaç duymayan

***B. acidophilus*** : *Bacillus acidophilus*

***B. adolescentis*** : *Bifidobacterium adolescentis*

***B. bifidum*** : *Bifidobacterium bifidum*

***B. bifidus*** : *Bacillus bifidus*

***B. breve*** : *Bifidobacterium breve*

***B. infantis*** : *Bifidobacterium infantis*

***B. longum*** : *Bifidobacterium longum*

**Ca** : Kalsiyum

***C. albicans*** : *Candida albicans*

**cfu** : Koloni oluşum birimi

***C. difficile*** : *Clostridium difficile*

***E. coli*** : *Escherichia coli*

***E. faecium*** : *Enterococcus faecium*

***E. faecalis*** : *Enterococcus faecalis*

**FAO** : Gıda ve Tarım Örgütü

***F. nucleatum*** : *Fusobacterium nucleatum*

**FOS** : Frukto-oligosakkaritler

**GI** : Gastrointestinal

**G** : Gram

**HA** : Hidroksiapatit

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : Bikarbonat iyonu

***H. pylori*** : *Helicobacter pylori*

***H. influenza*** : *Hemophilus influenza*

**HIV** : Human Immunodeficiency Virus-İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü

**H<sub>2</sub>S** : Hidrojen sülfid

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

**IgA** : İmmünglobülin A

***L. acidophilus*** : *Lactobacillus acidophilus*

***L. bulgaricus*** : *Lactobacillus bulgaricus*

***L. casei*** : *Lactobacillus casei*

***L. casei Shirota*** : *Lactobacillus casei Shirota*

***L. gasseri*** : *Lactobacillus gasseri*

***L. helveticus*** : *Lactobacillus helveticus*

***L. johnsonii*** : *Lactobacillus johnsonii*

***L. paracasei*** : *Lactobacillus paracasei*

***L. plantarum*** : *Lactobacillus plantarum*

***L. reuteri*** : *Lactobacillus reuteri*

***L. rhamnosus*** : *Lactobacillus rhamnosus*

***L. salivarius*** : *Lactobacillus salivarius*

***L. lactis ssp. cremoris*** : *Lactobacillus lactis ssp. cremoris*

***L. lactis ssp. Diacetylactis*** : *Lactobacillus lactis ssp. diacetylactis*

***L. sporogens*** : *Lactobacillus sporogens*

**ml** : Mililitre

**mg** : Miligram

**µm** : Mikrometre

**microtitre wells** : Analitik araştırmalarda ve klinik test laboratuarlarında kullanılan, üzerinde 6, 24, 96 veya 384 çukurcuk bulunan plaka.

**m.o.** : Mikroorganizma

**MS** : Mutans streptokokları

**MSB agar** : Mitis salivarius basitrasin agar

**Monostrain** : Belli bir türden bir suş içeren

***M. catarhalis*** : *Moraxella catarhalis*

**Multistrain** : Aynı türden veya aynı cinsten birden fazla suş içeren

***P. gingivalis*** : *Porphyromonas gingivalis*

***P. intermedia*** : *Prevotella intermedia*

***S. mutans*** : *Streptococcus mutans*

***S. sobrinus*** : *Streptococcus sobrinus*

***S.macedonicus*** : *Streptococcus nacedonicus*

***S. pneumoniae*** : *Streptococcus pneumoniae*

***S. pyogenes*** : *Streptococcus pyogenes*

***S. thermophilus*** : *Streptococcus thermophilus*

***S. oralis*** : *Streptococcus oralis*

***S. sanguis*** : *Streptococcus sanguinis*

***S. macacae*** : *Streptococcus macacae*

***S. downei*** : *Streptococcus downei*

***S. crisetus*** : *Streptococcus crisetus*

***T. denticola*** : *Treponema denticola*

***V. dispar*** : *Veillonella dispar*

**VSC** : Volatile sulphur compounds\_ Uçucu kükürt bileşikleri

**yy** : Yüzyıl

***W. cibaria*** : *Weissella cibaria*

**WHO** : World Health Organisation-Dünya Sağlık Örgütü

## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Prebiyotik sınıflandırması.....	5
Tablo 2. Probiyotik olarak kabul edilen bakteriler .....	10
Tablo 3. Sıçanların biyolojik kökeni.....	40
Tablo 4. Sıçanlara ait bazı fizyolojik parametreler .....	43
Tablo 5. Sıçanlara verilen kod numaraları .....	51
Tablo 6. Çalışma gruplarına yapılan uygulamalar .....	59
Tablo 7. <i>S. mutans</i> inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerinde tüm aylardaki <i>S. mutans</i> sayıları .....	67
Tablo 8. <i>S. mutans</i> inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerindeki <i>S. mutans</i> sayıları (geometrik ortalama) .....	68
Tablo 9. <i>L. reuteri</i> inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerinde tüm aylardaki <i>L. reuteri</i> sayıları .....	70
Tablo 10. <i>L. reuteri</i> inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerindeki <i>L. reuteri</i> sayısı (geometrik ortalama) .....	71

## ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ

Şekil 1. Biyofilm modeli (254) .....	35
Şekil 2. Sıçan kafatasının yandan görünümü .....	46
Resim 1. Spraque Dawley sıçanları .....	48
Resim 2. Kafes içerisinde sıçanlar .....	49
Resim 3. Beslenme koşulları .....	50
Resim 4. Sarı kapaklı 15ml' lik dibi düz steril plastik tüplerde bulunan <i>S. mutans</i> buyyon kültürü .....	52
Resim 5. Otomatik mikropipet .....	52
Resim 6. Mikropipet ucu .....	53
Resim 7. Sıçan oral kavitesine mikropipet ile <i>S. mutans</i> inokulasyonu işlemi .....	53
Resim 8. Steril eküvyonlar .....	54
Resim 9. Sıçan oral kavitesinden tükürük örneği alınması .....	55
Resim 10. Tükürük örneği alındıktan sonra sarı tüp içerisindeki taşıma sıvısına yerleştirilmiş eküvyonların görünümü .....	55
Resim 11. BioGaia Damla® (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belçika) .....	57
Resim 12. Vorteks cihazı .....	60
Resim 13. Örneklerin MSB agar besiyerine ekilmesi .....	61
Resim 14. Besiyerlerin CO <sub>2</sub> ' li ortama yerleştirilmeleri .....	61
Resim 15. Etüv .....	62
Resim 16. İnkübasyon sonrası <i>S. mutans</i> kolonileri .....	62
Resim 17. Anaerob ortam sağlayan AnaeroGen .....	64
Resim 18. İnkübasyon sonrası <i>L. reuteri</i> kolonileri .....	64

## GRAFİKLER LİSTESİ

- Grafik 1. Aylara göre gruplardaki *S. mutans* sayıları değişiminin grafiksel sunumu (geometrik ortalama).....68
- Grafik 2. Aylara göre gruplardaki *L. reuteri* sayıları değişiminin grafiksel sunumu (geometrik ortalama).....71
- Grafik 3. Aylara göre gruplardaki *S. mutans* ve *L. reuteri* sayıları değişimi (geometrik ortalama).....72



# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Probiyotik tanımlaması; ağız yolu ile yeterli miktarda alındığında, genel sağlığı daha iyi hale getirebilen, doğal yollarla elde edilen, sağlıklı bağırsak bakteri florasını destekleyen yaşayan mikroorganizmalar (m.o.) olarak yapılmıştır (1).

Probiyotik kavramına dikkat çeken ilk araştırmacı Ilya Metchnikoff, 1907 yılında; laktik asit üreten *Lactobacillus bulgaricus*' un patolojik bağırsak m.o.'ları ile yer değiştirdiğini belirtmiştir. Laktobasil içeren yoğurtların tüketiminin, bağırsakta bulunan toksin üreten bakterilerin sayısını azalttığı ve böylece konağın ömrünün uzadığını belirtmiştir (2).

Probiyotiklerin etki mekanizmaları; diğer bakterilerle konak dokuya bağlanma yarışı, besin yarışı ve antimikrobiyal bileşiklerin üretilmesi ile yarışmacı dışlama şeklinde belirtilmiştir. Bu etkiler dışında, probiyotiklerin konak üzerinde indirekt etkisi de bulunmaktadır. Bu etkiyi, doğal ve spesifik immün fonksiyon değişiklikleri meydana getirerek gerçekleştirmektedir.

Probiyotiklerin vücuda etkileri; bağırsak mikroflorasının içerik ve aktivitesini etkilemesi (prebiyosis), bağırsak hareketlerini düzenlemesi, diyareyi baskılaması, mineral emilimini ve biyoyararlanımı artırması, osteoporoz gelişmesini geciktirmesi, obezite, Tip 2 Diabet, aterosklerotik kalp hastalığı, kolorektal kanser ve enfeksiyöz kolit riskini azaltması, konakçının savunma mekanizmalarını güçlendirmesi, diş çürüklerinin oluşumunu azaltması, olarak bildirilmiştir (3).

Çok sayıda değişik m.o. türü probiyotik sınıfına girebilmektedir. Probiyotik bakterilerin konsantrasyon miktarları ve konak üzerindeki etki süreleri, istenilen sonucun elde edilmesi ve sürdürülebilmesi için çok önemlidir. Her bir probiyotik bakteri tüm hastalıklarda istenilen sonuçları veremeyebilir ayrıca, belirli miktarda probiyotik bakterinin konakta bulunmaması da istenilen etkiyi sağlamayabilir. Seçilen bakteri türünün konak üzerinde yararlı etki gösterebilmesi için güvenli, canlı ve gastrointestinal (GI) sistemde metabolik olarak aktif olması gerekmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, her hastalık için kullanılacak probiyotik bakteri türlerinin ve dozajlarının farklılığı, bakterilerin özellikleri, etki mekanizmaları ve tedavi metodlarının geliştirilmesi araştırılmıştır.

Probiyotik bakterilerin, genel sağlığı daha iyi hale getirebilen etkilerini tam olarak hangi mekanizma ile sağladığı bilinmemektedir. Günümüzde, probiyotiklerin ağız ve diş sağlığına olan olumlu etkilerini, özellikle de çocuklarda ağız sağlığına olan etkilerini inceleyen çok fazla araştırma bulunmamaktadır. Probiyotiklerin etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi ve probiyotiklerin çocuklarda ağız sağlığına etkisinin araştırılması, büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızın amacı, *L. reuteri*' nin doğumdan itibaren oral mikrobiyolojik ereve içerisine dahil olabilme yeteneğinin in vivo koşullarda sıçanlarda araştırılmasıdır. Bu çalışmada elde edilecek sonuçların ileride yapılacak olan probiyotik çalışmalarına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Probiyotikler

Probiyotikler, yeterli miktarlarda kullanıldığında konağa yararlı etkileri bulunan canlı m.o.'lardır (4).

20. yy.'da antibiyotiklerin yaygınlaşması ile enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde büyük başarı sağlanmış ve ölüm oranlarında düşüşler kaydedilmiştir. Ancak, antibiyotiklere karşı bazı önemli patojenlerin direnç geliştirmesiyle, genel sağlığı geliştiren bakteriler tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (5-7).

Bakteriyoterapi, GI sistemdeki dirençli bakterilerin neden olduğu sağlık problemlerinin ortadan kaldırılmasında ve enfeksiyöz hastalıkların kontrolünde etkin bir yöntemdir (8, 9). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla probiyotiklerin, sadece GI sistemi değil, vücut fonksiyonlarını da etkilediği gösterilmiştir (10). Hayvan çalışmalarında ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin, mikrobiyal enfeksiyonların neden olduğu hastalıkları ve bazı kanser türlerini iyileştirici etkilerinin görüldüğü bildirilmiştir (11, 12).

Probiyotikler, doğal yollarla elde edilen, ağız yolu ile belirli sayılarda alınan, genel sağlığı daha iyi hale getiren, iyi ve sağlıklı bağırsak bakteri florasını destekleyen bakteriyel kültür veya yaşayan m.o.'lar olarak tanımlanmıştır (10).

Temel besleyici özellikleri dışında sağlığı olumlu yönde etkileyici özellikleri bulunan besinlere fonksiyonel besin adı verilir (13). Prebiyotik ve probiyotikler, fonksiyonel besinlere örnek olarak verilebilir (14).

M.o.'ların belirli bazı hastalıklar üzerinde tedavi edici etkileri varsa bunlara biyoterapötik ajanlar denilmektedir. Probiyotikler; belirli bir patolojik durumun önlenmesi veya tedavisi için kullanılabilir. Genellikle konağa en yararlı olan m.o.'lar laktobasiller, bifidobakterler ve mayalardır. Literatürde probiyotik uygulamalar, 'bakteriyel replasman' (yerine koyma) tedavisi olarak da tanımlanmaktadır (15).

Probiyotikler üzerine yapılan araştırmalarla, yararlı bakterilerin insanların doğal mikroflorasına katılabildiği, enfeksiyonların iyileştirilmesinde veya enfeksiyonlara karşı direnç oluşturulmasında kullanılabildiği gsterilmiştir (16). Kısaca probiyotik uygulamalarını, patojen bakterilerin, patojen olmayan bakteriler tarafından kontrol edilmesi amacı ile kullanılması olarak da tanımlayabiliriz.

### 2.1.1. Prebiyotikler

Prebiyotikler, GI sistemde yararlı bakterilerin çoğalmasını ve gelişimini etkileyen, konakçı için faydalı sindirilemeyen besin maddeleridir (17-22).

Prebiyotiklerin temel yararı, bağırsaktaki zararlı ve zararlı olma potansiyeline sahip bakterilerin sayısını azaltmasıdır (17, 18, 19, 20, 24).

Prebiyotikler, enfeksiyöz diyare gibi durumların oluşma riskini azaltır (22). Kalın bağırsak hareketlerinin artışını sağlayarak besinlerin bağırsaktan geçiş sürecini hızlandırır. Dışkı niteliğini değiştirir, bağırsak düzenliliğini sağlar, kan kolesterol ve trigliserid düzeylerini olumlu ynde etkiler, immün sistemi güçlendirir ve dışkı kütlesini arttırırlar (17, 23). Kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) emilimini arttırır, biyoyararlanımını arttırır ve osteoporoz gelişmesini geciktirir, hiperlipidemilere ikincil aterosklerotik kalp hastalığı riskini azaltır, obezite ve Tip 2 diabet riskini azaltır, kolorektal kanser ve enfeksiyöz kolitten korur, konakçının savunma mekanizmalarını güçlendirir (24).

Prebiyotiklere rnekler inülin, frukto-oligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler ve laktulozdur (25, 26) (**Tablo 1**).

**Tablo 1. Prebiyotik sınıflandırması**

<b>Klasifikasyon</b>	<b>Kaynağı/Üretim şekli</b>
<b><i>Disakkaritler</i></b>	
Laktüloz	Laktoz
Laktitol	Laktoz/sentetik
<b><i>Oligosakkaritler</i></b>	
Fruktooligosakkaritler (FOS)	Baklagiller, sebzeler, tahıllar/ekstraksiyon, hidroliz
Soya oligosakkaritleri	Soya/ekstraksiyon, hidroliz
Galaktooligosakkaritler	Laktoz/sentetik
<b><i>Polisakkaritler</i></b>	
İnülin	Baklagiller, sebzeler, tahıllar/Ekstraksiyon
Dirençli nişasta	Baklagiller, sebzeler, tahıllar/Ekstraksiyon

İnülin, doğal çözünebilen lifli bir besindir ve hindiba kökünden elde edilmektedir. İnülin, birçok meyve ve sebze de karbonhidrat deposu olarak görev alır (27). FOS ise insan bağırsağı tarafından sindirilemeyen ve emilemeyen doğal olarak oluşabilen karbonhidratlardır. FOS, bifidobakterlerin gelişimini desteklediği için hastalara FOS ve bifidobakterler birlikte verilerek prebiyotiklerin etkinliği artırılmış olur (28). Anne sütü yüksek oranda oligosakkarit (10-12 gr/L) içermektedir ve bifidobakterlerin gelişimini stimüle etmektedir (29). Bu nedenle anne sütü ile beslenmekte olan bebeklerin sindirim kanalında mama ile beslenenlere göre 10 kat daha fazla bifidobakter bulunmaktadır (30).

Çocuklar için önerilen günlük prebiyotik dozu 1-3gr/gün, erişkinler için 5-15gr/gün'dür (30).

Bir substratın prebiyotik olarak kabul edilebilmesi için, mide ve ince bağırsakta hidrolize veya absorbe olmamalı, kolonda bulunan yararlı m.o.'lar için seçici olmalı,

çoğalmalarını stimüle etmeli, florayı sağlıklı bir kompozisyon oluşacak şekilde değiştirmeli ve konak dokuda yararlı sistemik etkiler yapmalıdır (3).

Günümüzde bebek mamalarının büyük bölümünde ve diyet ürünlerde lifler vasıtası ile prebiyotik tüketimi yoğun olarak sağlanmaktadır.

### **2.1.2. Probiyotiklerin Tarihsel Gelişimi**

Probiyotik kelimesi, Yunanca ‘pro’ ve ‘bios’ kelimelerinin birleşmesinden oluşmuştur. Probiotos, ‘for life’ (yaşam için) anlamını taşımakta olup, antibiyotik teriminin zıt anlamlısıdır (17, 31-34). İlk kez Kollath tarafından 1953 yılında tanımlanmıştır (35).

M.Ö. 3000 yılında Mısır’ da, M.Ö. 2500 yılında Sümerler’ de, doğal olarak üretilen, fermente süt ürünlerinin tüketildiği bildirilmiştir (36, 37).

Orta ve Uzak Doğu’ da başlayan fermente süt ürünlerinin kullanımı, savaşlarla yayılmış ve Rusya’da, Doğu Avrupa’ da da tüketimi yaygınlaşmıştır.

Fermente süt ürünlerinin sağlık üzerindeki olumlu etkileri çok eski zamanlarda öğrenilmesine rağmen bilimadamları, 19 yy.’ ın sonlarına doğru araştırmalara yönelmişlerdir. 1800’ li yıllarda süt ürünlerinin Doğu Avrupa’da ve Balkanlar’da en yaygın kullanım şekli, yoğurt ve kefir (37).

Escherich, (38) 1885’ de insan dışkısında bulunan bakterileri, mikrobiyal kaynaklı bağırsak hastalıklarının patolojisini ve tedavisini araştıran, ilk bilim adamıdır.

Yararlı bakterilerin alınması ile bağırsakta bulunan zararlı bakterilerin baskılanması ve sağlığın iyileştirilmesi ve konağın ömrünün uzatılması fikrini 1900’ lü yıllarda Carre, Moro, Tissier ve Metchnikoff ortaya koymuştur (39-42).

Fransız pediatriist Henry Tissier, anne sütü ile beslenen diyareli bebeklerin dkularından, laktobasillere benzeyen, Y Şeklinde bifurkasyon formu gösteren bakteriler izole etmiŐtir ve bu m.o.' ya *Bacillus bifidus* adını vermiŐtir (43).

Moro (44) ise, annenin memesinden aside dirençli bakteriler izole etmiŐ ve yeni doğanların oral kavitesinde ve bağırsak sisteminde yerleşmiş olan bu m.o.' ya *Bacillus acidophilus* adını vermiŐtir.

Tissier 1908' de (45), bebeklerin dkularında bulunan *B. acidophilus'* un *B. bifidus'* a oranla daha baskın olduğunu ve 3 gün boyunca yaşamlarını sürdürebildiğini bildirmiştir. Tissier, bifid bakterilerin hastalıklı çocuklara verilerek sağlıklı bağırsak florasına sahip olabileceklerini belirtmiştir (42).

20.yy baŐlarında Nobel dl sahibesi Rus araştırmacı Elie Metchnikoff, Bulgarların diğer milletlere oranla daha uzun yaşama sırlarını, canlı bakteri içeren fermente süt ürünlerine borçlu olduklarını düŐünmüŐ ve fermente besin ürünlerindeki bakterilerin, vücudu tehdit eden patojenlerle savaŐtıđı tezini savunmuŐtur (39). Metchnikoff, laktik asit üreten *L. bulgaricus'* un bağırsaktaki patolojik m.o.' lar ile yer değiştirdiğini bağırsakta bulunan bu bakterilerin sayıca azaldığını ve konağın ömrünün uzadığını bildirmiştir (39, 46). Yoğurt ve sütlerin fermente olmasında *L. bulgaricus* ile beraber *Streptococcus thermophilus* da görev almaktadır (47).

Rettger ve Horton 1914' te (48), Rettger ve Cheplin 1920' de (49, 50) insanlar ve sıçanlarda yapmış oldukları incelemelerde, süt veya laktoz ile beslendiklerinde bağırsaktan *B. acidophilus* ve *B. bifidus* tipi bakterilerin izole edildiğini bildirmişlerdir (51). İlk endüstriyel yoğurt retimi; Metchnikoff'un çalışma sonuçlarına bağlı olarak, ishali tedavi etmek amacıyla üretilmiŐtir (46).

1930 yılında Japonya' da Minoru Shirota, GI sistemden bir laktobasil suşu izole etmiŐtir ve *Lactobacillus casei Shirota* ismini vermiŐtir. Bu suş, 1953' te Yakult adı altında fermente süt ürünü üretiminde kullanmıştır (52).

1940' lı yıllarda, antibiyotiklerin ortaya çıkması, probiyotiklere olan ilgiyi azaltmıŐtır (53).

1954 yılında Vergin (54), 1955 yılında Kolb (55), antibiyotik tedavisinin zararlı etkilerinin, probiyotiklerin kullanımı ile tedavi edilebileceğini bildirmiştir.

Sperti 1971’de (56), Fujii ve Cook 1973’de (57) probiyotiklerin, konak dokuda enfeksiyona karşı direnç geliştirdiklerini fakat in vitro koşullarda m.o.’ ların büyümesini engellemediklerini bildirmişlerdir.

1974’te Parker, probiyotiklerin canlı hücreler olduğunu belirterek, bağırsak florasını dengeleyen organizmalar ve yapılar olarak tanımlamıştır (58).

1989’ da Fuller probiyotikleri konağın bağırsak florasına yararlı etki sağlayan canlı mikrobiyal besin desteği olarak tanımlamıştır (11, 59).

En son yapılan ve geçerli olan tanımlama, Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation) (WHO) tarafından yapılmıştır. Yeterli miktarlarda verildiğinde konağın sağlığına katkıda bulunan canlı m.o. olarak tanımlanmıştır (60).

### **2.1.3. Probiyotiklerin Genel Özellikleri**

Bir m.o. türünün probiyotik tedavide kullanılabilmesi için önemle incelenmesi gerekmektedir (11). Probiyotiklerin konakta yararlı etki gösterebilmesi için bulunması gereken bazı özellikleri vardır. Bu özellikleri sıralamak gerekirse (10, 60, 61);

1. Canlı, güvenli ve metabolik olarak aktif olmalı, uygun şartlarda canlılığını korumaya devam etmeli,
2. Konağa zararlı, toksik etkileri olmamalı,
3. Sağlığa yararlı etki sağlayabilmesi için mukozayı ve immün sistemi uyarabilmeli,
4. Patojen bakterileri etkilerken normal mikroflorayı bozmamalı,
5. Antimikrobiyal maddeler üretebilmeli,



6. Non-invaziv olmalı,
7. Kanserojen olmamalı,
8. Mukoza yüzeyine tutunabilmeli (mukoza yüzeyine tutunması zayıf olduğu halde, yararlı etki gösteren probiyotikler de bulunmaktadır),
9. Ağızdan alınan probiyotik bakteriler, kalın bağırsaklara kadar ulaşabilmeli,
10. Ağız yoluyla alınan probiyotikler, asidik pH' ya ve safra tuzlarına dayanıklı olmalıdır.

Probiyotikler, monostrain veya multistrain halinde hazırlanabilmektedir. Probiyotik, eğer tek bir türde suş içeriyorsa monostrain probiyotik adını almaktadır. Aynı cinse ait birden fazla bakteri veya birden fazla cinste bakteri içeriyorsa multistrain probiyotik olarak tanımlanmaktadır. Multistrain probiyotiklerin oluşturulmasında genellikle sinerjik etki gösteren uyumlu bakteriler tercih edilir (62).

Konak mikroflorasını iyileştirici etki sağlaması, uygun pH ortamının sağlanması, yüzeye tutunabilmesi, ve canlılıklarını sürdürebilmesi açısından, multistrain probiyotikler, monostrain probiyotiklere göre daha gelişmiştir (62-64).

Çocuklarda görülen antibiyotik bağlantılı diyarenin iyileştirilmesinde multistrain probiyotikler kullanılmaktadır.

#### **2.1.4. Probiyotiklerin Klasifikasyonu**

Probiyotik olarak sıklıkla kullanılan suşlar arasında *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *B. longum* ve *B. infantis* sayılabilir. *Escherichia*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Streptococcus* ve *Saccharomyces* (bir maya türü) grubundan suşlar da bulunmaktadır (65-69).

Her bir probiyotik bakteri türünün konağa etkileri farklıdır. Yaygın olarak kullanılan probiyotik grubu, laktik asit bakterileri grubudur. Süt ve yoğurt içerisinde de bu grup bakteriler bulunmaktadır. Probiyotik olarak kullanılan bakteriler aşağıdaki tabloda bulunmaktadır (68, 70, 71) (**Tablo 2**).

**Tablo 2. Probiyotik olarak kabul edilen bakteriler**

<b>LAKTOBASİLLER</b>	- <i>L. acidophilus</i> - <i>L. bulgaricus</i> - <i>L. casei</i> - <i>L. crispatus</i> - <i>L. fermentum</i> - <i>L. gasseri</i> - <i>L. johnsonii</i> - <i>L. lactis</i> - <i>L. plantarum</i> - <i>L. reuteri</i> - <i>L. rhamnosus</i> GG (LGG)
<b>BİFİDOBAKTERLER</b>	- <i>B. adolescentis</i> - <i>B. animalis</i> - <i>B. bifidum</i> - <i>B. breve</i> - <i>B. infantis</i> - <i>B. lactis</i> - <i>B. longum</i>
<b>ENTEROKOKLAR</b>	- <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i>
<b>STREPTOKOKLAR</b>	- <i>Streptococcus thermophilus</i> - <i>Streptococcus salivarius</i>
<b>MAYALAR</b>	- <i>Saccharomyces boulardii</i>
<b>DİĞERLERİ</b>	- <i>Weissella cibaria</i> - <i>Escherichia coli</i> Nissle - <i>Bacillus cereus</i> - <i>Clostridium butyricum</i> - <i>Propionibacterium freundsreichii</i> subsp. <i>shermani</i> - <i>Lactococcus lactis</i>

Enterekokların muhtemel patojenitesi ve vankomisin direnci nedeniyle, probiyotik olarak kullanılmalarıyla ilgili şüpheler bulunmaktadır (68, 70, 71).

Tüm probiyotik bakteriler aynı etkinliğe sahip değildir. En sık kullanılan probiyotikler, laktobasiller ve bifidobakterilerdir (66, 72).

Bu bakteriler, laktik asit, asetik asit, propiyonik asit üreterek pH' yı düşürerek patojenik bakterilerin büyümesini engeller (71, 73).

Bazı ürünlerde birkaç probiyotik m.o. türü bir araya getirilmiştir (74).

#### **2.1.4.1. *Lactobacillus reuteri***

*L. reuteri*, günümüzde araştırmalara konu olan bir probiyotik suştur. Reuterin, *L. reuteri* tarafından üretilen; gram(+) ve gram(-) bakteriler, mantar, protozoalar gibi geniş spektrum m.o.'ları inhibe eden güçlü bir antipatojen bileşendir (75). *L. reuteri* tarafından üretilen maksimum reuterin miktarı, geç lag fazı ve durağan fazda meydana gelmektedir. Reuterin ve diğer antipatojenik faktörler, bağırsak içindeki zararlı m.o.'ların aşırı büyümesini önleyerek sağlıklı bir bağırsak florası sağlamaları nedeniyle önemlidir. Bağırsak florasına *L. reuteri* ATCC 55730 veya reuterin eklenmesiyle *E. Coli* popülasyonunu azalttığı in vitro fermantasyon modeli ile gösterilmiştir (76). Bu nedenle, reuterin gibi mikrobiyal bileşenlerin, GI floranın içerik ve boyutsal yapılanmasının oluşmasında temel rol oynadığı belirtilmektedir. *L. reuteri*' nin *S. mutans* gibi karyojenik bakterileri ve periodontal patojenleri inhibe ettiği çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (77, 78).

Abrahamsson ve ark. (79) yapmış oldukları çalışmalarında, hamile bireylere ve doğduktan sonraki ilk yıllarında bebeklerine *L. reuteri* uygulamışlardır ve sonuçta annelerin sütlerinde ve çocukların dışkılarında *L. reuteri* tespit etmişlerdir.

*L. reuteri* içeren gıdaların sağlığı iyileştirici özellikleri olduğu bildirilmiştir. *L. reuteri*' nin patojen bakterileri inhibe ederken yararlı bakterileri inhibe etmediği

belirtilmektedir. Patojen bakterilerin adezyonunu veya metabolizmasını pH' yı düşürerek etkilediği ayrıca 3-hidroksipropionaldehit olarak da bilinen reuterin ve bakteriyosinler üreterek bakterileri engellediği bildirilmiştir (80).

### 2.1.5. Probiyotiklerin Yararları

Günümüze kadar yapılan araştırmalar ve klinik çalışmalar, probiyotiklerin hem koruyucu, önleyici etkilerinin olduğunu, hem de birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığını göstermektedir. Aynı tür bile olsa bir probiyotik suşunun göstereceği yararlı etki diğer suştan farklı olabilmektedir (68, 70).

Probiyotikler:

- 1) Antibiyotik bağlantılı diyarenin önlenmesinde (81)
- 2) Yolculuk diyaresinin önlenmesinde (82-86)
- 3) Crohn hastalığı ve ülseratif kolit tedavisinde (87)
- 4) *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının tedavisi ve önlenmesinde (88)
- 5) Kandida enfeksiyonlarının ve bakteriyel vajinozisin tedavisi ve önlenmesinde (89-91)
- 6) Gıda alerjisi ve atopik egzemanın önlenmesinde (92, 93)
- 7) Astım ve bazı allerjik hastalıkların önlenmesinde (87)
- 8) Kistik fibrozisin bağırsak ve akciğer semptomlarının azaltılmasında (94)
- 9) *H. pylori* enfeksiyonlarının tedavisinde (95)
- 10) Kolon kanserinin önlenmesinde (96)
- 11) Akut rotavirüs ve buna bağlı diyare ve gastroenteritten korunma ve tedavisinde (81)
- 12) İrritabl bağırsak sendromunun tedavisinde (97)
- 13) Romatoid artrit tedavisinde (71)
- 14) Yoğun bakım ünitelerinde patojenlerin kolonizasyonunun önlenmesinde (77, 98)

- 15) Yoğun bakım ünitelerinde yetişkin hastaların bağışıklık sisteminin desteklenmesinde (60)
- 16) Yeni doğan ünitelerinde, doğan bebeklerin bağışıklık sisteminin desteklenmesinde (99-101)
- 17) Cinsel yolla geçen hastalıkların ve HIV'in (Human Immunodeficiency Virus- İnsan Bağışıklık Yetmezlik Sendromu) önlenmesinde (102)
- 18) Kanser riskinin azaltılmasında (96)
- 19) Yüksek kan basıncının düşürülmesinde (103, 104)
- 20) Kardiyovasküler sistem hastalıklarının tedavisinde (103, 104)
- 21) Karaciğer kanserinin önlenmesinde (111)
- 22) Karaciğer yetmezliği ve transplantasyonu yapılmış hastalarda profilaksi amaçlı (60)
- 23) Ağız ve diş sağlığının geliştirilmesinde, çürüklerin önlenmesinde (21, 105-120) kullanılmaktadır.

### **2.1.6. Probiyotik İçerikli Ürünler**

Günümüzde pek çok probiyotik bakteri içeren ürün bulunmaktadır. Günlük olarak  $10^6$ - $10^{10}$  yararlı bakterinin tüketilmesi yararlı etkinin görülmesini sağlamaktadır. Probiyotik içerikli ürünlerin özellikle raf ömrünün sonlarında canlı bakteri sayıları bu düzeylerin altına düşebilmektedir (21, 121). Günlük probiyotik ürünlerinde en çok kullanılan bakteriler, laktobasiller ve bifidobakterlerdir. Probiyotik bakterilerin, ortam sıcaklığının ve saklama süresinin artması ile yaşama oranının azaldığı bildirilmiştir (122-125).

‘Medikal probiyotikler’ (mikrobik preperasyon) veya ‘diğer probiyotikler’ (işlevsel gıda) başlıkları altında tanımlanan probiyotikler, market ürünlerinin içinde dört şekilde yer almaktadır (21, 114-117):

- 1) İçecek veya gıda içerisine ilave edilmesi (meyve suyu, sakız gibi),

2) Prebiyotik liflerin içerisine eklenmesi,

3) Süt ve süt ürünleri içerisine ilave edilmesi (günlük süt ve süt ürünleri, yoğurt, ayran, peynir, kefir, biyoıçecekler, dondurma gibi),

4) Konsantre ve dondurulmuş hücreler halinde, paketlenmiş besin maddeleri yoluyla (günlük olmayan emzik, kapsül, jelatin tablet, pipet ve toz gibi) uygulanabilmektedir (21).

Ülkemizde en çok süt kökenli gıdalara aşlanmış olan probiyotikli ürünler tüketilmektedir.

Çürük önleyici etkisi açısından bakıldığında, remineralizasyon için gerekli olan Ca, PO<sub>4</sub> ve kazein içeren süt ürünleri, probiyotik içerikli ürünler arasında daha ilgi çekici gelmektedir. İçerisinde fazla miktarda şeker bulunan içecek ve yoğurtlardan ise kaçınılması gerekmektedir (126).

### **2.1.7. Probiyotiklerin Kullanım Kontrendikasyonları**

Probiyotik tedavisinin M.Ö. 3000 yılından beri kullanıldığı bilinmektedir. Laktik asitin gıda fermentasyonu ile başlayan ilk probiyotik uygulamalarının yüzyıllardır kullanılıyor olması, güvenilirliği bakımından akılda bulundurulması gereken önemli bir noktadır (127).

Genel olarak güvenli kategorisinde sınıflandırılan organizmalar laktobasiller, laktokoklar, bifidobakterler ve mayalardır (60). Enterokoklar, basiller ve streptokoklar gibi spor oluşturan diğer bakteriler genel olarak güvenli kabul edilmeseler de probiyotik olarak kullanılmaktadırlar (128). Çeşitli araştırmalarda probiyotiklerin güvenlik riski ile ilgili kaygılardan söz edilmektedir (129-132).

Bu araştırmalardan bazıları GI sistemle ilgili şüphelerden bahsetmektedir. Hücrelerin buldukları yerlerinden çıkararak başka dokulara geçmesine transmigrasyon adı verilir. Probiyotiklerin, transmigrasyon potansiyelleri ve kolonize olabilme

özellikleri nedeniyle GI sistem üzerinde olumsuz etki gösterebilme potansiyelleri bulunmaktadır (68, 133, 134). Fakat bu tip yan etkiler gösterdiğine dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır (60, 135). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda probiyotik tedavisi sonucu diğer bakterilerin seviyesinde herhangi bir artış görülmediği gibi, probiyotik tüketimi süreci içerisinde patojenlerin transmigasyonunda azalma görülmüştür. İnsanlar üzerinde yapılan az sayıda çalışmada, probiyotik tüketen hastalarda; probiyotik tüketmeyen hastalara göre daha az transmigasyon görülmektedir (136, 137).

Çeşitli araştırmalarda ise endokardit riskinden bahsedilmektedir. Bifidobakterler, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. salivarius* bakterilerinin endokardit nedeni olabileceği bilinmektedir (133, 138-141). Yapılan çalışmalarda probiyotik tüketiminin endokardit veya bakteriyemiye neden olduğu ile ilgili herhangi bir kanıt bulunamamıştır (142). Her canlı m.o. özellikle yetersiz bağışıklık sistemi olan veya ciddi bir sistemik hastalığı olan bireylerde bakteriyemiye neden olabilmektedir. Laktobasil bakteriyemisi görülen olgularda, hastalara organ transplantasyonu, diabet, kardiyovasküler hastalıklar, GI bozukluklar, malinite ya da başka sistemik hastalıkların eşlik ettiği bildirilmiştir (141, 143).

Son 30 yıldır laktobasil bakteriyemisine nadir olarak rastlanmaktadır (143). Ishihara ve ark. fareler üzerinde laktik asit bakterilerinin toksisitesini araştırdığı çalışmalarında, hiçbir akut toksisite bulgusuna rastlamamıştır (144).

Probiyotiklerin kullanımına bağlı bakteriyemi veya fungemi vakaları nadir olmasına ve birçok çalışmada, probiyotik kullanımının güvenli olduğu gösterilmesine karşın, probiyotik kullanımı sonucunda m.o. popülasyonunda artışın olabileceğini gösteren araştırmalar da bulunmaktadır (142).

Saavedra ve ark. (2004), probiyotik katkısı içeren formüllerin toleranslarını ve büyüme üzerine olan etkilerini, genel klinik durum ve ince bağırsak sağlığı bakımından incelemişlerdir. Sonuçlar formüllerin güvenli olduklarını, kolik veya irritabilitede azalmayı ve daha düşük antibiyotik kullanım frekansını göstermektedir (145). Bu çalışmanın sonuçları daha önceden iki *Bifidobacterium longum* suşunun

güvenilirliğini inceleyen çalışmayla da uyumludur ve herhangi bir yan etki bulunmamıştır (146).

Bu çalışmalarda da belirtildiği gibi gıda kullanımıyla ilgili herhangi bir kısıtlama olmamıştır. WHO ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)' nün de belirlediği kriterler göz önüne alınarak, probiyotik özelliklere sahip suşların güvenle kullanılabilceği belirtilmektedir (147).

Probiyotik tüketiminden sonra en az 2 saat antibiyotik alınmaması gerektiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. *S. boulardii* probiyotik bakterisi antifungallerle iletişime geçtiği için ikisi aynı anda kullanılmamalıdır.

Siklosporin, takrolimus, azatioprin, kemoterapi ilaçları gibi immunsupresan ilaçlar kullanan hastalarda, probiyotikler dikkatli kullanılmalıdır (148-150). HIV ve lösemi gibi, bağışıklık sistemi baskılanmış ciddi rahatsızlıklarda, probiyotik kullanımı kısıtlanmalıdır (126).

Ayrıca, bakteriyemi riski nedeniyle kısa barsak sendromu olan hastaların laktobasil; mantar kontaminasyonu nedeni ile venöz kateter takan hastaların *Saccharomyces* probiyotik bakterilerini kullanmamaları gerektiği bildirilmiştir. Süt ve laktoz hipersensitivitesi görülen kişilerin laktobasil; maya alerjisi olan kişilerin *S. boulardii* probiyotik bakterilerini kullanması kontrendikedir. Bifidobakterler için herhangi bir kontrendikasyon olmadığı için nonpatojenik ve nontoksik olduğu düşünülmektedir (148-152).

## **2.2. Probiyotikler ve Genel Sağlık**

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin genel sağlık üzerinde birçok yararı bulunduğu kanıtlanmıştır. Bu yararlı etkilerin mekanizması tam olarak açıklanamamış olsa da genel olarak probiyotiklerin 3 yolla etkisini gösterdiği belirtilmiştir (126).



- 1- Probiyotik bakteri, besin ve biyofilm üzerindeki bağlanma alanları için yarışır.
- 2- Bağlandığında, birçok bakterinin büyümesini engelleyecek bakteriyosinler üretir. (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve reuterin gibi)
- 3- Probiyotik bakteri, enflamasyon mekanizmasına aracılık eden T hücrelerinin aktivasyonu ve sitokin üretimiyle, spesifik ve nonspesifik immün cevabı stimüle eder.

GI sistem, probiyotiklerin en çok iyileşme sağladığı alanlardan biridir. Probiyotikler mide patojenlerinin kolonizasyonuna karşı mukozal bariyeri güçlendirir ve diyare sonrası mide mikrobiyotasının normale dönmesini sağlar (66, 153, 154). İnce bağırsak mikroflorası yetersiz olduğunda bağırsakta permeabilite ve buna bağlı olarak da antijen taşınması artar (66, 155). Bakterilerin ince bağırsak mukozasına veya oral mukozaya bağlanmaları sonucu kolonizasyonlar oluşmaktadır. Probiyotikler, patojenlerle bağlantı bölgeleri ve mevcut substratlar için yarışırlar. Probiyotiklerin ince bağırsak mukozasına adezyonu, faydalı etkileri bakımından önemlidir (66, 155-157). Aynı zamanda probiyotiklerin, deney hayvanlarında görülen kalın bağırsak kanserlerinde enflamasyondan displaziye doğru olan ilerlemeyi azalttıkları da düşünülmektedir (158).

Probiyotiklerin en önemli faydalarından biri, akut enfeksiyöz diyarenin tedavisinde kullanılmasıdır. Çalışmalar, bazı probiyotiklerin, daha çok çocuklarda görülen, akut rotavirüs diyaresinin süresini azaltabileceğini göstermiştir. Akut rotavirüs diyaresinin tedavisinde en çok kullanılan probiyotik türleri LGG ve *L. reuteri*' dir (68, 71, 159, 160). Meta analizlere göre, probiyotik uygulamasının, antibiyotik ilişkili diyarelerde faydalı olduğu görülmektedir (161). Klinik çalışmalar, probiyotiklerin, ileal poş enfeksiyonunun tedavisinde önemli rol oynadığını göstermektedir (68, 162, 163). Yapılan araştırmalarda, probiyotiklerin, antibiyotik bağlantılı diyare, yolculuk diyaresi, Crohn's hastalığı, ülseratif kolit, irritabl bağırsak sendromu *C. difficile* enfeksiyonları ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonlarının tedavilerinde kullanılabileceği bildirilmektedir fakat çalışma sonuçları farklılıklar göstermektedir (68, 159, 162, 164).

Probiyotiklerin laktoz intoleransı semptomlarını azalttığı gösterilmiştir (159). Laktoz intoleransı görülen bireylerde, süt ve süt ürünleri tüketiminin az olması nedeniyle osteoporoz oluşabilmektedir. Bu hastalara probiyotik bakteri verildiğinde, süt laktozunu probiyotikler hidrolize edebilmekte ve kalsiyum emilimi sağlanabilmektedir (1).

Antibiyotik bağlantılı diyare, yolculuk diyaresi ve *C. difficile* enfeksiyonlarının tedavisinde en çok kullanılan probiyotikler, laktobasiller (çoğunlukla LGG ve *L. plantarum*) ve *S. boulardii*' dir (70, 162).

İrritabl bağırsak sendromu tedavisinde yararları görülen probiyotik bakteriler, laktobasiller ve bifidobakterilerdir. Çoğunlukla, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum* ve *S. thermophilus* bakterilerinin kullanıldığı bildirilmiştir (165).

Bağırsak dışı uygulamalarda probiyotik tedavisinin etkisi hakkında yapılan çalışmalarda, ağızdan verilen LGG içeren fermente süt ürünlerinin, potansiyel patojenik bakteriler tarafından oluşturulan nasal kolonizasyonu ciddi şekilde azalttığı gösterilmiştir. Bunların arasında *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve beta-hemolitik streptokoklar mevcuttur (166). Probiyotiklerin akut otitis media gibi üst solunum yolları enfeksiyonlarının tedavisinde yararlı olduğu bildirilmiştir (68).

Probiyotik tür olarak yaygın şekilde kullanılan LGG'nin atopik egzama üzerindeki koruyucu etkisinin, bebeklikten erişkinliğe doğru arttığı görülmüştür (167, 168). Bifidobakterlerin sayıları, atopik dermatitli hastalarda sağlıklı bireylere göre belirgin derecede düşüktür ve alerjik bebeklerin feçeslerinde düşük düzeyde laktik asit üreten bakteriler mevcuttur (169). Araştırmalar, probiyotiklerin gıda alerjisiyle ilgili olarak, alerjik enflamasyonun kontrol edilmesinde büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (170). Probiyotiklerin, atopi riskini azalttığı bildirilmiştir (160).

Probiyotikler, bakteriyel vajinozis, kandidal vajinitis, idrar yolları enfeksiyonları gibi ürogenital problemlerin tedavisinde yararlı olabilmektedir (68, 73, 159, 162).

Sıklıkla kullanılan probiyotiklerin, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* olduğu bildirilmiştir (171, 172).

Probiyotiklerin kolon kanseri ve mesane kanseri riskini azalttığı ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmektedir. (160, 173) Kolon kanserini önleme etkisi, probiyotiklerin karsinojen üreten m.o.'lara karşı gösterdiği antimikrobiyal etkilere, antimitojenik özelliklerine ve tümör diferansiyasyon sürecini değiştirmesine bağlanmaktadır. Kolon kanseri riskini azaltmada en çok yararı görülen probiyotik bakterilerin, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* olduğu bildirilmiştir (174).

Probiyotiklerin, AIDS' in (Acquired Immune Deficiency Syndrome-Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu) ilerlemesini yavaşlattığı, Lin Tao ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada gösterilmiştir. Bazı laktobasil suşlarının, HIV' i saran kılıfta bulunan mannoz isimli bir şekerle bağlanabilen proteinler üreterek, HIV' in mukozalara bağlanmasını zorlaştırdığı bildirilmiştir (175).

### **2.3. Probiyotikler ve Ağız-Diş Sağlığı**

Oral kavite içerisinde kolonize olmuş 700 türden fazla m.o. yaşamaktadır (110). 1 mililitre (ml) tükürük içerisinde, ağız florasına ait bakterilerden 200 milyona yakın m.o. bulunmaktadır (176). Bu m.o.'lar oldukça karmaşık bir yapıya sahip olmalarına rağmen, ortam içerisindeki doğal dengeleri sayesinde herhangi bir hastalığa ya da bozukluğa neden olmazlar (177).

Ağız boşluğu, muköz membranın ve dişlerin yüzey özelliklerine bağlı olarak, devamlı bir mikrobiyal kolonizasyona maruz kalır. Ağız içi epitelinin devamlı olarak yenilenmesiyle, yüzeyde yoğun olarak bulunan streptokoklar dökülerek uzaklaşır. Ancak dişler üzerinde, epitelde olduğu gibi bir yenilenme söz konusu değildir. M.o.'lar bu bölgelerde herhangi bir mekanik ya da kimyasal etkene maruz kalmadan çoğalabilirler (176-179).

Dental plağa yapışarak çürük oluşumuna sebep olan bakterilerin asidojenik (asit üretim yeteneği) olmasa da asidürik (asit ortamda varlığını sürdürme yeteneği) olması gerekir (180-183). Ağız florasında çok sayıda ve değişik tipte m.o. bulunur. Bu m.o.'lardan *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sangius*, *S. salivarius* ve *S. milieri* ve laktobasiller asidojenik yani kendileri asit üretebilen m.o.'lar olup; diş çürüğünde asıl rolü oynarlar ve bu yüzden karyojenik m.o.'lar olarak da adlandırılırlar. Ağız içinde yer alan m.o. tiplerinden sıklıkla çürüğe sebep olanlar streptokoklardır (184).

Laktobasiller, memelilerin sindirim yollarında bulunan ve gıdalarla tüketilmesi güvenli olan yararlı bakterilerdir (185). Laktobasiller, karyojenik özelliklerinden dolayı uzun yıllardır dental araştırmaların ilgi odağı olmuştur. Laktobasillerin insan diş çürüklerinin etiyojisindeki rolüyle ilgili birçok çalışma yapılmasına karşın, ağız sağlığı üzerindeki yararlı etkisi hakkında az sayıda çalışma mevcuttur (106, 107, 109, 114, 116, 186, 187). Günümüzde laktobasillerin insan GI yolu ile ilişkili en yaygın probiyotik bakteri türü olduğu ve bu nedenle, oral mikrobiyatanın ekofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Çeşitli laktobasil türlerinin (*L. paracasei*, *L. gasseri* ve *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. chrispatius* ve *L. rhamnosus*) sağlıklı ağızlarda yaşadığı gösterilmesine rağmen, bu ağızlara ait floraya yerleşmiş bir tür bulunamamıştır (188).

Laktobasil suşlarının bazılarının dentin çürüklerinde izole edilebildiği, dentin çürüklerinin ilerlemesinde rol oynadığı belirtilmiştir. *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei shirota*'nın dental yüzeylere adezyon yeteneği sebebi ile dental çürüklerin ilerlemesinde rol oynadıkları düşünülmektedir (185). Bütün laktobasil suşlarının dental çürük etkeni olmadığı, *L. paracasei* ve LGG' nin *S. sobrinus* üzerinde inhibe edici etkileri olduğu, LGG' nin sukrozu fermente edemediği, *L. fermentum* ve *L. salivarius*' un *S. mutans* ve *P. gingivalis* üzerine inhibitör etkileri olduğu bildirilmiştir. (105, 189)

Proteinleri aminoasitler ve dipeptidlere hidrolize eden laktobasil içeren probiyotiklerin, streptokokların çoğalmasını uyardığı ve bunun sonucunda ağız ortamında pH düşüşüne neden olabileceği düşünülmüş (190) ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda probiyotiklerin, MS'larının ağız içinde yüksek seviyede olma riskini azalttığı ifade edilmiştir. (107, 109, 114-118, 187, 191)

Probiyotikler, karyostatik bir etki oluşturmak üzere diş yüzeyine yapışmalıdır. Ancak probiyotikler ve plak arasındaki temas süresi kısa olduğundan, etkinlik de zayıf olacaktır (192). Bu noktada, probiyotiklerin etki ve temas süresinin artması için, ağız içi yerleşimine ilişkin ideal araçlar belirlenmelidir (112).

Düzenli probiyotik tüketimi, tükürükteki MS'ları ve laktobasil sayısını azaltabilir, ancak tüketim sona erdikten sonra kalıcı bir antibakteriyel etkinlik gösteremez (21, 107, 113, 193, 194). Ancak süt, meyve suyu veya peynir gibi probiyotik formlarında farklı etkinlikler gözlenebileceği de unutulmamalıdır (115, 117, 193, 194).

Probiyotiklerin oral dokular ve m.o.'lar üzerinde görülen etkilerine ilişkin araştırmaların sayısı artmasına rağmen probiyotik bakterilerin oral mikrobik denge üzerindeki etkileriyle ilgili mekanizma hala tam olarak bilinmemektedir (21).

Günümüzde dental restoratif malzemeler ve probiyotikler arasındaki ilişkiye dair herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Ancak probiyotiklerin, orofarinksten sonraki ikinci bariyer olan larinkste, ses protez biyofilmlerinde patojen bakterilerin oluşmasını anlamlı şekilde azalttığına dair bir çalışma bulunmaktadır (195).

Deneysel ve klinik çalışmalar, laktobasiller ve bifidobakteriler gibi bazı GI sistem bakterilerinin oral bölgedeki karyojenik m.o.'ların büyümesini kontrol edebildiğini göstermiştir. Probiyotiklerin oral bölgede karyojenik m.o.'lar üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda; *L. rhamnosus* GG (106, 107, 178, 196-198), *L. casei* (106, 199), *L. reuteri* ATCC 55730 (114, 115, 117, 119, 198), *L. acidophilus* (106, 185), *L. casei* Shirota (185, 199), *L. salivarius* WB21 (200), *W. cibaria* (201), *B. bifidum* DN-173 010'un karyojenik bakterilerin kolonizasyonunu engelleme potansiyelinin var olduğu ve böylece diş çürüğü oluşumunu önleyebileceği bildirilmiştir (21, 122).

Probiyotiklerin oral yolla alınmasının periodontal hastalıkların kontrolünde de etkili olduğu görülmüştür. Orta şiddetli ve çok şiddetli gingivitis vakalarında *L. reuteri* uygulanmasının plak seviyesini ve dişeti inflamasyonunu azalttığı bildirilmiştir (202).

Probiyotiklerin düzenli kullanımının ağız kokusunun kontrol edilmesinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir. *Weissella cibaria* alımından sonra, *Fusobacterium nucleatum* tarafından üretilen uçucu sülfür bileşiklerinin azaldığı ve bu azalmanın *F. nucleatum*' u inhibe eden hidrojen peroksit üretimine bağlı olabileceği Kang ve ark. tarafından bildirilmiştir (203). *Streptococcus salivarius*' un da uçucu sülfür bileşikleri üreten m.o.'larla kolonizasyon alanları için yarışa girerek etki ettiği bildirilmiştir (204).

Oral kavite içinde enfeksiyona neden olan diğer bir etken *C. albicans*' dır. Özellikle ilerleyen yaşlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde daha sık görülmektedir. Hatakka ve ark. LGG ve *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS alımından sonra *C. albicans* görülme sıklığında azalmanın olduğunu bildirmişlerdir (200). Fakat, Koll ve ark. laktobasil suşlarının çoğunun *C. albicans* gelişimini inhibe etmediğini bildirmişlerdir (205).

Oral bölgede probiyotiklerin, diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların tedavisinde ve önlenmesindeki etki mekanizmaları; GI sistem üzerine yapılan çalışmalarla açıklanabilir (11). Bu etkileşimler aşağıda açıklanmıştır:

#### 2.4. Oral Bölge Üzerinde Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Probiyotik bakterilerin, oral yolla alınmasıyla, ağız içindeki karyojenik bakterilerin kolonizasyonunu ve büyümesini engelleyerek diş çürüğü oluşumunu önleyebileceği ve periodontal hastalıkların kontrolünde etki edebileceği, yapılan birçok deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Araştırmalarda; *L. rhamnosus* GG (106, 107, 178, 196-198), *L. casei* (106, 198), *L. reuteri* ATCC 55730 (114-116, 119, 198) , *L. acidophilus* (106, 185), *L. casei* Shirota (185, 199), *L. salivarius* WB21 (200), *W. cibaria* (201), *B. bifidum* DN-173 010 (21, 119) probiyotik bakterilerinin uygulanmasının, ağız içinde çürük yapıcı bakterilerin kolonizasyonunu engelleyerek, diş çürüğü oluşumunu önleyebileceği belirtilmiştir. Ayrıca, *L. reuteri*' nin plak miktarını ve dişeti enflamasyonunu azaltarak orta şiddetli ve çok şiddetli gingivitis

olgularının tedavisine yardımcı olduğu bildirilmiştir (202). Bununla birlikte oral kavitedeki probiyotik etkinin nasıl gerçekleştiği hakkında soru işaretleri mevcuttur. Meurman, GI sistemle ağızdaki probiyotik etki mekanizmasının aynı olduğunu düşündüğünü bildirmiştir. Bu yüzden GI sistem üzerine yapılan çalışmalarla, probiyotiklerin ağız içi etki mekanizmaları açıklanabilir.

Probiyotiklerin dental plakla etkileşimi şu şekilde açıklanmıştır: (11)

1) Dental plakla direkt etkileşim:

Bu etkileşimi sağlayan çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır.

Probiyotik bakteriler, konak dokuya bağlanarak veya bakteri-bakteri tutunmasında araya girerek, dental plakla direkt etkileşime girebilmektedir. Laktik asit bakterilerinin; bakteriyosinler ve adhezyon inhibitörleri içeren antimikrobiyal ajanlar, organik asit, hidrojen peroksit, düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal bileşikler üretmesi, oral bakterilerin inhibisyonunda önemli bir mekanizmadır (11).

Diğer bir mekanizma ise, probiyotik bakterilerin, oral m.o.'ların substratları ile yarışarak metabolizma substratlarına kaynaşması ve ortak besinler için yarışmasıdır (206, 207).

2) Dental plakla indirekt etkileşim:

Probiyotikler, ağız içinde immün fonksiyonları değiştirerek etki edebilmektedir. Ayrıca hem lokal hem sistemik olarak immün fonksiyonları daha iyi hale getirerek mukoza geçirgenliğini düzenlemektedir ve böylece indirekt olarak etki göstermektedir (208, 209).

#### 2.4.1. Probiyotiklerin Oral Kaviteye Adezyonu ve Kolonizasyonu

Diş sert dokuları, keratinize veya keratinize olmayan epitel, ve bu yüzeyleri kaplayan tükürük, oral kaviteyi oluşturmaktadır (178). Probiyotik bakterilerin ağız içinde etkili olabilmesi için adezyon ve kolonizasyon mekanizması çok önemlidir.

Probiyotik m.o.'ların muköz membrana veya yüzeylere tutunabilmesi için ilk basamak adezyondur. Adezyon, iki farklı maddenin molekülleri arasındaki çekim kuvveti olarak tanımlanmaktadır.

Yapılan adezyon araştırmalarında, 'tükürük ile kaplı hidroksiapatit (HA) modeli' ve 'tamponlayıcı ürünler, proteinler ve diğer maddeler ile kaplı HA modeli' en çok kullanılan modellerdir. Adezyonda ilk yaklaşma iki yüzey için de spesifik olmayan etkileşimdir. Daha sonra spesifik mediatörlerin rol oynadığı etkileşimler ile tutunma meydana gelir (210).

Yapılan bir probiyotik kolonizasyonu çalışmasında probiyotik içeren bir yoğurdun (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B.bifidum*), in vitro olarak mine yüzeyine adezyonu ve in vivo olarak diş yüzeyine kolonizasyonu incelenmiştir. *L. acidophilus*' un *L. casei*' ye oranla daha güçlü adezyon gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, tükürüğünde ve interproksimal yüzeylerinde laktobasile rastlanmayan denekler günde 200 ml probiyotik içeren yoğurt tüketmiştir. 1 hafta sonunda deneklerin tükürük ve interproksimal plak örneklerinde laktobasile rastlanmamıştır. Bu çalışmada laktobasillerin, aktif laktobasilli diş yüzeyine sahip bireylerde bioyoğurt tüketimiyle ağız içine yüklenmelerinin mümkün olmadığı tezi savunulmuştur (106).

Oral kavite içerisinde bulunan m.o.'ların %1 ini laktobasiller oluşturmaktadır (211).

Laktobasillerin oral kavitede kolonizasyon göstererek yaşadıklarını kanıtlayan çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Teanpaisan ve Dahlen (2006), tükürükten aldıkları örneklerde en fazla laktobasil türünün, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. acidophilus* and *L. plantarum* olduğunu bildirmişlerdir (212).



Collaca ve ark. (213) da yapmış oldukları çalışmalarında paralel sonuçlar elde ederek, sağlıklı insanlardan aldıkları tükürük örneklerinde en sık rastladıkları laktobasil türlerinin *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. salivarius* ve *L. rhamnosus* olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmalar probiyotik laktobasil suşlarının ağız içinde bulunabileceğini de göstermiştir. Fakat gelecekte araştırılması gereken birçok soru işareti bulunmaktadır. Probiyotik içeren ürünlerin kullanılmasının ardından, laktobasil suşlarının geçici olarak mı daimi olarak mı ağız içinde yaşam sürdürdüklerinin anlaşılabilmesi için, takip süresi uzun olan çalışmalar yapılmalıdır.

LGG suşunun ağızda kolonize olabileceğinin Meurman ve ark. (105) tarafından bildirilmesinin ardından, Yli-Knuutila ve ark. (197) benzer bir kolonizasyon çalışması yapmıştır. Gönüllü, sağlıklı bireylerin, 14 gün boyunca LGG suşu tüketiminden sonra, LGG' nin tükürükteki miktarının azaldığını fakat kolonizasyonun devam ettiğini bildirmişlerdir.

Yli-Knuutila ve ark. (197) ağız içinde LGG kolonizasyonunu sağlamanın devamlı tüketimle sağlanabileceğini belirtmişlerdir. Bunun da ancak çocukluktan itibaren probiyotik kullanımı ile oluşabileceğini bildirmişlerdir.

Finlandiya' da 2001 yılında yapılan bir çalışmada, okul öncesi eğitimi alan çocuklara 7 ay boyunca, *L. rhamnosus* GG içeren süt içirilmiştir ve sonuç olarak, kontrol grubuna göre probiyotikli süt tüketen grupta çürük riskinin daha az olduğu görülmüştür (107).

2005 yılında yapılan bir çalışmada, araştırmacılar, potansiyel bir probiyotik olan *W. cibaria*' nın *F. nucleatum*' a bağlanma yeteneğini incelemişlerdir. (201) *F. nucleatum*, diğer bakterilerin kolonizasyonunda önemli rol oynamaktadır. (214) Araştırmanın sonucunda *W. cibaria*'nın *F.nucleatum*' a bağlanma yeteneğinin yüksek olduğu açıklanmıştır (201). Çeşitli araştırmacılar, laktobasil türlerinin, yardımcı bağlanma yetenekleri sayesinde, patojenik bakterilerin kolonizasyonunu önlemek için bariyer görevi görebileceğini bildirmişlerdir (215, 216).

Haukioja ve ark. (2006), probiyotik içeren çeşitli ürünlerin kolonizasyon potansiyellerini araştırdıkları çalışmalarında, *L. reuteri* SD 2112 (ATCC 55730)'nin, tükürükle kaplı microtitre wells'lerine, HA boncuklarına ve BSA kaplı HA boncuklarına bağlanmalarını daha zayıf bulmuşlardır. Fakat, laktobasillerin bifidobakterlere göre tükürükle kaplı HA yüzeylerine daha iyi bağlanma gösterdiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, hidroksiapatit üzerindeki tükürük pelikülüne, *L. reuteri* 2112 (ATCC 55730) ve *B. lactis* Bb12' nin, *S.mutans*' ların yapışmasını engellemesi üzerine farklı bir mekanizma tanımlamışlardır. Gönüllü deneklerden toplanmış tükürük havuzunda, tüm test suşları 24 saat varlığını sürdürebilmiştir. Laktobasiller tükürükle kaplı HA yüzeyine bağlanırken *F. nucleatum* ile yarışmaktadırlar. Laktobasillerin düşük kolonizasyon yeteneklerinin nedeni olarak bu yarış gösterilebilir. Ayrıca laktobasillerin ağız içindeki floraya etki etmesinin nedeni olarak da bu yarış gösterilmektedir (198).

Çağlar ve ark. (2006) gönüllü deneklere 3 hafta boyunca günde 1 kez *L. reuteri* ATCC 55730 içeren tablet çiğnettikleri çalışmalarının sonucunda ağız içindeki floranın değiştiğini, çürük yapıcı bakterilerin belirgin şekilde engellendiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, bu belirgin etkinin sebebinin, tablet ile biyofilm tabakasının direkt teması ile probiyotik bakterilerin oral dokulara ve biyofilme adezyonu, olabileceğini bildirmişlerdir (114).

Probiyotik bakterilerin etki edebilmesi için patojen bakterileri engelleyebilmesi gerekir. Bu engellenmenin gerçekleşebilmesi için probiyotik bakterilerin kolonizasyon sağlaması şarttır. Çağlar ve ark.'nın (2009), yaptıkları kolonizasyon çalışmasında, *L. reuteri* ATCC 55730' nin düzenli olarak tüketilmesiyle, geçici kolonizasyonun oluşabileceğini belirtilmiştir (118).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, probiyotik bakterilerin tükürük içinde büyüebildiğini ve yaşayabildiğini, oral biyofilme tutunabildiğini, çürük yapıcı bakterilerle etkileşime geçebildiği gösterilmiştir. Bununla beraber, daimi bir kolonizasyonun günümüz şartlarında mümkün olmadığı belirtilmektedir. Probiyotik bakterinin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin devam edebilmesi için düzenli tüketim gerekmektedir. Günlük olarak, ml' de  $10^8$  canlı bakteri içeren 1-2 dl sıvı veya 2 tablet/kapsül tüketimi önerilmektedir (126).

Probiyotik uygulamalarının her yaşta uygulanabildiği fakat, hayatın erken dönemlerinde uygulandığında ancak kalıcı bir yerleşmenin olabileceği belirtilmektedir (11, 197).

Çağlar ve ark. (2009), yapmış olduğu kolonizasyon çalışmasında, 25 gönüllüye 2 hafta boyunca *L. reuteri* ATCC 55730 içeren sakız çiğnetmişlerdir. Sakız tüketiminden sonraki ilk günlerde tükürükte probiyotik bakteri sayısı fazla iken, 5 hafta sonrasında hiç probiyotik bakteri gözlenmemiştir. Araştırmacılar, daimi kolonizasyon için 2 hafta probiyotik uygulamasının yeterli olmadığını belirtmişlerdir (118).

Zahradnik ve ark. (2009), probiyotik bakteri içeren bir ağız suyu üzerinde çalışma yapmıştır. Gönüllü denekler, *S.oralis*, *S.uberis* ve *S.rattus* içeren ağız suyunu günde 2 kere 4 hafta boyunca kullanmıştır. Sonuç olarak, tükürükteki *S. mutans* ve subgingival plaktaki *Campylobacter rectu* ve *Porphyromonas gingivalis* sayılarının azaldığı bildirilmiştir (217).

Pham ve ark. (2010) yapmış oldukları biyofilm çalışmasında, LGG probiyotik bakterisinin tükürük kökenli biyofilme dahil olabildiğini ve MS'lerinin büyümesini inhibe edebildiğini fakat m.o.' ların karyojenik potansiyeline anlamlı bir etkisinin olmadığını açığa çıkarmışlardır. Araştırmacılar, karyojenik potansiyelinin etkilenmemesinin sebebini, MS'ları dışında diğer m.o.' ların da sorumlu olmasına bağladıklarını belirtmişlerdir(218).

Sinkiewickz ve ark. (2010), *L. reuteri* ATCC 55730 ve ATCC PTA 5289 içeren sakızları 12 hafta boyunca deneklere kullandırtmışlardır. Uygulama sonrasında yapılan analizlerde tükürük ve plakta kolonizasyonun sağlanmadığı belirtilmiştir (219).

Cogulu ve ark. (2010), multistrain probiyotik bakteri içeren kefir içeceğini, tükürük içindeki *S. mutans* ve laktobasil sayılarını etkilemesi açısından araştırmışlardır. *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* spp. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* spp. *cremoris*, *Lactobacillus kefir*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Saccharomyces unisporus* içeren kefirini 20-27 yaşları arasındaki 104 gönüllü üç hafta boyunca tüketmiştir. Sonuç olarak,

deneklerin tükürük örneklerinde *S. mutans* ve laktobasil sayılarının düştüğü gözlemlenmiştir (220).

Çağlar ve ark. (2010), avulse dişlerin, çeşitli solüsyonlarda bekletildikten sonra, periodontal ligament hücrelerinin canlılığını inceledikleri çalışmalarında, Hank' s balanced solüsyonu, tükürük ve *L. reuteri* içeren solüsyon arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemişlerdir (221).

Hasslöf ve ark. (2010), yaptıkları çalışmalarının sonucunda, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. reuteri* ve *L. acidophilus* bakterilerinin *C.albicans* büyümesini inhibe ettiğini fakat en fazla inhibisyonu, *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* 931 ve *L. reuteri* ATCC 55730 suşlarında elde ettiklerini açıklamışlardır (222).

Harini ve ark. (2010), probiyotik ve klorheksidin içeren ağız gargaralarını incelemişlerdir. 6-8 yaşlarındaki 45 çocuğu 3 gruba ayırarak, 14 gün boyunca, ilk gruba mentollü su gargarası, ikinci gruba probiyotikli gargara ve üçüncü gruba klorheksidin gargarası kullandırmışlardır. Başlangıca göre plak birikimi ve gingival enflamasyonun en çok azaldığı grup probiyotik grubu olmuştur. Klorheksidinin, diş ve dili renkleştirmesi, mukozal erozyona neden olması ve tat duyusunu azaltması sebebi ile probiyotikli gargaraların daha iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (223).

Singh ve ark. (2011), 12-14 yaş arası bir grup çocuk üzerinde yapmış oldukları araştırmalarında, çocukları 2 gruba ayırmışlardır. Bir grup, kombine olarak *Bifidobacterium lactis* Bb12 ve *Lactobasillus acidophilus* La5 içeren dondurma tüketirken, diğer grup kontrol grubu olmuştur. Sonuçta, probiyotik bakteri içeren dondurma tüketen çocukların tükürüklerinde MS sayılarının azaldığı bildirilmiştir (224).

Petersson ve ark. (2011), probiyotik, florid ve her ikisini de içeren sütlerin kök çürükleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında *Lactobasillus rhamnosus* LB21 ve florid içeren sütlerin yumuşamış çürük yapısını tersine çevirebildiğini bildirmişlerdir. En fazla etkinin hem florid hem probiyotik içeren sütte görüldüğü belirtilmiştir (234).

Aminabadi ve ark. (2011), probiyotik kullanımından önce klorheksidin kullanımının etkisini araştırdıkları çalışmalarında, 105 çocuğu 3 gruba ayırmışlardır. Bir grup 2 hafta boyunca yalnızca klorheksidin gargara kullanmıştır. Bir grup 3 hafta boyunca yalnızca *Lactobasillus rhamnosus* GG içeren yoğurt teketmiştir. Diğer grup önce klorheksidin gargara kullanmış, 1 hafta arınma döneminden sonra ise aynı probiyotik bakteriyi teketmiştir. Sonuç olarak, 3. gruptaki ocuklarda, LGG suşunun daha kararlı bir şekilde kolonize olduğu grlmştir (226).

Keller ve ark. (2011), urkl ve urksz ağızlardan tükürük örnekleri almışlardır. Bu rneklerden *S. mutans* ayırıtılmıştır ve çeşitli laktobasil suşlarıyla etkileşimleri in vitro olarak izlenmiştir. Sonuç olarak, tüm probiyotik bakterilerin *S. mutans* sayısını azalttığı grlmştir. urkl veya urksz ağızlardaki *S. mutans* bakterileri ile laktobasil suşlarının bu patojen bakterileri inhibe etmesi arasında bir orantı bulunamamıştır. Ancak her bir probiyotik suşunun etkisinin farklı olduğu gözlenmiştir (227).

Çıldır ve ark. (2011), dudak damak yarıklı çocuklara 25 gün boyunca günde 5 damla Biogaia damla<sup>®</sup> (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belçika) (*L.reuteri* DSM 17938 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289) damlatmışlardır. Tükürük örneklerinde mutans streptokok sayılarında anlamlı bir azalma görülmemiştir (228).

Shen ve ark. (2011), *L. acidophilus*' un kısa dönem kullanılmasının ardından kolonizasyonunu araştırmışlardır. 14 gün boyunca probiyotik içeren yoğurt tüketen 23 gönüllünün tükürük, plak, dil-yanak yüzeyleri ve fecesleri incelenmiştir. Probiyotik tüketiminin 1 hafta ardından oral yüzeylerde hiçbir probiyotik bakteriye rastlanmamıştır. GI sistemde ise daha uzun süre gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, kısa dönem probiyotik kullanımının, oral kavite ve GI sistemde kalıcı kolonizasyonu sağlamadığı bildirilmiştir (229).

Marttinen ve ark. (2012), LGG ve *L. reuteri* SD2112 ile PTA 5289 kombinasyonunun dental plak üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Fakat her iki grubun da dental plaktaki MS sayısını azaltamadığı ve plağın asidojenitesini değiştirmedeği bildirilmiştir (230).

Ravn ve ark. (2012), üç probiyotik bakteri türü içeren Cultura Dofilus® (Arla Foods®, Danimarka) isimli sütü üç gün boyunca günde 8 kere tüketen kişilerin tükürük, mukoza ve dental yüzeylerinden örnekler alarak yaptıkları incelemede tükürükte ve mukozal yüzeylerde probiyotik bakteriler gözlemlendiği halde dental yüzeylerde biyofilme dahil olmadığı belirtilmiştir (231).

Keller ve ark.'nın (2012), yaptıkları çalışmada, klorheksidinle ağız içi dezenfeksiyonu yapılan kişilerin, sonrasında probiyotik tüketimi yapmalarının, tükürükteki MS'larının tekrar büyümesini etkileyip etkilemediğini incelemişlerdir. Ortalama 23 yaşlarında, 62 kişi iki gruba bölünmüştür. İki grup da üçer gün klorheksidin gargara kullanmıştır. Sonraki 6 hafta boyunca bir grup günde iki kere *L. reuteri* DSM 17938 ve ATCC PTA 5289 içeren probiyotik tabletleri kullanmıştır. Diğer grup kontrol grubu olmuştur. Klorheksidin kullanımından sonra, 1. 6. ve 12. haftalarda tükürük mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. İlk hafta yapılan analizlerde 2 grupta da MS sayısının anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür. Sonraki haftalarda MS'larının tekrar büyümesinde test ve kontrol grupları arasında hiçbir fark gözlenmemiştir (232).

## 2.5. Ağız İçi Flora

İnsan vücudunda, tüm yaşam boyunca potansiyel patojen birçok m.o. bulunur. Oral flora, 35-36 derece ısısı, nem, besin ve oksijen basıncıyla iyi bir etüv kabul edilen anaerob, aerob, fakültatif m.o.'ların üremeleri için uygun bir ortamdır (233). Doğumda steril olarak kabul edilen oral florada, Stafilokok, Streptokok, Koliform bakteri ve Gram pozitif çomakların bulunabildiği, doğumdan sonraki oral mikroflorada ise aerob ve fakültatif anaeroblar bulunduğu bildirilmektedir. Dişlerin sürmesiyle beraber fakültatif bakteriler çoğunluğu oluşturmaktadır ve dişler sürdükten sonra da anaeroblar artmaktadır. Dişlerin sürmesiyle anaerob bakterilerden olan *Leptotrichia*, Spiroketler, Fusiform bakteriler, Spiriller ve Vibriolarda artış olur. Oral hijyenin eksik olduğu ağızlarda anaerob ve proteolitik, oral hijyenin iyi olduğu ağızlarda ise çoğunlukla aerob, fakültatif ve asidojen flora görülmektedir. Tüm gece süren bakteri üremesi

nedeniyle, sabah kalktıktan sonra bakteri sayısı en fazladır. Kahvaltı yapma, diş fırçalama, ağız çalkalama sonucu florada değişiklikler görülmektedir (234).

Doğumda, oral kaviteye ilk kez yerleşen m.o.'lardan, yalnızca uygun koşullar bulanlar kolonize olur. Ağız boşluğunda mikrofloranın erişebileceği bir üst sınır vardır ve bu mikroflorayı, sınırlayan etkiler olduğu düşünülmektedir. Bunlardan biri tükürüğün yıkayıcı etkisidir. Tükürükle birlikte her gün 1.25 gr. bakteri hücrelerinin yutulmaktadır. Ayrıca çiğneme, dilin, dudakların ve yanak mukozasının hareketleri de m.o.'ların diş yüzeyinden uzaklaşmasına yardımcıdır. Diş plağı mikroflorasında çoğunlukla m.o.'lar, tükürük glikoproteinleri, hücre dışı bakteri ürünleri, dökülmüş epitelyum hücreleri, lökosit ve eritrositler bulunur. En çok üreyen m.o.'lar ise; %27 fakültatif streptokoklar, %23 fakültatif difteroidler, %18 anaerob difteroidler, %13 Peptostreptokok, %6 Legionella, %4 Bakteroides, %4 Fusobakteriler, %3 Neisserialar, %2 Vibriolar şeklindedir. Dişler, *S. sanguinis* ve *S. mutans*' in yerleşmesi için en elverişli ortamdır, dişsiz ağızlarda ise bu m.o.'lara pek rastlanmaz (234).

İnsanlarda oral floranın oluşumu doğumdan itibaren bakteri kolonizasyonu ile başlayıp hayat boyu devam eder. Doğumdan sonraki ilk hafta içerisinde ağızda izole edilen m.o.'lar, streptokok türlerinden *S. mitis*, *S. oralis* ve *S. salivarius*'tur. İlk aylardan itibaren ağız içi kompleks bir hal almaya başlar ve *Veillonella*, *Prevotella* (bakteroides) gibi anaerobik bakteriler ağız ortamına yerleşirler. Dişlerin sürmesi ile birlikte m.o.'ların üreyebileceği yeni yüzeyler oluşur ve *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguinis* ve *Actinomyces* türleri ağız ortamına katılırlar (180, 234). Oral flora genç yetişkin döneminde daha kompleks ve yerleşik bir hal almaktadır.

Ağızdaki m.o.'ların çoğu patojenite sağlayacak özelliktedir. Diş çürüğü, periodontal hastalıklar, normal flora bakterileri ile oluşan enfeksiyonlardır. Patojenik m.o.'ların hastalık yapma yeteneği, toksik oluşu ile ilgilidir ve bunu da salgılarıyla sağlamaktadırlar. Bunlar arasında hyaluronidaz (yayıma faktörü), koagülaz (fagositozu engeller), kinaz (yayılmayı sağlar), hemolizin (yayılmayı sağlar) ve kolegenaz (kollageni parçalar) vardır.

Tükürük, büyük tükürük bezleri olan parotis, submandibular ve sublingual tükürük bezlerinin, ağız mukozası içerisine dağılmış çok sayıdaki küçük tükürük

bezlerinin sekresyonları ile dişeti olduğundan kaynaklanan sıvıdan meydana gelen kompleks bir sekresyondur (235). Tükürük çok farklı prolinden zengin proteinler, lizozim, laktoferrin, peroksidaz ve IgA gibi enzimler içermektedir.

Tükürük dişlerin çürükten korunması, çiğneme ve yutmanın sağlanması, ağız mukozasının bütünlüğünün devam ettirilmesi, fonasyonun kolaylaştırılması, tad alma ve yara iyileşmesine yardımcı olması gibi çok önemli koruyucu roller üstlenmektedir (235). Tükürüğün en önemli koruyucu fonksiyonu; temizleme, agregasyon ve direkt antimikrobiyal etki oluşturarak ağız içinde ekolojik dengenin sağlanmasıdır. Tükürük, içerdiği mineraller ve bileşiklerle pH dengesini sağlayarak, tamponlayıcı görev görmektedir. Bu nedenlerden dolayı tükürük yapısındaki ve akışındaki bozukluklar yemek yeme ve yutkunma zorluklarına neden olurken, mukozada enfeksiyonlar ve diş çürüklerinde artış görülür (236-238).

Biyofilm oluşumunda da tükürüğün önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Tükürük içindeki proteinler tüm oral yüzeylerde film şeklinde oluşabilmektedir. Bu kazanılmış pelikül, mikrobiyal tutunma için pozitif seleksiyon oluşturmaktadır. Tükürük, bakterilerin çeşitli türleri arasındaki koagregasyonu da sağlamaktadır (239, 240).

Straetemans ve ark. (1998), yaptıkları çalışmalarında mutans streptokokların kolonizasyonunun 'enfeksiyon penceresi' olarak tanımlanan 19-31. aylardan sonra da olabileceğini bildirmişlerdir. Caufield ve ark. tükürükte MS kolonizasyonunun oluşabilmesi için MS sayısının en az  $10^5$  cfu/ml olması gerektiğini bildirmişlerdir. 19-31. aylardan sonra, geç kolonizasyon olduğunda, ileriki yaşlarda süt ve sürekli dişlerde çürük görülme olasılığını azaltabileceğini belirtmişlerdir (241).

### **2.5.1. Pelikül-Biyofilm-Dental Plak**

Diş yüzeyi tamamen temizlense dahi, çok kısa bir süre içerisinde glikoproteinler, asidik prolinden zengin proteinler, statherin ve fibrinonektin, müninler, bakteriyel hücre debrisleri, alfa amilaz gibi dış ürünler ve sialik asitten zengin bir karışım ile



kaplanmaktadır (242). Bu karışıma pelikül ismi verilmiştir. Bu kazanılmış pelikül, primer kolonizan bakteriler için bir substrat görevi görmektedir (243). Aynı zamanda diş yüzeyinin kayganlaşmasını sağlayarak etkili bir çiğnemeyi sağlamakta ve diş demineralizasyondan korumaktadır (244). Pelikül oluşumunu takiben diş yüzeyine ilk olarak da gr(+) koklar yapışmaktadır. Sonrasında gr(+) çomak, gr(-) anaerobik kok ve fusiformlar yerleşmektedir (239). İlk kolonize olan bakteriler daha sonra üreyerek çevre koşullarını değiştirebilmektedirler. Bu ortam değişiklikleri sahayı daha zararlı bakterilerin kolonizasyonu için daha uygun hale getirmektedir. Bu geç kolonize olan bakteriler koagregasyon ile daha önce tutunmuş olan bakterilere tutunarak, birden çok m.o. türünün oluşturduğu belirli bir yapıya sahip bir biyofilm tabakası, başka bir deyişle dental plak oluşturabilmektedirler (245).

Biyofilm, canlı ya da cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri organik bir ekzopolisakkarit matriks içine gömülü ve hareketsiz olarak birbirine, bir katı yüzeye ya da bir ara yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş genetik yapı ve protein sentezi açısından tamamen değişik yapıda olan m.o.'ların oluşturduğu topluluk olarak belirtilmektedir (243, 246-249).

Yapılan araştırmalar, biyofilmlerin sadece yüzeye yapışmış durumda bulunan ve içerisinde m.o.'ların bulunduğu homojen bir tabakadan ibaret olmadığını, bakterilerin belirli bir yapıya sahip, koordinasyon yeteneği bulunan fonksiyonel toplulukların oluşturduğu biyolojik sistemler olduğunu ortaya koymuştur (243). Biyofilmler, matriksleri içerisinde yaşamlarını sürdüren hücrelere esansiyel besinlerin ve oksijenin taşınmasına imkan tanıyan 'su kanallarına' sahip, çok tabakalı heterojen bir yapıya sahiptirler (245, 250).

Dental biyofilm, periodontal hastalıkların ve diş çürüklerinin oluşup, gelişmesinde karışık ve süregelen mikrobiyal bir sistemdir (209). Her m.o. biyofilm oluşturmayabilir. Bazı m.o.'lar ise belirli şartlar altında biyofilm oluşturabilmektedir. Örneğin, *S. mutans* ve *S. sanguinis*'in biyofilm oluşturabilmesi için bulunduğu ortamda 250 mM'dan (milimol) fazla glukoz bulunması, *S. salivarius* ve *Actinomyces* türleri için ise en az 500 mM galaktoza ihtiyaç duyulmaktadır (252). Diş yüzeyine tutunan her bir bakterinin biyofilm oluşturmadaki rolü genetik bir bilgi olarak bakteri DNA'sında bulunmaktadır (253).

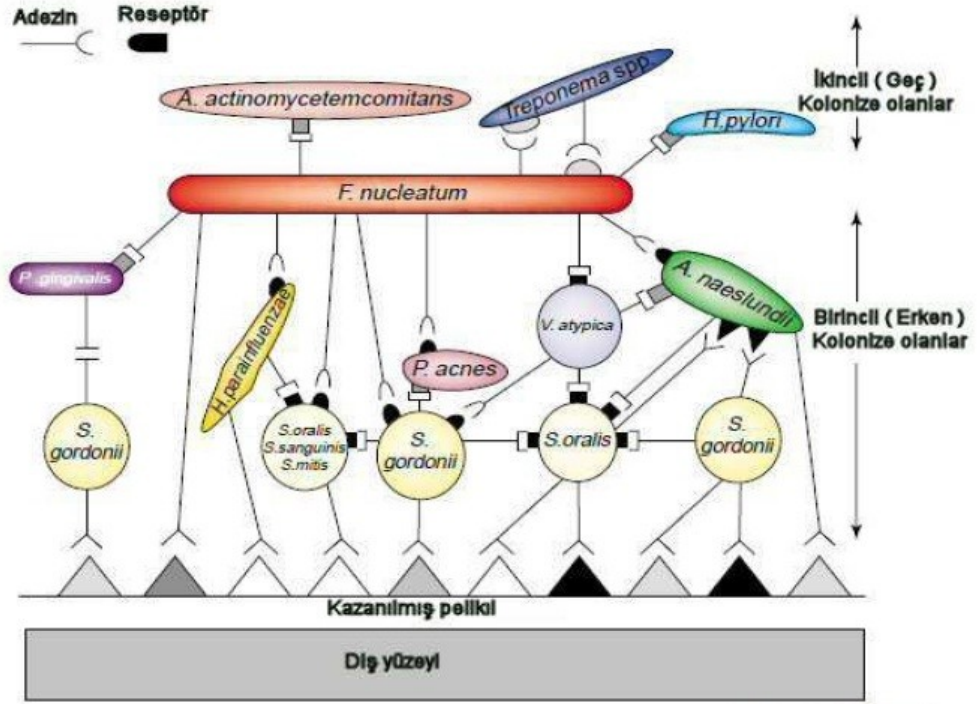
Diş yüzeylerinde biyofilm oluşması için 3 basamak gereklidir.

1) Diş minesini üzerinde kazanılmış bir pelikül oluşması,

2) Bunu takiben primer kolonizasyon yapan hücrelerin yüzeye yapışması,

3) İkincil ve üçüncül kolonizasyon yapan hücrelerin birbirlerine ve primer kolonizasyon yapan hücrelere tutunmalarıdır.

Dental plak florası olgunlaştıkça değişmektedir. Olgunlaşan dental plak içerisinde gr(-) anaerobik bakteriler baskın olarak bulunmaktadır. Kok, çomak ve fusiformların yanında spiroket ve hareketli bakteriler de gözlenmektedir (248). Dental plak içerisindeki patojen bakterilerin sayısının daha fazla olması durumunda ise hastalık durumundan bahsedilebilmektedir. Bütün bu bakteriler besinlerini tükürük ve dişeti oluşu sıvısından karşılayarak birlikte yaşamaktadırlar. Farklı türler birbirlerine besin ağı ile bağımlı olarak beraber yaşayabilmektedirler. Birinin ürününü bir diğeri metabolizmasında kullanabilmektedir (239).



Şekil 1. Biyofilm modeli (254)

Dental plakta bakterilerin ortak davranış şekli oldukça spesifikdir. Birincil bakteriler kendi aralarında koagresyon gösterirlerken, genelde ikincil bakteriler ile göstermemektedirler. Aynı zamanda ikincil kolonize olan bakteriler *F. nucleatum* ile birleşirken (koagresyon) genelde birbirleri ile birleşme gerçekleştirmemektedirler. *F. nucleatum*'un yokluğunda ikincil kolonize olan bakteriler dental plağın bir parçası olamamaktadırlar. *F. nucleatum* bu sebeple birincil ve ikincil bakteri kolonileri arasında köprü görevi görmekte ve dental plak oluşumunda temel organizma olarak kabul edilmektedir (254).

Plak, konak-parazit ilişkisini bozarak dişeti ve periodontal hastalıkların başlamasına ve diş çürüğü oluşumuna neden olur (211).

## 2.5.2. Çürük Mikrobiyolojisi

Diş çürüğü okul çağı çocuklarının %60 - %90'ını, yetişkinlerin de büyük kısmını etkileyen önemli bir sağlık problemidir (262). En sık görülen kronik enfeksiyöz bir hastalıktır (256). Diş sert dokularını oluşturan inorganik kalsiyum fosfat kristalleri ile organik matriks arasındaki elektrostatik bağlantının, H<sup>+</sup> iyonları tarafından fiziko-kimyasal düzeyde bozulması ve CaPo<sub>4</sub> (kalsiyum fosfat) kristallerinin yıkımı ile başlayan, sonra dokuda submikroskopik, mikroskopik ve ardından makroskopik madde kaybına neden olan, diyet, tükürük, plak mikroflorası ve diş yüzeyi arasındaki hareketleri içeren multifaktöryel bir hastalıktır (257). Diyetle alınan sakkarozun dental biyofilm içindeki asit üreten bakteriler tarafından kullanılabilir hale getirilmesiyle mine yüzeyi üzerindeki biyofilmin nötr halindeki pH'sı (7.0), hızla kritik pH'nın da (5.5) altına düşmekte ve mine yüzeyinde demineralizasyon başlamaktadır (244).

### 2.5.2.1. Mutans Streptokoklar

Diş çürüklerinin gelişiminde hangi bakteri veya bakterilerin etkili olduğu pek çok çalışmada araştırılmış ve sonuç olarak diş çürüğünün etyolojisinde birden fazla m.o.'nın etkili olduğu fakat en fazla *S. mutans*'ın etkili olduğu bildirilmiştir (258).

Brathall 1970 yılında, *S. mutans* suşlarını a, b, c, d, serotipleri olarak sınıflandırmış ve daha sonra bu serotiplere e, f, g ve h serotipleri de eklenmiştir. Coykendall (1977), DNA bazlı sınıflandırmasında benzer streptokokları bir bütün olarak "*Mutans Streptokoklar (MS)*" olarak isimlendirmiştir. Bu 7 tür, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. criteus*, *S. ferox*, *S. rattus*, *S. macacae* ve *S. downei*' dir (250, 260).

Yapılan çalışmalarda, en çok *S. mutans*' ın ve daha az olmak üzere *S.sobrinus*'un insan diş çürüğündeki primer etkenler olduğu bildirilmiştir (184, 261). Plak içinde bulunan *S. mutans*'lar diğer m.o.' lara göre daha karyojenik, miktar olarak ise *S. sobrinus* daha fazladır (262).

*S. mutans*'ların diş çürüklerinin oluşumunda rol oynadığı ile ilgili kanıtlar en belirgin fissür çürüklerinde görülmektedir (258). Diş yüzeylerinde başlangıç çürük lezyonundaki flora ve kavitasyon oluşmuş çürük lezyonları yüksek seviyede *S. mutans* içerir (263). *S. sobrinus*, ön dişlerden çok arka dişlerde daha sık izole edilmektedir. (264, 265).

*S. cricetus* ve *S. rattus*, hamsterlarda ve laboratuvar sıçanlarında bulunurlar. Nadir olarak diş plağından izole edilebilirler. Hayvanlarda çürük yapıcı özelliğe sahiptirler.

*S. macacae*, maymunlardan, *S. ferus* vahşi sıçanlardan izole edilmektedir. Hayvan modellerinde *S. macacae* karyojenikken, *S. ferus* karyojenik değildir (266).

#### **2.5.2.2. Laktobasiller**

Laktobasiller, hayatın ilk yıllarında oral kavitede ortaya çıkarlar. Oral ekosistemde önemli rolleri vardır. Laktobasil sayısı ve diş çürükleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu gibi ayrıca bazı patojen bakterilerin büyümesini inhibe etme özelliği de bulunmaktadır (267, 268).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, çürük oluşumu ile ilgili olarak laktobasillerin, çürüklerin başlangıç aşamasında görev almadığı, fakat ilerlemiş (kavitasyon oluşmuş) çürük lezyonlarında miktarı ve görülme sıklığı daha fazla bulunmuştur (266, 269).

*L. rhamnosus*, sağlıklı insandan izole edilebilmektedir ve streptokoklar üzerinde inhibitör etki göstermektedir (205). Çeşitli diyare türlerinin önlenmesinde kullanılmaktadır.

*L. acidophilus*, *L. salivarius*, zorunlu homofermenterler; *L. fermentum*, *L. brevis* zorunlu heterofermenterler; *L. casei*, *L. plantarum* fakültatif heterofermenterler grubunda yer almaktadır (270).

## 2.6. Araştırmalarda Kullanılan Deney Hayvanları

Deney hayvanları, hipotezi bilimsel kurallara göre kurulmuş, araştırmalarda ve biyolojik testlerde kullanılan hayvanlardır (271).

Deneylerde kullanılan hayvanlar; sıçan, fare, gerbil, hamster, tavşan, köpek, kobay, domuz, koyun ve maymundur.

Hayvan deneyleri;

1. İlaç araştırmaları ve kimya sanayi
2. Temel araştırmalar (insan vücuduna ait fizyolojik ve patofizyolojik süreçler)
3. Gen tekniği
4. Kozmetik
5. Yüksek ğrenim /eğitim
6. Aşıların ve serumların yapımı

alanlarında yapılmaktadır (271).

İnsanla ilişkisi olabilecek, herhangi bir biçimdeki herşeyin olası etkileri öncelikle hayvan deneylerinde çalışılmaktadır, bunların başında toksisite, teratojenite, mutajenite ve kanserojenite gelmektedir.

Buna karşın, gerek insanlar ve hayvanlar, gerekse de farklı hayvan türleri arasında dayanıklılık ve etki bakımından olduğu kadar, maddelerin alınış, dağılış ve vücuttan atılışı bakımından da temel farklılıklar vardır. Hiç bir zaman insanın bir tıbbi maddeye bir deney hayvanıyla aynı şekilde tepki vereceği veya deney hayvanının insanla aynı tepkiyi göstereceği güvenilir bir şekilde ileri sürülemez. Hayvanlar zerindeki deneylerin sonuçları insanlara tam manasıyla uyarlanamayabilir. ‘‘Hayvan modelleri’’ insan hastalardaki karmaşık hastalık ve tedavi süreçleriyle eşitlenebilir değildir. Beslenme, yaş, eşlenik eden hastalıklar, yaşam alışkanlıkları, bağımlılık yapıcı maddelerin kullanılması, zarar verici evre etkileri, stres, psikolojik ve sosyal faktörler gibi hastalık oluşumunun önemli noktaları gözardı edilir. Hayvanlarla yapılan çalışmaların sonuçları bu yüzden yanıltıcı da olabilmekte ve ilaçların çoğunluğu Faz-2 çalışmasının üstüne çıkamamaktadır (271).

Bunlara rağmen kliniklerde kullanılan ilaçların büyük çoğunluğu da bu denemelerle elde edilmiştir.

Hayvan çalışmalarının, karmaşık süreçlerin daha basit sistem üzerinde denenmesi ve model oluşturulması, yeterli bilgi birikiminin sağlanması ve prelinik çalışmalarda insan üzerinde denenmesi gerekliliği sebeplerinden dolayı yapılması gerekmektedir.

Hayvan deneyi olmalı fakat deney hayvanı kullanımı ve deneysel çalışmalar uluslar arası kabul edilen standartlara göre düzenlenmelidir.

Deney hayvanlarının kullanıldığı araştırmalarda 3R kuralı uygulanmaktadır (271).

1. Replacement-Yerine Koyma
2. Reduction-Azaltma
3. Refinement-İyileştirme

Yerine Koyma: Eğer mümkünse, hayvan yerine, aynı güvenilirlikte sonuçlar verecek başka materyal ya da modeller üzerinde çalışmak veya hayvan deneyi mutlaka gerekiyorsa; filogenetik skalada daha yüksekte yer alan hayvan yerine daha aşağıda bulunan hayvanı kullanmak anlamına gelmektedir.

Azaltma: İstatistik hesabı etkilemeyecek en az sayıda hayvan üzerinde çalışmak.

İyileştirme: Deneylerde hayvanlara en az rahatsızlık verecek şekilde davranmak.

Biyomedikal araştırmalarda kullanılan hayvanların % 95'ini kemirgenler oluşturmaktadır (%90 sıçan ve fare, % 2 hamster, %2 kobay, %1 diğerleri).

Kemirgenler, boyutlarının küçük, elle tutulmalarının kolay ve bakımlarının ekonomik olması, hem döl verme sürelerinin hem de ömürlerinin kısa olması, haklarında ayrıntılı bilginin varlığı, germ-free ve patojen-free üretim modellerinin uygulanabileceği birçok türün olması, yüksek üretkenlik kapasiteleri, insanlarda görülen birçok hastalık modelinin kemirgenlere de oluşturulabilmesi nedeniyle,

deneylede tercih edilmektedir. Sıçanlar, tıbbi araştırmalarda en fazla kullanılan hayvanlardır (271).

### 2.6.1. Sıçanlar

Sıçanların biyolojik kökeni **Tablo 3'** de gösterilmektedir (271).

**Tablo 3. Sıçanların biyolojik kökeni**

Alem	Hayvanlar
Şube	Omurgalı
Sınıf	Memeliler
Takım	Rodentler
Familya	Muridae
Cins	Rattus
Tür	Rattus rattus & Rattus norvegicus

Sıçanların genel özellikleri şu şekilde sıralanabilir:

1. Elle tutulmaları esnasında idrar ve dışkı çıkarabilirler.
2. Isırabilirler.
3. Tırmanabilirler. Kafes tellerine asılırlar.
4. Soğukta birbirine sokulurken, sıcakta birbirinden uzaklaşırlar.
5. Kuyruklarından tutularak kaldırıldıklarında geriye dönerek ısırılmaya çalışabilirler.



6. Bazen kuyruktan tutularak kaldırıldıklarında vertikal eksenleri etrafında dönme hareketi yapabilirler. Eğer hayvan bu şekilde tutulmaya devam ederse kuyruk derileri kopar.
7. Karşılaştıkları objeleri, ağırlı uyaran yoksa önce koklarlar.
8. Bu obje veya kişi ağırlı uyaran veriyorsa ilk hareket refleks ısırma hareketidir.
9. Doğum yapmış dişi sıçan yavrularını toplu halde tutar.
10. Yaralı, hasta veya anomalili yavruları sağlıklı yavruardan ayırır.
11. Alıştığı bakıcı dışındaki kişilerin çıplak elle dokunduğu yavruları da ayırır.
12. Başka annelerin yavrularını da emzirebilirler.
13. Çiftleşme kafeslerindeki erkekler aynı kafese konulmaları durumunda birbirlerini yaralarlar.
14. Yaşlanan sıçanın kıllarında dökülmeler başlar, kıllar seyrekleşir, yer yer kılsız alanlar oluşur, hareketler azalır.
15. Safra kesesi bulunmaz. Büyük bir çekuma sahiptir.
16. Görme duyusu zayıftır. Özellikle uzun dalga boyu olan ışıklara (kırmızı ışık gibi) karşı kördür
17. Renkli görme yoktur.
18. İşitme duyuları iyi gelişmiştir.
19. Düşük frekanslı sesleri insandan daha az, yüksek frekansları daha iyi duyar
20. Koku duyusu iyi gelişmiştir.
21. Beyinde koku bölgeleri büyüktür.
22. Gece aktif (nokturnal) hayvanlardır.
23. Yem tüketimini kontrol edebilirler bu nedenle yem ve su ad-libitum verilir.

24. Selülozun sindirimi çekumda gerçekleşir ve B vitaminleri sentezlenir. Bu vitaminlerden yararlanmak için hayvanlar dışkılarını yerler (kaprofaji).
25. Ratlarda fareler gibi ayak patilerinde bulunan ter bezleri ve kuyruk damarlarının genişlemesi ile vücut ısısını düşürebilirler.
26. Kuyruk vücut uzunluğu kadar ya da biraz daha kısadır. Kuyruk hayvanın dengesini sağlamada önemli bir organdır.
27. Dişler çok keskin ve kuvvetlidir (yem yetersizliğinde metal, tahta, plastik gibi maddeleri kemirebilirler).
28. Özellikle biyolojik araştırmalarda deney sonuçlarının insana uygulanabilirliği yüksektir.
29. Temel tıp, ilaç, gıda, davranış ve toksisite çalışmalarında kullanılmaktadır.

**Tablo 4. Sıçanlara ait bazı fizyolojik parametreler (271)**

Temel fizyolojik parametreler		Solunum sistemi parametreleri	
Diploit kromozom sayısı (2n)	42	Tidal hacim (ml)	0,6-2,0
Yaşam süresi (yıl)	2,5 - 3,5	Solunum sayısı (solunum/dakika)	70 - 115
Erkek vücut ağırlığı (g)*	300 - 500	Dakika ventilasyon (ml/ dakika)	75 - 130
Dişi vücut ağırlığı (g)*	250-300	Toplam akciğer kapasitesi (ml)*	11,3 ± 1,4
Vücut sıcaklığı (rektal)	35,9-37,5°C	Vital kapasite (ml)*	8,4 ± 1,7
Yem tüketimi (gr/100 g vücut ağırlığı)	5-6	Fonksiyonel rezidüel kapasite (ml)*	3,9 ± 0,8
Su tüketimi (ml/100 g vücut ağırlığı)	10-12	Rezidüel hacim (ml)*	2,9 ± 1,0
Vücut yüzey alanı (cm <sup>2</sup> )	10,5	O <sub>2</sub> tüketimi (ml/m <sup>2</sup> / g vücut ağırlığı)†	0,84
		Akciğer ağırlığı (g/250 g rat)	1,5
		Akciğer hacmi (ml/250 g rat)	2,1
		† 250 g ağırlığındaki rat için hesaplanmıştır. * 60-84 günlük anestezi altındaki rat için değerler	

Dolaşım sistemi parametreleri		Hematolojik parametreler*	
Kalp atım sayısı (atım/dakika)	250-240	Hematokrit (PCV) (%)	35 - 57
pO <sub>2</sub> (mm Hg)	93,2	Alyuvar sayısı (RBC) (× 10 <sup>6</sup> /µl)	5 - 10
pCO <sub>2</sub> (mm Hg)	39,9	Akyuvar sayısı (WBC) (× 10 <sup>3</sup> /µl)	3 - 17
Arteriyal kan pH	7,41	Hemoglobin (Hb) (g/dl)	11 - 19
Arteriyal sistolik kan basıncı (mm Hg)	88-84 (116)	Ort. Alyuvar Hacmi (MCV) (fl)	46 - 65
Arteriyal diyastolik kan basıncı (mm Hg)	58 - 145 (90)	Ort. Alyuvar Hb Yoğ. (MCHC) (g/dl)	31 - 40
Kalp debisi (ml/dakika)	10 - 80	Ort. Alyuvar Hb (MCH) (pg)	18 - 23
Kan hacmi (ml/kg)	57,5 - 69,9	Retikülosit (%)	0 - 25**
Toplam vücut sıvısı (ml)	167	Kan pulcuğu (× 10 <sup>3</sup> /µl)	200 - 1500
Hücre içi sıvı miktarı (ml)	92,8	Nötrofil (%)	13 - 26
Hücre dışı sıvı miktarı (ml)	74,2	Lenfosit (%)	65 - 83
Plazma hacmi (ml)	7,8	Monosit (%)	0 - 4
		Eozinofil (%)	0 - 4
		Bazofil (%)	0 - 1
Sindirim sistemi parametreleri		Tromboplastin zamanı (sn)	19,3
Mide-bağırsak kanal geçiş zamanı (saat)	12-24	Protrombin zamanı (sn)	28,8
Karaciğer ağırlığı (g/250 g rat)	10,0	Trombin zamanı (sn)	32,6
Karaciğer hacmi (ml/250 g rat)	19,6		
Safra akışı (ml/gün/250 g rat)	22,5		

\* Değerler soy, yaş ve cinsiyete göre geniş bir dağılım gösterebilmektedir. \*\* Değerler yaşla değişmektedir. Sütten yeni kesilen sıçanlarda gözlenen yüksek retikülosit değerleri normaldir.

Sıçanların barındırılmasını inceleyecek olursak;

1. Sıçanların hava akımına maruz kalmamasına ve kafeslerindeki amonyak seviyesinin yükselmemesine dikkat edilmelidir.
2. Ses düzeyi, 85 dB'den (desibel) az, gürültüden uzak olmalıdır. Ani gürültü, bazı soylarda sinir krizleri oluşturabilir.

3. Temiz hava girişi ve kirli hava çıkışının bulunduğu bir havalandırma bulunmalıdır.
4. İdeal oda sıcaklığı  $21\pm 2$  °C olmalıdır.
5. Nem oranı %45-65 olmalıdır.
6. Işık 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olacak şekilde ayarlanmalıdır. Albino ratlarda 16 saatten fazla parlak işığa maruz kalma katarakt ve körlüğe neden olabilir.
7. Floresan işık, loş işık tercih edilmelidir.
8. Kafeslerin bulunduğu alanlarda yangın alarmı bulunmalıdır.
9. Pleksiglas kafeslerde barındırılmalıdır.
10. Hayvan türü ve büyüklüğüne göre uygun ebatlarda kafesler hazırlanmalıdır.
11. Uygun yem seçimi yapılmalıdır.
12. Hijyenik ve sürekli su sağlanmalıdır.
13. Uygun altlık (talaş) seçimi yapılmalıdır.

#### **2.6.1.1. Spraque-Dawley Kolonisi:**

Araştırmalarda çok sık kullanılan Spraque-Dawley kolonisi, Wisconsin Üniversitesi'nden Robert Dawley tarafından büyük olasılıkla Wistar Enstitüsünden sağlanan sıçanların ıslahı ile üreilmeye başlanmıştır. Bu koloni adını R. Dawley' in kendi soyadını eşinin kızlık soyadı ile birleştirmesinden almıştır (271).

### 2.6.1.2. Sıçanlarda Oral Kavite

Oral kavite; dişler, dil, lingual frenilum, sert damak, yumuşak damaktan oluşmaktadır. Sıçanlar hayat boyu bir seri dişe sahip olurlar, süt dişleri bulunmaz (monofiyodont).

Sıçanlarda 16 adet diş bulunmaktadır. 2 üst çenede, 2 alt çenede olmak üzere 4 adet kesici diş ve 6 üst çenede, 6 alt çenede olmak üzere 12 adet büyük azı dişi bulunmaktadır.

Kesici dişler doğumdan 8-10 gün sonra sürmeye başlar.

Üst kesici dişler altlara oranla daha sarımsı ve boyut olarak daha kısadır. Üst kesici dişler yaklaşık 7mm uzunluğunda ve 1.2mm genişliğindedir.

Kesici dişler kemirmeye uygun olarak gelişmiştir, kök uçları hayat boyu açık kalmaktadır ve kesici dişler hayat boyu gelişmeye devam etmektedir. Sıçanlar kemirme işlemi ile kesici dişlerini sürekli aşındırırken, açık apeksleri sayesinde dişler gelişmeye devam etmektedir. Dişlerin gelişme oranı oldukça hızlıdır. 1 haftada üst kesici dişler yaklaşık 2.2mm, alt kesici dişler yaklaşık 2.8mm uzamaktadır. Kök ucunda yeni oluşan diş tabakası 40-50 gün içerisinde uca gelmektedir. Bu hızlı büyüme ve aşınma, kesici dişleri kaviteli çürüklerden korumaktadır. Kesici dişlerin gelişme hızı farklı koşullarda değişmektedir. Eğer sıçan, sürekli sert nesnelere kemirerek dişlerin hızla aşınmasına neden olursa, dişler de bu durumu kompanse ederek hızlıca (günde yaklaşık 1mm) gelişir.

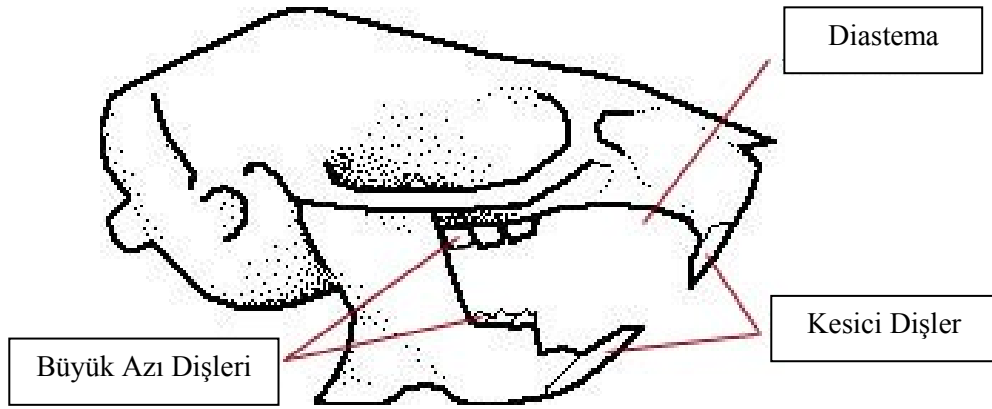
Üst kesici dişler ve alt kesici dişler kemirmeye müsaade edecek şekilde bir araya gelemez ve malokluzyon oluşursa, bu dişlerde aşırı büyüme söz konusu olmaktadır.

Kesici dişlerle kemirme işlemi sırasında büyük azı dişleri birbirine değmez.

Kesici diş minesini çok serttir. Moh' un sertlik skalasına göre 5.5 sertliğindedir. Demir, platinium ve bakırdan bile serttir. İnsan diş minesini sertliği 5' dir.

Büyük azı dişleri, yutma öncesi öğütmede görevlidir. İnsan büyük azı dişleriyle yapı olarak çok benzerlik göstermektedir. 1. azı dişi doğumdan 19 gün sonra, 2. azı dişi 21 gün sonra, 3. azı dişi 35-40 gün sonra sürmektedir. Büyük azı dişleri fonksiyonda iken kesici dişler birbirine değmez.

Sıçanlarda köpek dişleri ve küçük azı dişleri bulunmamaktadır. Kesici dişlerle büyük azı dişleri arasında büyük bir diastema bulunmaktadır (Şekil 2) (271).



**Şekil 2. Sıçan kafatasının yandan görünümü**

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası**

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelge (11/2007) uyarınca, deney hayvanı kullanıcıları, sertifika almadan bu hayvanlar üzerinde deney, eğitim, test gayesiyle işlem yapamaz ve çalışma mekânlarında bu hayvanları barındıramazlar (271).

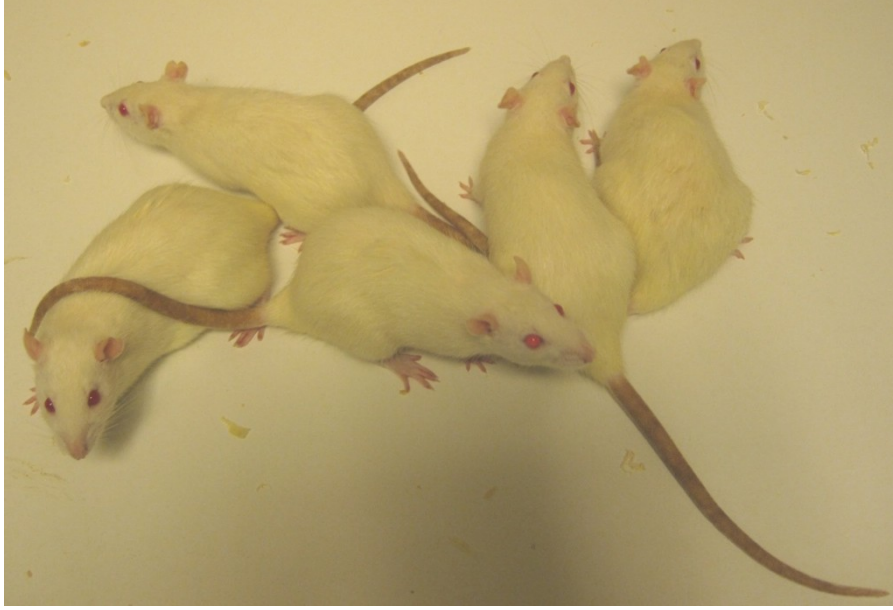
Deney hayvanları üzerinde bilimsel araştırma yapabilmek için, 11-21 Ekim 2010 tarihleri arasında, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (YUDETAM), Deney Hayvanları Etik Kurulu' nun düzenlediği 80 saatlik teorik ve pratik derslerden oluşan Laboratuvar Hayvanları Kursu tamamlanarak, Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası alınmıştır (**Ek-1**).

#### **3.2. Deney Hayvanları Etik Kurul Raporu Temini**

Çalışmamız için gerekli Etik Kurul Raporu, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi' nden alınmıştır (**Ek-2**).

#### **3.3. Hayvan Seçimi**

Araştırmamız; hayvanlar alemi, omurgalı şubesi, memeliler sınıfı, rodentler takımı, muridae familyası, rattus cinsi, rattus norvegicus türünden olan Spraque Dawley sıçanları üzerinde yapılmıştır (**Resim 1**).

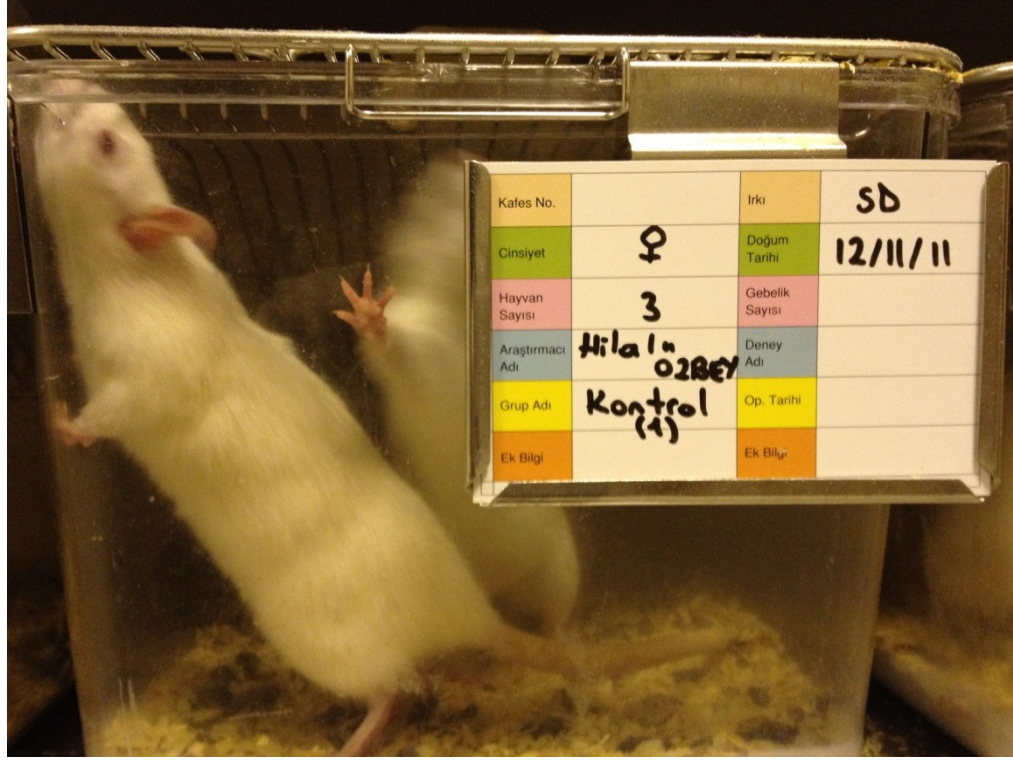


**Resim 1. Spraque Dawley sıçanları**

### **3.3.1. Araştırmada Kullanılan Sıçanlar**

Üretimi, bakımı ve barınması, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi' nde yapılan 49 adet sıçan doğum tarihinden 1 ay sonra tükürük örnekleri alınarak *S.mutans* ve *L. reuteri* varlığı yönünden incelenmiştir. Tükürük örnekleri alınırken, steril eküvyonlar kullanılmıştır. Eküvyon, sıçanın dil, dil altı ve yanak mukozasında yaklaşık olarak 15 saniye gezdirilmiştir. Tükürük emdirilen eküvyonlar 15 ml' lik tüplere sığabilecek şekilde kesilerek sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan 3ml' lik taşıma sıvısına konulmuştur. Tükürüklerinde *S. mutans* ve *L. reuteri* bulunmayan 24 adet, 1 aylık, dişi Spraque Dawley sıçan çalışmamıza dahil edilmiştir (**Resim 2**).





**Resim 2. Kafes içerisinde sıçanlar**

Sıçanlar, kafes yüksekliği 18cm, kafes taban alanı 350cm<sup>2</sup> olan pleksiglas kafeslerde barındırılmışlardır. Kafeslerin bulunduğu ortam, temiz hava girişi ve kirli hava çıkışı sağlayan bir havalandırmanın bulunduğu, ısının 21<sup>o</sup>±2, nem oranının %45-65, ses düzeyinin 85dB' den az olduğu bir odadır. Ortam floresan ışıklarıyla 12 saat aydınlatılmaktadır. Sıçanların beslenmelerinde herhangi bir değişiklik yapılmamıştır. Standart olarak verilen yem ve suları kullanmışlardır (**Resim 3**).



**Resim 3. Beslenme koşulları**

4 kafeste 4' er sıçan, 1 kafeste 3 sıçan, 1 kafeste 5 sıçan bulunmaktadır. Doğum tarihleri aynı sıçanlar, aynı kafeslere konulmuştur.

#### **3.4. Çalışma Grupları**

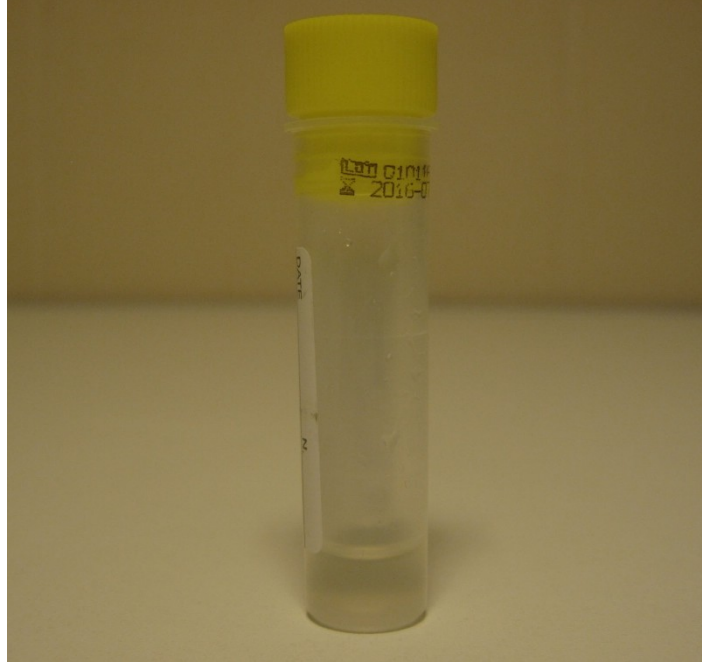
24 sıçan 3 gruba ayrılmıştır. Gruplar; Kontrol grubu, Probiyotik I grubu ve Probiyotik II grubu olarak adlandırılmıştır. Her gruptaki 8 sıçan ikişer kafeste barınmaktadır. Sıçanların kulaklarına küçük kesiler atılarak, her bir sıçana kod numarası verilmiştir (**Tablo 5**).

**Tablo 5. Sıçanlara verilen kod numaraları**

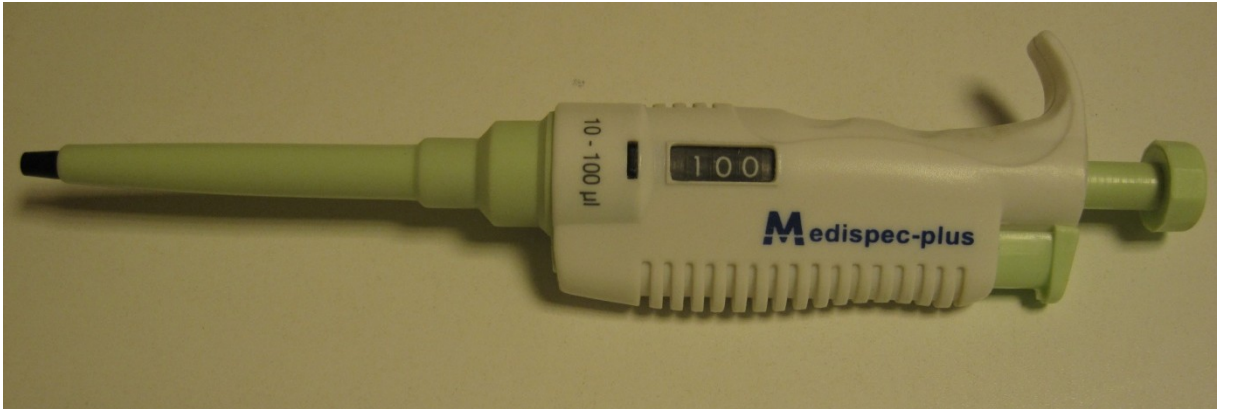
	1.Sıçan	2.Sıçan	3.Sıçan	4.Sıçan	5.Sıçan	6.Sıçan	7.Sıçan	8.Sıçan
<b>Kontrol Grubu</b>	K(1)1	K(1)2	K(1)3	K(2)1	K(2)2	K(2)3	K(2)4	K(2)5
<b>Probiyotik I Grubu</b>	PI(1)1	PI(1)2	PI(1)3	PI(1)4	PI(2)1	PI(2)2	PI(2)3	PI(2)4
<b>Probiyotik II Grubu</b>	PII(1)1	PII(1)2	PII(1)3	PII(1)4	PII(2)1	PII(2)2	PII(2)3	PII(2)4

\*Kod numaralarındaki ilk harf ve varsa roma rakamı grup adını; parantez içindeki sayı kafes numarasını; son sayı ise sıçanın o kafes içindeki numarasını temsil etmektedir.

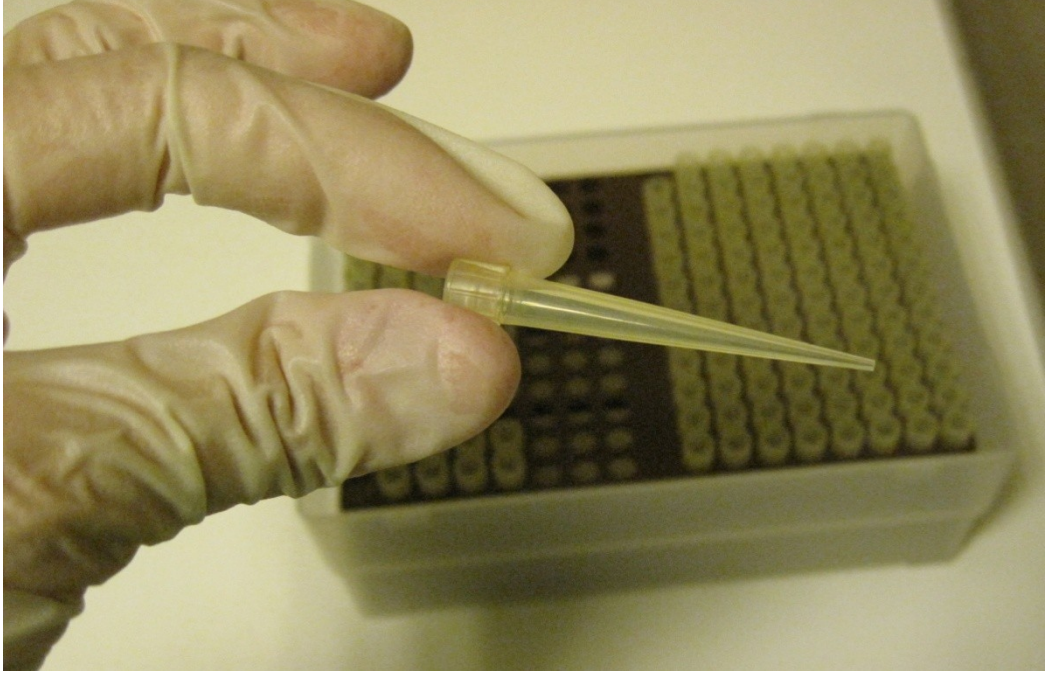
İlk grup kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Doğum tarihinden 1 ay sonra incelendiğinde, tükürüğünde *S. mutans* ve *L. reuteri* bulunmayan 8 sıçana, 2 aylık olduklarında *S. mutans* ATCC 25175 standart suş inokulasyonu yapılmıştır. Bakteri kültürü, 24 saatlik *S. mutans* kültüründen Triptik soy buyyonda 0.5 Mac Farland bulanıklık tüpüne göre, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı'nda her gün taze olarak hazırlanmıştır. 14 gün boyunca, sabah, öğle ve akşam olmak üzere yaklaşık 4' er saat aralıklarla, günde üç kere, her seferinde 100µl, 10<sup>8</sup> cfu/ml *S. mutans* inokule edilmiştir. Sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde (**Resim 4**) bulunan *S. mutans* buyyon kültürü, sıçanların ağzına, otomatik pipetin (**Resim 5**) ucuna takılan steril mikro pipet uçlarıyla damlatılmıştır. (**Resim 6**) Her damlatmada yeni bir steril pipet ucu kullanılıp atılmıştır (**Resim 7**).



**Resim 4. Sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan *S. mutans* buyyon kültürü**



**Resim 5. Otomatik mikropipet**



**Resim 6. Mikropipet ucu**



**Resim 7. Sıçan oral kavitesine mikropipet ile *S. mutans* inokulasyonu işlemi**

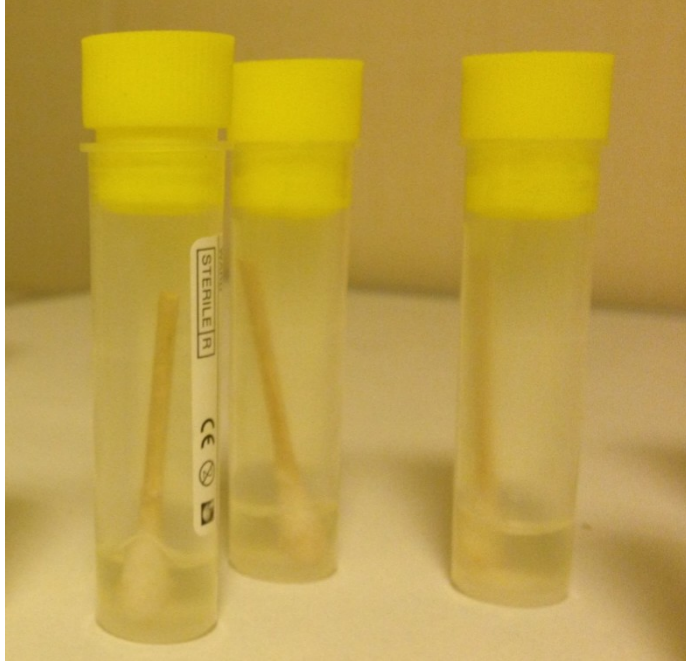
İnokulasyon sonrasında 14 gün beklenip tükürük örnekleri alınmıştır. Tükürük örnekleri alınırken, steril eküvyonlar kullanılmıştır (**Resim 8**). Eküvyon, sıçanın dil, dil altı ve yanak mukozasında yaklaşık olarak 15 saniye gezdirilmiştir. (**Resim 9**) Tükürük emdirilen eküvyonlar 15 ml' lik tüplere sığabilecek şekilde kesilerek sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan 3ml' lik taşıma sıvısına konulmuştur (**Resim 10**).



**Resim 8. Steril eküvyonlar**



**Resim 9. Sıçan oral kavitesinden tükürük örneği alınması**



**Resim 10. Tükürük örneği alındıktan sonra sarı tüp içerisindeki taşıma sıvısına yerleştirilmiş eküvyonların görünümü**

Alınan örnekler aynı gün içinde, mikrobiyolojik analiz için, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na götürülmüştür. Tükürükler, kantitatif olarak *S. mutans* varlığı açısından incelenmiştir.

Daha sonra, yaklaşık 1 ay arayla iki kere daha tükürük örneği alınarak kantitatif olarak *S. mutans* varlığı açısından kontrol edilmiştir.

İkinci grup Probiyotik I grubu olarak belirlenmiştir. Doğum tarihinden 1 ay sonra incelendiğinde, tükürüğünde *S. mutans* ve *L. reuteri* bulunmayan 8 sıçana, 2 aylık olduklarında *S. mutans* inokulasyonu yapılmıştır. *S. mutans* bakterisi, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' nda her gün taze olarak hazırlanmıştır. 14 gün boyunca, sabah, öğle ve akşam olmak üzere yaklaşık 4' er saat aralıklarla, günde 3 kere, her seferinde 100µl,  $10^8$  cfu/ml *S. mutans* inokule edilmiştir. Sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan *S. mutans* buyyon kültürü, sıçanların ağızına, otomotik pipetin ucuna takılan steril mikro pipet uçlarıyla damlatılmıştır. Her damlatmada yeni bir steril pipet ucu kullanılıp atılmıştır.

İnokulasyon sonrasında 14 gün beklenip tükürük örnekleri alınmıştır. Tükürük örnekleri alınırken, steril eküvyonlar kullanılmıştır. Eküvyonlar, tükürük almadan önce, 15 ml' lik tüplere sığabilecek şekilde kesilmiştir. Eküvyon, sıçanın, dil, dil altı ve yanak mukozasında yaklaşık olarak 15 saniye gezdirilmiştir. Tükürük emdirilen eküvyon, sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan 3ml' lik taşıma sıvısına konulmuştur. Alınan örnekler aynı gün içinde, mikrobiyolojik analiz için, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na götürülmüştür. Tükürükler, kantitatif olarak *S. mutans* varlığı açısından incelenmiştir.

Yaklaşık 1 ay sonra, sıçanların ağızına, otomotik pipetin ucuna takılan steril mikro pipet uçlarıyla, 25 gün boyunca, günde 1 kere, 5 damla (10µl) BioGaia Damla® (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belçika) damlatılmıştır (**Resim 11**). BioGaia Damla®  $10^8$  aktif *L. reuteri* ATCC 55730 içermektedir. Her damlatmada yeni bir steril pipet ucu kullanılıp atılmıştır.





**Resim 11. BioGaia Damla® (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belçika)**

İnokulasyon sonrasında 14 gün beklenip tükürük örnekleri alınmıştır. Tükürük örnekleri alınırken, steril eküvyonlar kullanılmıştır. Eküvyonlar, tükürük almadan önce, 15 ml' lik tüplere sığabilecek şekilde kesilmiştir. Eküvyon, sıçanın, dil, dil altı ve yanak mukozasında yaklaşık olarak 15 saniye gezdirilmiştir. Tükürük emdirilen eküvyon, sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan 3ml' lik taşıma sıvısına konulmuştur.

Alınan örnekler aynı gün içinde, mikrobiyolojik analiz için, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na götürülmüştür. Tükürükler, kantitatif olarak *S. mutans* ve *L. reuteri* varlığı açısından incelenmiştir.

Yaklaşık 1 ay sonra, 8 sıçandan, tekrar tükürük örneği alınarak kantitatif olarak *S. mutans* ve *L. reuteri* varlığı analiz edilmiştir.

Üçüncü grup Probiyotik II grubu olarak belirlenmiştir. Doğum tarihinden 1 ay sonra incelendiğinde, tükürüğünde *S. mutans* ve *L. reuteri* bulunmayan 8 sıçana, 2 aylık olduklarında *L. reuteri* inokulasyonu yapılmıştır. Sıçanların ağızına, otomotik pipetin ucuna takılan steril mikro pipet uçlarıyla, 25 gün boyunca, günde 1 kere, 5

damla (10µl) BioGaia Damla® (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belçika) damlatılmıştır. BioGaia Damla® 10<sup>8</sup> aktif *L. reuteri* ATCC 55730 içermektedir. Her damlatmada yeni bir steril pipet ucu kullanılıp atılmıştır.

İnokulasyon sonrasında 14 gün beklenip tükürük örnekleri alınmıştır. Tükürük örnekleri alınırken, steril eküvyonlar kullanılmıştır. Eküvyonlar, tükürük almadan önce, 15 ml' lik tüplere sığabilecek şekilde kesilmiştir. Eküvyon, sıçanın, dil, dil altı ve yanak mukozasında yaklaşık olarak 15 saniye gezdirilmiştir. Tükürük emdirilen eküvyon, sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan 3ml' lik taşıma sıvısına konulmuştur.

Alınan örnekler aynı gün içinde, mikrobiyolojik analiz için, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na götürülmüştür. Tükürükler, kantitatif olarak *L. reuteri* varlığı açısından incelenmiştir.

Yaklaşık 1 ay sonra, *S. mutans* inokulasyonu yapılmıştır. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' nda her gün taze olarak hazırlanan *S. mutans*, sıçanların ağzına, otomatik pipetin ucuna takılan steril mikro pipet uçlarıyla, 14 gün boyunca, sabah, öğle ve akşam olmak üzere yaklaşık 4' er saat aralıklarla, günde 3 kere, her seferinde 100µl, 10<sup>8</sup> cfu/ml miktarında, inokule edilmiştir. Sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan *S. mutans* içeren sıvı, sıçanların ağzına, otomatik pipetin ucuna takılan steril mikro pipet uçlarıyla damlatılmıştır. Her damlatmada yeni bir steril pipet ucu kullanılıp atılmıştır.

İnokulasyon sonrasında 14 gün beklenip tükürük örnekleri alınmıştır. Tükürük örnekleri alınırken, steril eküvyonlar kullanılmıştır. Eküvyonlar, tükürük almadan önce, 15 ml' lik tüplere sığabilecek şekilde kesilmiştir. Eküvyon, sıçanın, dil, dil altı ve yanak mukozasında yaklaşık olarak 15 saniye gezdirilmiştir. Tükürük emdirilen eküvyon, sarı kapaklı 15 ml'lik dibi düz, steril plastik tüplerde bulunan 3ml' lik taşıma sıvısına konulmuştur.

Alınan örnekler aynı gün içinde, mikrobiyolojik analiz için, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na götürülmüştür. Tükürükler, kantitatif olarak *S. mutans* ve *L. reuteri* varlığı açısından incelenmiştir.

Yaklaşık 1 ay sonra, 8 sıçandan, tekrar tükürük örneği alınarak kantitatif olarak *S. mutans* ve *L. reuteri* varlığı analiz edilmiştir.

Çalışma gruplarına yapılan uygulamalar **Tablo 6'** da özetlenmiştir.

**Tablo 6. Çalışma gruplarına yapılan uygulamalar**

	8 sıçan ↓ <b>Kontrol Grubu</b> ↓	8 sıçan ↓ <b>Probiyotik I Grubu</b> ↓	8 sıçan ↓ <b>Probiyotik II Grubu</b> ↓
Doğumdan sonra 1. ay	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi
Doğumdan sonra 2. ay	<i>S. mutans</i> ile infekte etme işlemi 14 gün işlem-14 gün bekleme	<i>S. mutans</i> ile infekte etme işlemi 14 gün işlem-14 gün bekleme	<i>L. reuteri</i> damla uygulama işlemi 25 gün işlem-14 gün bekleme
Doğumdan sonra 3. ay	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi <i>L. reuteri</i> damla uygulama işlemi 25 gün işlem-14 gün bekleme	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi <i>S. mutans</i> ile infekte etme işlemi 14 gün işlem-14 gün bekleme
Doğumdan sonra 4. ay	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi
Doğumdan sonra 5. ay	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi	Tükürük Mikrobiyolojik Analizi

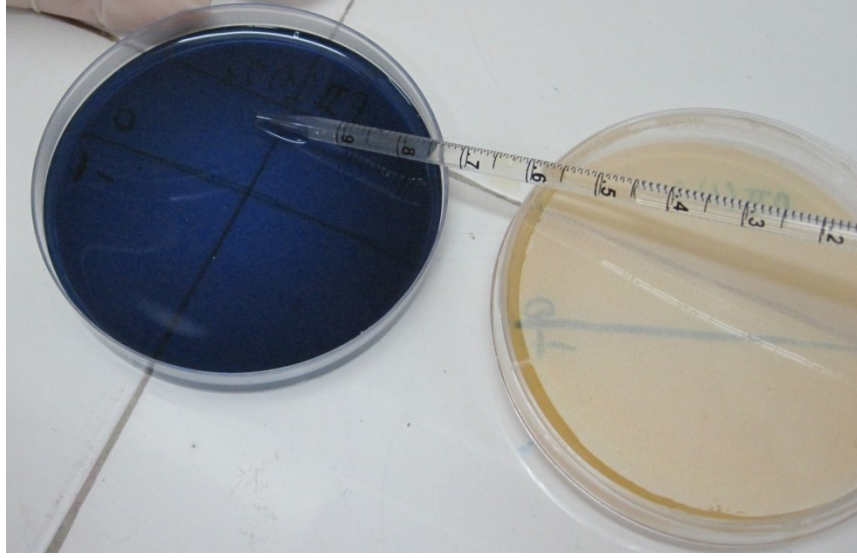
### 3.5. Mikrobiyolojik Analiz

#### 3.5.1. *S. mutans* varlığının ve sayısının değerlendirilmesi

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na ulaştırılan eküvyonlar 1 ml steril serum fizyolojik içeren tüplere aktarılarak 20 saniye vorteksle karıştırılmıştır (**Resim 12**). Örnekler doğrudan ve 10 katlı sulandırılmaları yapılarak MSB agar (Mitis Salivarius Basitrasin agar (Acumedia Man Inc., Baltimore, Maryland, ABD), Chapman Tellürit solüsyonu (Difco Lab Inc., Detroit, Michigan, ABD), 150 g sakkaroz ve 200U/ml basitrasin (Sigma Diagnostics, St Louis, Missouri, ABD) (272) besiyerine ekilerek (**Resim 13**) %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda (**Resim 14**); 37°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir (**Resim 15**). Tipik koloniler sayılarak cfu/ml olarak hesaplanmıştır. (Saptama limiti =10 cfu/ml) (**Resim 16**)



**Resim 12. Vorteks cihazı**



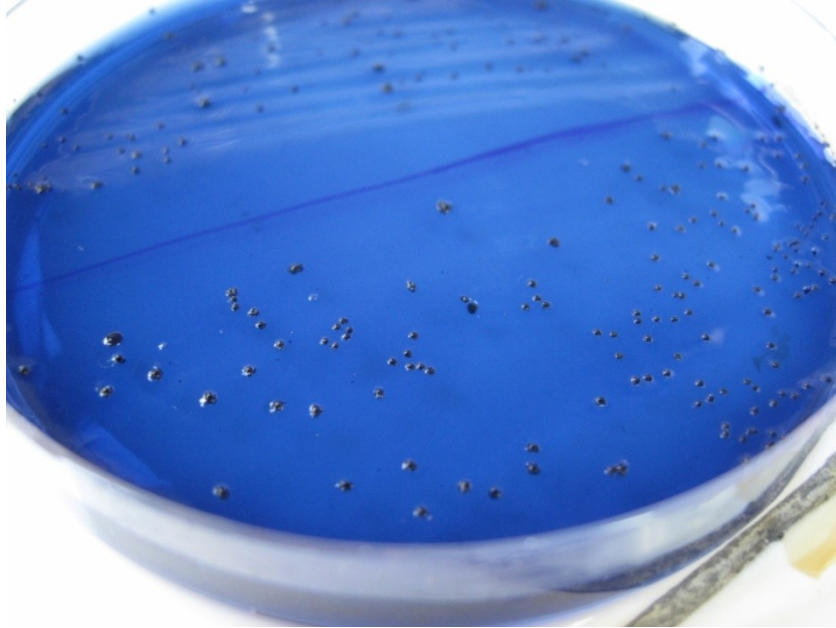
**Resim 13. Örneklerin MSB agar besiyerine ekilmesi**



**Resim 14. Besiyerlerin CO<sub>2</sub>'li ortama yerleştirilmeleri**



**Resim 15. Etüv**



**Resim 16. İnkübasyon sonrası *S. mutans* kolonileri**

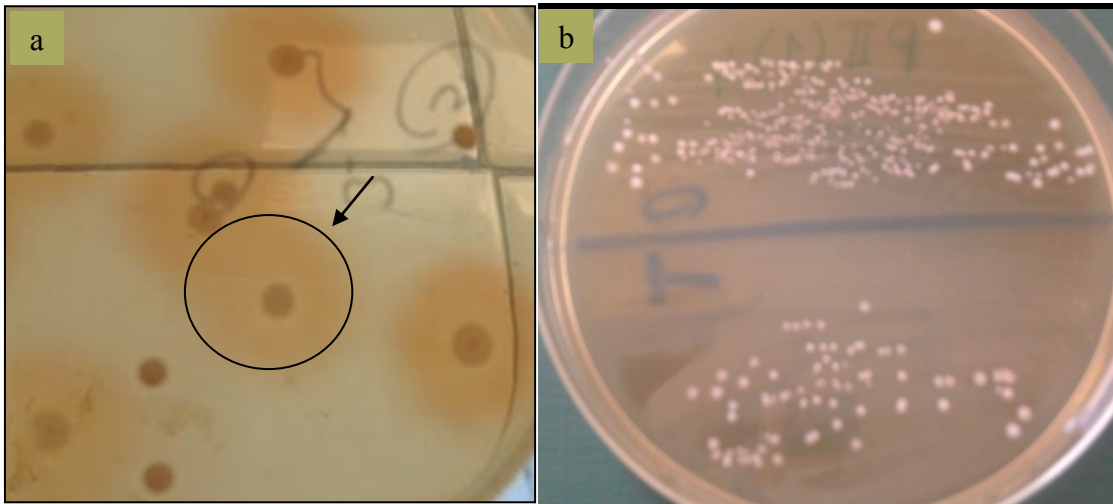
### 3.5.2. *L. reuteri* varlığının ve sayısının değerlendirilmesi

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı' na ulaştırılan eküvyonlar 1 ml steril serum fizyolojik içeren tüplere aktarılarak 20sn vorteksle karıştırılmıştır. Örnekler doğrudan ve 10 katlı sulandırılmaları yapılarak %2 sodyum asetat ve 50mg/L vankomisin eklenerek modifiye De Man Rogosa Sharpe agara (MRS, Acumedia, Ljusne, İsveç) ekilerek %80N<sub>2</sub>, %10 H<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub>'li anaerob sistemde (Anaerogen, Oxoid Ltd, Basingstone, Hampshire, İngiltere)

37°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir (**Resim 17**). Gliserol varlığında reuterin üretimine dayalı, BioGaia proprietary metodu kullanılarak, *L. reuteri* varlığı saptanmıştır. Bunun için, kullanıma hazır hale gelene kadar 50°C' de eritilip su banyosunda muhafaza edilen 5 ml yumuşak agar (%1 agar ve %2 gliserin), MRS agar petrisindeki koloniler üzerine tüm yüzeyi kaplayacak şekilde dökülmüş ve 37°C'de aerob ortamda inkübe edilmiştir. 1 saat sonra, petri kutusuna 5ml 2,4-dinitrofenilhidrazin solüsyonu (% 0.1 DNPH,% 1.7 HCl) eklenerek 3dk boyunca bekletilip, sıvı uzaklaştırılmış ve 5mol/L potasyum hidroksit eklenerek 30sn beklenmiştir. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra etrafında kırmızı-kahverengi bir alan görülen koloniler pozitif (**Resim 18a**), hiçbir renk değişikliği gözlenmeyenler ise negatif (**Resim 18b**)olarak kabul edilmiştir (Saptama limiti = 10 cfu/ml).



Resim 17. Anaerob ortam sağlayan AnaeroGen



Resim 18 a, b. İnkübasyon sonrası *L. reuteri* kolonileri



#### 4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (NCSS LLC, Utah, ABD) paket programı ile yapılmıştır. *S. mutans* ve *L. reuteri* değerlerinin normal dağılım göstermediği göz önüne alınarak logaritmik transformasyon uygulanmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, median, interquartil range ve geometrik ortalama) yanı sıra grupların tekrarlayan ölçümlerinde Friedman testi, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Dunn's çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında Mann-Whitney-U testi, ikili grupların tekrarlayan ölçümlerinde Wilcoxon testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

## 5. BULGULAR

Araştırmamızda *S. mutans* inokulasyonu ve tükürük örneklerinden elde edilen *S. mutans* değerleri **Tablo 7'** de verilmiştir. *S. mutans* açısından sayıların grup içi değerlendirmeleri incelendiğinde;

Kontrol grubunun 3. , 4. ve 5. ay *S. mutans* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ( $p=0,008$ ). 3. ay ve 4. ay değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p=0,574$ ). 5.ay *S. mutans* değerleri 3. ay ve 4. ay değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0,017$   $p=0,012$ ). Hiçbir müdahale olmadan *S. mutans* değerlerinin 5. ayda düşüşü dikkat çekmektedir.

Probiyotik I grubunun 3. , 4. ve 5. ay *S. mutans* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ( $p=0,044$ ). 3. ay ve 4. ay değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p=0,398$ ). 5. ay değeri *S. mutans* değerleri 3. ay ve 4. ay değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0,042$   $p=0,046$ ). Bu noktada, 4. ay *L. reuteri* ile infekte edilme işleminin etkisi olduğu düşünülebilir. Ancak bu durum, kontrol grubunda da *S. mutans* seviyesinin 5. ayda azalmasına paralel bir görüntü sergilemektedir.

Probiyotik II grubunun 5. ay *S. mutans* değerleri 4. ay değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0,011$ ). Bu noktada, gerçekte ilk kolonizasyonun *L.reuteri* ile olduğu sıçanlarda *S. mutans* kolonizasyonunun zayıf olduğu gözlenmektedir.

Gruplar arası değerlendirmeler *S. mutans* açısından incelendiğinde;

Probiyotik I grubunun 3. ay *S. mutans* değerleri, Kontrol grubu 3. ay *S. mutans* değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0,001$ ) (**Tablo 8, Grafik 1**).

Kontrol grubu, Probiyotik I grubu ve Probiyotik II grubunun 4. ay *S. mutans* değerleri

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,347).

Kontrol grubu, Probiyotik I grubu ve Probiyotik II grubunun 5. ay *S. mutans* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,994).

**Tablo 7. *S. mutans* inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerinde tüm aylardaki *S. mutans* sayıları**

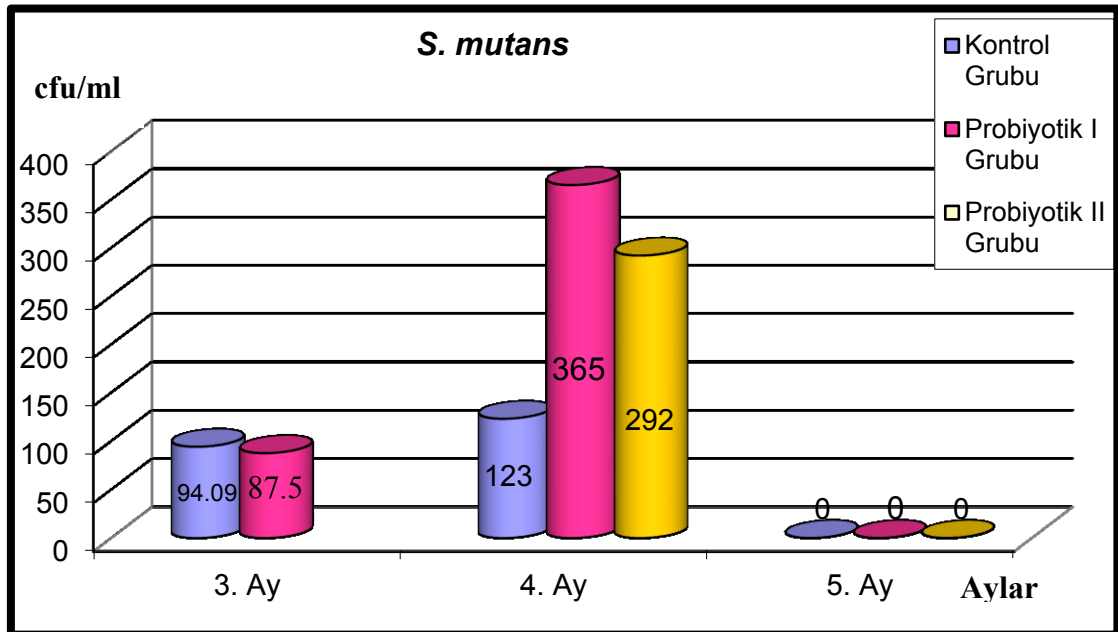
		3. Ay cfu/ml	4. Ay cfu/ml	5. Ay cfu/ml	Fr	p
Kontrol Grubu	Ort±SS	155±128,73	177,5±131,99	25±70,71	9,75	* 0,008
	Median (IQR)	180 (32,5-200)	160 (55-285)	0 (0-0)		
	Geometric Ort	94,09	123	0		
Probiyotik I Grubu	Ort±SS	297,5±689,22	427,5±418,56	125±353,55	4,96	* 0,044
	Median (IQR)	50 (22,5-122,5)	310 (50-750)	0 (0-0)		
	Geometric Ort	87,5	365	0		
Probiyotik II Grubu	Ort±SS		390±351,16	25±70,71	Z:-2,53	* 0,011
	Median (IQR)		300 (200-430)	0 (0-0)		
	Geometric Ort		292	0		
		<b>MW:14,98</b>	<b>KW 2,12</b>	<b>KW 0,01</b>		
<b>p</b>		<b>0,001</b>	0,347	0,994		

\*p<0,05

**Tablo 8. *S. mutans* inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* sayıları (geometrik ortalama)**

Sıçan Yaşı	Gruplar			p
	Kontrol Grubu cfu/ml	Probiyotik I Grubu cfu/ml	Probiyotik II Grubu cfu/ml	
3 Ay	94,09 cfu/ml	87,5 cfu/ml	-	MW:14,98 *
4 Ay	123 cfu/ml	365 cfu/ml	292 cfu/ml	KW:2,12 0,347
5 Ay	0 cfu/ml	0 cfu/ml	0 cfu/ml	KW:0,01 0,994

\*p<0,05



**Grafik 1. Aylara göre gruplardaki *S. mutans* sayıları değişiminin grafiksel sunumu (geometrik ortalama)**

Araştırmada *L. reuteri* inokulasyonu ve bekleme donemi sonrası alınan tukuruk orneklerinde tum aylardaki *L. reuteri* değerleri **Tablo 9, 10 ve Grafik 2'** de verilmiştir.

Gruplar aylara gore *L. reuteri* açısından incelendiğinde;

Probiyotik I grubunun 4. ay ve 5. ay *L. reuteri* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gozlenmemiştir ( $p=0,889$ ).

Probiyotik II grubunun 3. ay, 4. ay ve 5. ay *L. reuteri* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gozlenmemiştir ( $p=0,206$ ).

*L. reuteri* değerleri gruplar arasında incelendiğinde;

Probiyotik I grubu ve Probiyotik II grubunun *L. reuteri* 4. ay değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gozlenmemiştir ( $p=0,525$ ).

Probiyotik I grubu ve Probiyotik II grubunun *L. reuteri* 5. ay değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gozlenmemiştir ( $p=0,400$ ).

**Tablo 9. *L. reuteri* inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerinde tüm aylardaki *L. reuteri* değerleri**

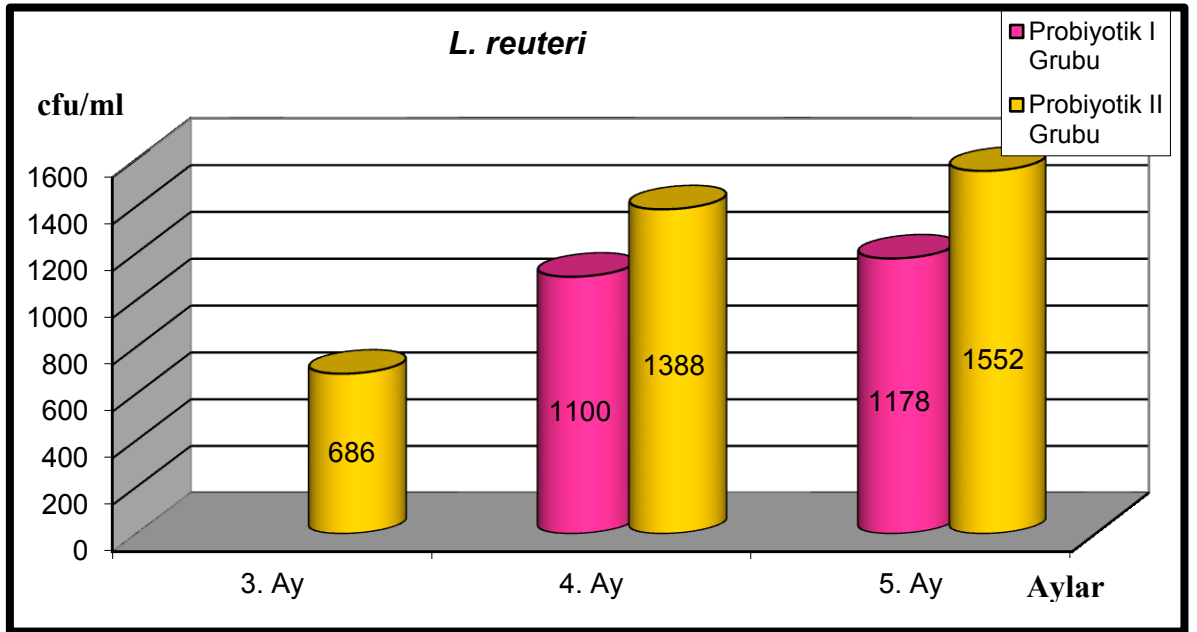
		3. Ay cfu/ml	4. Ay cfu/ml	5. Ay cfu/ml		p
Probiyotik I Grubu	Ort±SS		1475±1264,63	1750±1581,14	MW:0,14	0,889
	Median (IQR)		1000 (550-2400)	1400 (600-2700)		
	Geometric Ort		1100	1178		
Probiyotik II Grubu	Ort±SS	1327,5±1773,59	2500±3312,32	3307,5±3171,46	Fr:3,16	0,206
	Median (IQR)	900 (365-1187,5)	1300 (700-2800)	2600 (500-5600)		
	Geometric Ort	686	1388	1552		
MW			0,4	0,71		
p			0,525	0,400		

NS

**Tablo 10. *L. reuteri* inokulasyonu ve bekleme dönemi sonrası alınan tükürük örneklerindeki *L. reuteri* sayısı (geometrik ortalama)**

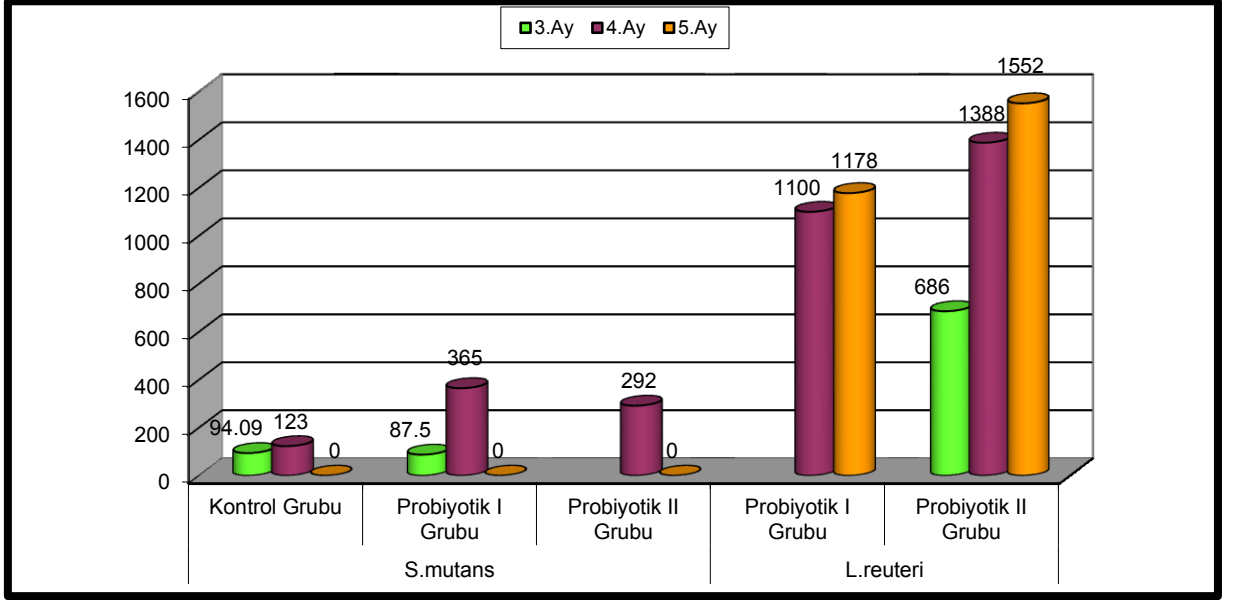
Sıçan Yaşı	Gruplar			
	Probiyotik I Grubu cfu/ml	Probiyotik II Grubu cfu/ml		
3 Ay	-	686 cfu/ml		
4 Ay	1100 cfu/ml	1388 cfu/ml	MW: 0,4	p:0,525
5 Ay	1178 cfu/ml	1552 cfu/ml	MW: 0,71	p:0,400

NS



**Grafik 2. Aylara göre gruplardaki *L. reuteri* sayıları değişiminin grafiksel sunumu (geometrik ortalama)**

*S. mutans* ve *L. reuteri* değerlerinin grup içi ve gruplar arası kıyaslaması grafiksel olarak **Grafik 3**' de sergilenmiştir.



**Grafik 3. Aylara göre gruplardaki *S. mutans* ve *L. reuteri* sayıları değişimi (geometrik ortalama)**

Üç gruptaki ilk *S. mutans* inokulasyonundan 1 ay sonraki *S. mutans* değerlerini karşılaştırdığımızda;

Probiyotik I grubu 3. ay, Probiyotik II grubu 4. ay ve Kontrol grubu 3. ay *S. mutans* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. (p=0,03)

Probiyotik I grubunun 3. ay *S. mutans* değerleri, Probiyotik II grubunun 4. ay *S. mutans* değerlerinden anlamlı derecede düşük bulunmuştur. (p=0,035) Kontrol grubunun 3. ay *S. mutans* değerleri ve Probiyotik I grubunun 3. ay *S. mutans* değerleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (p=0,125) Kontrol grubunun 3. ay *S.*



*mutans* değerleri ve Probiyotik II grubunun 4. ay *S. mutans* değerleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (p=0,657)

Üç gruptaki ilk *S. mutans* inokulasyonundan 2 ay sonraki *S. mutans* değerlerini karşılaştırdığımızda;

Probiyotik I grubunun 4. ay, Probiyotik II grubunun 5. ay ve Kontrol grubunun 4. ay *S. mutans* değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. (p=0,006)

Probiyotik I grubunun 4. ay *S. mutans* değerleri, Probiyotik II grubunun 5. ay *S. mutans* değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (p=0,012) Kontrol grubunun 4. ay *S. mutans* değerleri ve Probiyotik I grubunun 4. ay *S. mutans* değerleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (p=0,346) Kontrol grubunun 4. ay *S. mutans* değerleri Probiyotik II grubunun 5. ay *S. mutans* değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (p=0,015)

## 6. TARTIŞMA

Diş çürükleri, insanlarda en sık görülen oral enfeksiyonlardır. Diş çürüğü, çürük yapıcı bakteriler, karbonhidratlardan zengin beslenme ve konakçı ile ilgili faktörlerin belirli bir zaman boyunca etki etmesiyle gelişmektedir (273). Günümüzde, diş çürüklerine neden olan bakteriyel ortamın değiştirilmesi ile ilgili çalışmalar, araştırmacılar için ilgi çekici hale gelmektedir (114, 274). Diş çürüklerini oluştuktan sonra tedavi etmek yerine, koruyucu önlemlerin alınmasının önemi ortaya çıkmaktadır.

Geçmişten günümüze, diş çürüklerini ve periodontal hastalıkları tedavi etmek amacıyla, etken olan bakterilerin baskılanması veya yok edilmesi için çok çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (275). Antibiyotik, florid, klorheksidin, CPP-ACP, ksilitol ve diğer yapay tatlandırıcılar, nano materyal içeren ağız bakım ürünleri, çay ağacı özü, misvak, nane, yeşil çay, manuka balı gibi çeşitli materyaller çürük önleme çalışmalarında araştırılmıştır (276, 277).

Probiyotikler de, ağız florasında bulunan patojenik bakterilerle yer değiştirerek çürük önlemede ümit vadeden bir yöntemdir ve son yıllarda sıklıkla araştırılmaktadır.

Geçmişten günümüze kadar yapılan probiyotik araştırmalarının amaç ve sonuçlarını inceleyecek olursak;

Ishihara ve ark. (1985), insan bağırsağından laktik asit bakterilerini izole ederek, çürük etkeni olan *S. mutans*' lar üzerindeki etkisini in vitro olarak incelemiştir. *L. fermentum*, *L. salivarius*, *S. equinus*, *E. faecium* probiyotik bakterilerinin *S. mutans* üzerinde inhibisyon etkisi olduğu sonucuna ulaşmışlardır (144).

Silva ve ark. (1987), yapmış oldukları çalışmalarında, LGG' nin çürüğe neden olan streptokokları inhibe edici özellikleri olduğunu bildirmişlerdir (206).

Meurman ve ark. (1995), LGG suşunun çürük yapıcı bakteriler üzerindeki etkisini incelemiştir. Sonuç olarak, LGG' nin sükrözü fermente etmediğini ve bu sebeple çürüğe neden olmadığını ve pH 5' in altında *S.sobrinus* üzerinde inhibi edici olduğunu bildirmişlerdir (105).

Busscher ve ark. (1999), *L. casei*, *L. acidophilus* ve *B. Bifidum* bakterilerinin oral kavitedeki adezyonu ve kolonizasyonunu incelemiştir. In vitro olarak, bakterilerin mine çatlaklarına tutunabildiğini göstermiştir. In vivo olarak ise, bioyoğurt ile probiyotik bakteri yüklemesi yapılan, ağız içinde laktobasil bulunmayan deneklerde diş yüzeylerinde kolonizasyon sağlanamadığı bildirilmiştir (106).

Nase ve ark. (2001), LGG ATCC53103 bakterisi içeren sütlerin çocuklarda diş çürükleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak LGG' nin çürük önleyici etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu etkilerin sebepleri olarak, LGG' nin süzkroz ve laktozu fermente edememesi, plaktaki Ca miktarını artırması ve çürük yapıcı bakterilerle yarışması gösterilmiştir (107).

Ahola ve ark. (2002), genç yetişkin deneklerin, LGG ATCC 53103 ve *Lactobacillus rhamnosus* LC 705 içeren peynirlerin kısa dönem tüketimi sonrası tükürükteki mikrobiyal değişimlerini incelemiştir. LGG' nin pH 5' te *S. sobrinus* üzerinde inhibe edici etkisi olduğu ve LGG' nin süzkrozu fermente edemediği için çürüğe neden olmadığı bildirilmiştir (109).

Comelli ve ark. (2002), MS ile yer değiştirebilecek, karyojenik özelliği, asit ve plak oluşturma yeteneği az olan 23 süt kaynaklı, 5 oral kaynaklı bakteri suşunu araştırmışlardır. Bu bakterilerin hidroksiapatit dokuya ve biyofilm tabakasına adezyonlarını incelemiştir. Sonuç olarak, süt kaynaklı bakterilerin hidroksiapatit dokuya tutunabildiği, oral kaynaklı bakterilerin *S. sobrinus*' un adezyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (278).

Wei ve ark. (2002), tükürükle kaplı HA yapının üzerine LGG' nin tutunabildiğini ve bu sayede çürükleri engelleyebildiğini belirtmişlerdir. Probiyotik bakterilerin etki gösterebilmesi için, bu bakterilerin ağız içindeki yüzeylere tutunması ve biyofilm yapısına girmesi gerektiğini bildirmişlerdir (279).

Nikawa ve ark. (2004), *L. reuteri* içeren yoğurtların MS' lar üzerindeki etkisini incelemiştir. Sonuç olarak, bu yoğurtların MS üzerinde inhibitör etkisi olduğunu, diş yapılarının gelişimi esnasında Ca ve P alımından etkilendiğini, süt içerisindeki Ca laktatın çürük önlemede etkisi olduğunu belirtmişlerdir (191).

Montalto ve ark. (2004), çeşitli laktobasil suşlarının tüketiminin, tükürükteki laktobasiller üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, *L. sporogens*, *L. bifidum*, *L. bulgaricus*, *L. thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* içeren tablet ve sıvı formda tüketen deneklerin tükürüklerinde laktobasil sayılarında artış görüldüğünü belirtmişlerdir (280).

Kang ve ark. (2005), *W. cibaria* probiyotik bakterisinin ağız içi epitelyum dokularına agregasyonunu incelemişlerdir. Sonuç olarak, *W. cibaria*'nın oral florayı oral patojenlere karşı koruma potansiyeli olan bir probiyotik bakterisi olduğu belirtilmiştir (201).

Çağlar ve ark. (2005), *B. Bifidum* DN-173 010 içeren yoğurtların karyojenik bakterilere olan etkisini incelemişlerdir. Deneklerin tükürüklerindeki MS seviyesinde azalma görüldüğü bildirilmiştir (113).

Lima ve ark. (2005), *L. casei* Shirota ve *L. acidophilus*'un çürük diş dokularına adezyonunu in vitro olarak incelemişlerdir. *L. acidophilus*'un dokulara, *L. casei* Shirota'ya göre yüksek oranda bağlandığı görülmüştür (185).

Çağlar ve ark. (2006), *L. reuteri* ATCC 55730 içeren pastilleri tüketen deneklerdeki çürük yapıcı bakterilerin gelişimini incelemişlerdir. Sonuç olarak, tabletler oral dokularla direk temasta olduğu için biyofilmin bir parçası olarak karyojenik bakterilerle yarış haline girdikleri ve probiyotik bakterilerin, çürük yapıcı bakteriler üzerinde inhibitör etkisi gösterdiği bildirilmiştir (114).

Krasse ve ark. (2006), *L. reuteri*'nin, tükürük ve dental plaktaki laktobasil sayısına ve gingivitis tedavisine etkisini incelemişlerdir. *L. reuteri*'nin patojen bakteriler üzerinde inhibitör etki gösterdiğini ve gingivitis tedavisi sırasında faydalı olabileceğini belirtmişlerdir (202).

Kang ve ark. (2006), *W. cibaria*'nın ağız kokusu üzerine etkisini in vitro ve in vivo olarak araştırmışlardır. Sonuç olarak, *W. cibaria*'nın uçucu sülfür bileşiklerine etki ederek ağız kokusunu önleyebildiğini bildirmişlerdir (203).

Burton ve ark. (2006), *S. salivarius*' un ağız kokusu üzerine etkisini incelemişlerdir. Antimikrobiyal bir ajan sonrasında uygulanan *S. salivarius* probiyotik bakterisinin, uçucu sülfür bileşikleri üzerinde etkili olduğunu belirtmişlerdir (15).

Haukioja ve ark. (2006), *L. reuteri* 2112 (ATCC 55730) ve *B. lactis* Bb12' nin kolonizasyon potansiyellerini araştırmışlardır. *L. reuteri* SD 2112 (ATCC 55730)'nin, tükürükle kaplı microtitre wells'lerine, HA boncuklarına ve BSA kaplı HA boncuklarına bağlanmalarını daha zayıf bulmuşlardır. Fakat, laktobasillerin bifidobakterlere göre tükürükle kaplı HA yüzeylerine daha iyi bağlanma gösterdiklerini bildirmişlerdir (198).

Yli-Knuutila ve ark. (2006), LGG' yi meyve suyu içerisinde 2 hafta boyunca tüketen bireylerde oral kolonizasyonu araştırmışlardır. LGG' nin kolonizasyonunun sağlanabilmesi için probiyotik yüklemesinin sürekli yapılması gerektiği bildirilmiştir (197).

Hatakka ve ark. (2007), LGG ATCC 53103, *L. rhamnosus* LC705, *Propionibacterium freudenreichi* ssp. *Shermanii* JS probiyotik bakterilerini içeren peynir tüketen ileri yaş bireylerde tükürük içindeki *C. albicans*' ın gelişimini araştırmışlardır. Sonuç olarak, bu probiyotik peynirleri tüketen bireylerde, *C. albicans* sayısının ve hiposalivasyonun azaldığı görülmüştür (196).

Çağlar ve ark. (2007), *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 probiyotik bakterileri ve ksilitol içeren sakızların MS ve laktobasillere etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, bu probiyotik bakterilerinin, tükürük içindeki MS sayısını azalttığını fakat laktobasil sayısını etkilemediğini, ksilitol ve probiyotiğin bir arada kullanılmasının sinerjik bir etki göstermediğini bildirmişlerdir (115).

Çağlar ve ark. (2008), *Bifidobacterium lactis* Bb-12' in m.s ve laktobasil üzerine etkilerini incelemişlerdir. Probiyotik içeren dondurma tüketen bireylerin tükürüklerinde MS sayısının azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun sebebinin, lokal ve sistemik immün cevabın birlikte oluşması sonucu gerçekleşmiş olabileceği belirtilmiştir (117).

Çağlar ve ark. (2008), *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 probiyotik bakterilerini bir arada içeren emzik içindeki pastilleri emerek kullanan bireylerdeki tükürük m.s seviyelerini incelemişlerdir. Bu bakterilerin bir arada kullanılmasının sinerjik etki gösterdiği ve tükürük MS seviyelerinde belirgin bir azalma görüldüğü belirtilmiştir (116).

Köll ve ark. (2008), birçok laktobasil suşunu, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *S. mutans* ve *C. albicans*'a etkileri açısından incelemişlerdir. Araştırmanın sonucunda, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. salivarius*, ve *L. rhamnosus*' un en yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren türler olduğu belirtilmiştir (281).

Stamatova ve ark. (2009), *L. delbrueckii bulgaricus* ve LGG' nin tükürük kaplı yüzeylere in vitro olarak bağlanmasını incelemişlerdir. Bu yüzeylere iyi bağlanabilen probiyotik bakterilerin oral dokularda daha iyi kolonize olabildikleri, bağlanmanın, hidrofobik etkileşim ve spesifik adezin-reseptör etkileşimi ile olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, *L. delbrueckii bulgaricus*'un yalnızca bir türünün bağlanma kapasitesinin yüksek olduğu sonucunu açıklamışlardır (178).

Çağlar ve ark. (2009), *L. reuteri* ATCC 55730 içeren sakız tüketen deneklerdeki kolonizasyonu incelemişlerdir. Sakız tüketiminden sonraki ilk günlerde tükürükte probiyotik bakteri sayısı fazla iken, 5 hafta sonrasında hiç probiyotik bakteri gözlenmemiştir. Daimi kolonizasyon için 2 hafta probiyotik uygulamasının yeterli olmadığı belirtilmiştir (118).

Çıldır ve ark. (2009), *B. Animalis subsp. Lactis* DN 173010 probiyotik bakterisi içeren yoğurt tüketen, sabit ortodontik tedavi gören çocuk hastaların tükürüklerindeki m.s ve laktobasil sayılarındaki değişimi incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, MS sayılarında azalma görülürken, laktobasil sayılarında değişim görülmemiştir. Araştırmacılar, ortodontik braketlerin, bifidobakterler ve *S. mutans*' ların yer değiştirmesi için uygun bir ortam olduğunu belirtmişlerdir (119).

Mayanagi ve ark. (2009), *L. salivarius* WB21 ve ksilitol içeren tabletleri tüketen periodontitisli bireylerin yalnızca ksilitol içeren tabletleri tüketen bireylere oranla,

supragingival ve subgingival plaklarındaki periodontal olarak patojen bakterilerin sayılarının değişimini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, probiyotik içeren tablet kullanan bireylerde, bu bakterilerin sayısında azalma görülmüştür. Bu sonucun, dental plağın m.o.' larla direkt etkileşimi ve bağışıklık sisteminin uyarılması nedeniyle olduğu bildirilmiştir (200).

Staab ve ark. (2009), deneysel olarak gingivitis oluşturulan bireylerin *L. casei Shirota* içeren süt tüketimleri sonrasında ağız içinde gerçekleşen değişikliklerini incelemiştir. Araştırmanın sonucunda, probiyotikli süt tüketen bireylerin gingival enflamasyonlarında yararlı etkiler görüldüğü bildirilmiştir. Bu etkinin, probiyotiklerin immün sistemi uyarmasıyla oluşmuş olabileceği bildirilmiştir (199).

Zahradnik ve ark. (2009), *S.oralis*, *S.uberis* ve *S.rattus* içeren bir ağız suyu üzerinde çalışma yapmıştır. Çalışmanın sonucunda, gönüllü deneklerin tükürüklerindeki *S. mutans* ve subgingival plaklarındaki *Campylobacter rectu* ve *Porphyromonas gingivalis* sayılarının azaldığı bildirilmiştir (217).

Pham ve ark. (2010), yapmış oldukları biyofilm çalışmasında, *Lactobacillus rhamnosus* GG probiyotik bakterisinin MS' lara etkisini incelemiştir. Tükürük kökenli biyofilme dahil olduğunu ve MS büyümesini inhibe edebildiğini fakat m.o.' ların karyojenik potansiyeline anlamlı bir etkisinin olmadığını açığa çıkarmışlardır. Araştırmacılar, karyojenik potansiyelinin etkilenmemesinin sebebini, MS' lar dışında diğer m.o.' ların da sorumlu olmasına bağladıklarını belirtmişlerdir (218).

Cogulu ve ark. (2010), *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* spp. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* spp. *cremoris*, *Lactobacillus kefir*, *Kluyveromyces marxianus*, ve *Saccharomyces unisporus* içeren kefir içeceğini, tükürük içindeki *S. mutans* ve laktobasil sayılarına etkisi açısından araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, deneklerin tükürük örneklerinde *S. mutans* ve laktobasil sayılarının düştüğü gözlemlenmiştir (220).

Çağlar ve ark. (2010), avulse dişlerin, çeşitli solüsyonlarda bekletildikten sonra, periodontal ligament hücrelerinin canlılığını incelemiştir. Hank' s balanced

solüsyonu, tükürük ve *L. reuteri* içeren solüsyon arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir (221).

Hasslöf ve ark. (2010), *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. reuteri* ve *L. acidophilus* bakterilerinin *Candida albicans* etkilerini incelemişlerdir. *Candida albicans*' ın büyümesine, *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* 931 ve *L. reuteri* ATCC 55730 suşlarında en fazla inhibitör etki görüldüğü bildirilmiştir (222).

Sinkiewicz ve ark. (2010), *L. reuteri* ATCC 55730 ve ATCC PTA 5289 içeren sakızları 12 hafta boyunca deneklere kullandırmışlardır. Uygulama sonrasında yapılan analizlerde tükürük ve plakta kolonizasyonun sağlanmadığı belirtilmiştir (219).

Tanzer ve ark. (2010), *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671 bakterisinin ratlardaki oral kolonizasyonunu ve çürük gelişimini engellemesindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmanın sonucunda, laktobasillerin *S. mutans* kolonizasyonunu inhibe ederek çürük gelişimini azalttığı ortaya çıkmıştır (282).

Singh ve ark. (2011), kombine olarak *Bifidobacterium lactis* Bb12 ve *Lactobacillus acidophilus* La5 içeren dondurma tüketen deneklerin tükürük MS seviyelerindeki değişimi incelemişlerdir. Probiyotik bakteri içeren dondurma tüketen çocukların tükürüklerinde m. s. sayılarının azaldığı bildirilmiştir (224).

Petersson ve ark. (2011), *Lactobacillus rhamnosus* LB21 ve florid içeren sütlerin kök çürükleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Hem florid hem probiyotik içeren içeren sütlerin yumuşamış çürük yapısını daha etkili bir şekilde tersine çevirebildiğini bildirmişlerdir (225).

Aminabadi ve ark. (2011), *Lactobacillus rhamnosus* GG içeren yoğurt tüketiminden önce klorheksidin kullanımının etkisini araştırmışlardır. Klorheksidin gargara kullanıp sonrasında probiyotik bakteri tüketen çocuklarda, LGG suşunun daha kararlı bir şekilde kolonize olduğu görülmüştür (226).

Harini ve ark. (2011), probiyotik ve klorheksidin içeren ağız gargaralarının periodontal etkilerini incelemişlerdir. Plak birikimi ve gingival enflamasyonun en çok azaldığı grup, yalnızca probiyotikli gargara kullanan deneklerde olmuştur.



Klorheksidinin, diř ve dili renkleřtirmesi, mukozal erozyona neden olması ve tat duyusunu azaltması sebebi ile probiyotikli gargaraların daha iyi bir alternatif olabileceđi dűřünülmektedir (223).

Keller ve ark. (2011), *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* 931, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LB21, *L. paracasei* F19, *L. reuteri* PTA5289, *L. reuteri* DSM17938, *L. acidophilus* La5 suřlarının *S. mutans* ile etkileřimini in vitro olarak incelemiřlerdir. Sonuç olarak, tűm probiyotik bakterilerin *S. mutans* sayısını azalttıđı gűrűlműřtűr. Ancak her bir probiyotik suřunun etkisinin farklı olduđu gűzlenmiřtir (227).

Çıldır ve ark. (2011), *L.reuteri* DSM 17938 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içeren damlanın dudak damak yarıklı çocuklardaki etkisini incelemiřlerdir. Arařtırmanın sonucunda, tűkűrűk űrneklerinde MS sayılarında anlamlı bir azalma gűrűlmemiřtir (228).

Shen ve ark. (2011), *L. acidophilus*' un kısa dűnem ađız içine uygulanılmasının ardından kolonizasyonunu arařtırmıřlardır. Gűnűllűlerin, tűkűrűk, plak, dil-yanak yűzeyleri ve fecesleri incelenmiřtir. Sonuç olarak, kısa dűnem probiyotik kullanımının, oral kavite ve GI sistemde kalıcı kolonizasyonu sađlamadıđı bildirilmiřtir (229).

Marttinen ve ark. (2012), LGG ve *L. reuteri* SD2112 ile PTA 5289 kombinasyonunun dental plak űzerindeki etkisini araştırmışlardır. Fakat her iki grubun da dental plaktaki MS sayısını azaltamadığı ve plağın asidojenitesini değiştiremediği bildirilmiştir (230).

Ravn ve ark. (2012), *Lactobacillus casei* F19, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 bakterilerini içeren sűtű (Cultura Dofilus<sup>®</sup> , Arla Foods<sup>®</sup> , Danimarka) gűnde 8 kez 3 gűn boyunca tűketen kiřilerin tűkűrűk, mukoza ve dental yűzeylerinden űrnekler alarak incelemiřlerdir. Çalıřmanın sonucunda, probiyotik bakterilerin tűkűrűkte ve mukozal yűzeylerde gűzlemlendiđi fakat dental yűzeylerde biyofilme dahil olamadıđı belirtilmiřtir (231).

Keller ve ark. (2012), klorheksidinle kısa dűnem ađız içi dezenfeksiyonu sonrası probiyotik tűketimi yapan deneklerin, tűkűrűkteki MS geliřimlerini incelemiřlerdir. Çalıřma sonucunda, yalnızca dezenfeksiyon yapılan denekler ve dezenfeksiyon sonrası

probiyotik tüketen denekler arasında MS'lerin tekrar büyümesinde hiçbir fark gözlenmemiştir (232).

Yukarıda geçen araştırmaların ışığında çalışmamızın amacı, doğumdan sonraki ilk aylarda, henüz *S. mutans* kolonizasyonu oluşmamış bebeklerde, *L. reuteri*'nin oral kolonizasyonunun sağlanıp sağlanamayacağını ve *L. reuteri* bakterisinin *S. mutans* bakterisi üzerindeki inhibitör etkisini tespit edebilmektir. Yeni doğan bebeklere *S. mutans* ve *L. reuteri* inokulasyonu yapılması etik olmayacağından bu planlamanın hayvanlar üzerinde gerçekleştirilmesine karar verildi. *L. reuteri*'nin oral mikrobiyolojik çerçeve içerisine dahil olabilmeye ve *S. mutans*'la yarışabilme yeteneği in vivo koşullarda sıçanlarda araştırıldı.

Probiyotik bakterilerinin oral kolonizasyonunu araştıran çalışma sayısı sınırlıdır. Geçmişten günümüze kadar yapılmış olan kolonizasyon çalışmaları şunlardır:

Çağlar ve ark. (2005), *B. Bifidum* DN-173 010 içeren yoğurtların tüketiminin genç yetişkinlerin tükürük MS ve laktobasillerine olan etkisini incelemişlerdir. Yaşları 21-24 arası değişen 21 gönüllü 2 gruba ayrılarak, bir gruba probiyotik yoğurt, bir gruba plasebo yoğurt verilmiştir. Denekler 1. ve 3. hafta yoğurt tüketmezken, 2. ve 4. haftalarda verilen yoğurtlardan günde 200gr tüketmişlerdir. 2. ve 4. haftaların başında ve sonunda tükürük örnekleri alınmıştır. Araştırmanın sonucunda, bifidobakterli yoğurt tüketiminden sonra, deneklerin tükürüklerindeki MS seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldüğü bildirilmiştir. Laktobasillerde de görülen azalmanın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir (113).

Yli-Knuutila ve ark. (2006), LGG'yi meyve suyu (Gefilus®), Finlandiya) içerisinde 2 hafta boyunca tüketen bireylerdeki oral kolonizasyonu araştırmışlardır. 56 gönüllü 2 hafta boyunca  $5 \times 10^6$  cfu LGG içeren 200ml meyve suyunu günde 3 kere tüketmiştir. Tüketim sonrasında hergün tükürük örnekleri alınarak LGG varlığı incelenmiştir. İlk gün kişilerin %66sında, 7. gün kişilerin %3,6'ında LGG tespit edilmiştir. 2. hafta sonunda ise hiçbir gönüllüde LGG'ye rastlanmamıştır. Çalışmanın başlangıcında alınan tükürük örneklerinde LGG'ye rastlanan bir kişi çalışmaya dahil edilmeyerek takip edilmiştir. 10 yaşında atopik dermatit nedeniyle 1 yıl boyunca LGG içeren süt tüketen bu kişinin tükürük örneğinde 5 ay sonra bile LGG'ye rastlandığı

bildirilmiştir. Sonuç olarak, LGG' nin kolonizasyonunun sağlanabilmesi için probiyotik yüklemesinin sürekli yapılması gerektiği ve takip edilen bir olguda görüldüğü gibi daimi kolonizasyonun mümkün olabileceği bildirilmiştir (197).

Haukioja ve ark. (2006), probiyotik içeren çeşitli ürünlerin kolonizasyon potansiyellerini araştırdıkları çalışmalarında, *L. reuteri* SD 2112 (ATCC 55730)'nin, tükürükle kaplı microtitre wells'lerine, HA boncuklarına ve BSA kaplı HA boncuklarına bağlanmalarını daha zayıf bulmuşlardır. Fakat, laktobasillerin bifidobakterlere göre tükürükle kaplı HA yüzeylerine daha iyi bağlanma gösterdiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, hidroksiapatit üzerindeki tükürük pelikülüne, *L. reuteri* 2112 (ATCC 55730) ve *B. lactis* Bb12' nin, *S. mutans*' ların yapışmasını engellemesi üzerine farklı bir mekanizma tanımlamışlardır. Gönüllü deneklerden toplanmış tükürük havuzunda, tüm test suşları 24 saat varlığını sürdürebilmiştir. Laktobasiller tükürükle kaplı HA yüzeyine bağlanırken *F. nucleatum* ile yarışmaktadırlar. Laktobasillerin düşük kolonizasyon yeteneklerinin nedeni olarak bu yarış gösterilebilir. Ayrıca laktobasillerin ağız içindeki floraya etki etmesinin nedeni olarak da bu yarış gösterilmektedir (198).

Çağlar ve ark. (2007), *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 probiyotik bakterileri ve ksilitol içeren sakızların MS ve laktobasillere etkilerini araştırmışlardır. 21-24 yaş arası 80 genç yetişkin gönüllü 4 gruba ayrılarak, probiyotikli sakız, ksilitollü sakız, probiyotik ve ksilitollü sakız, plasebo sakız verilmiştir. Kişiler 3 hafta boyunca, günde 3 kere yemeklerden sonra sakızları çiğnemiştirler. Probiyotikli sakızlar  $1 \times 10^8$  cfu/sakız *L. reuteri* ATCC 55730 ve  $1 \times 10^8$  CFU/sakız *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içerirken, ksilitollü sakızlarda 1 sakızda yaklaşık 1gr ksilitol bulunmaktadır. Tükürük örnekleri 3 haftalık uygulama döneminin başında ve sonunda alınmıştır. Araştırmacılar, bu probiyotik bakterilerinin, tükürük içindeki MS sayısını azalttığını fakat laktobasil sayısını etkilemediğini, ksilitol ve probiyotiğin bir arada kullanılmasının sinerjik bir etki göstermediğini bildirmişlerdir (115).

Çağlar ve ark. (2008), *Bifidobacterium lactis* Bb-12' nin MS ve laktobasil üzerine etkilerini incelemişlerdir. 24 genç gönüllü birey iki gruba ayrılarak bifidobakterli dondurma ve normal dondurma tüketmişlerdir. Çalışma 4 periyoda

ayrılmıştır ve her bir periyod 10 gündür. Bireyler 2. ve 4. periyodlarda dondurma tüketmişlerdir. Tükürük örnekleri 2. ve 4. haftaların başında ve sonunda alınmıştır. Probiyotik içeren dondurma tüketen bireylerin tükürüklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde MS sayısının azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun sebebinin, lokal ve sistemik immün cevabın birlikte oluşması sonucu gerçekleşmiş olabileceği belirtilmiştir (117).

Çağlar ve ark. (2008), *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 probiyotik bakterilerini bir arada içeren pastil formunu, emzik içinde emerek kullanan bireylerdeki tükürük m.s ve laktobasil seviyelerindeki değişimi incelemişlerdir. Çalışmada, potansiyel anne adaylarını temsil etmesi için yalnızca bayan gönüllülerle çalışılmıştır. *S. mutans* seviyesi fazla, yüksek çürük rüşk grubundaki 20 yaşlarında 20 genç bayan çalışma ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrılmıştır. Bireyler, 10 gün boyunca günde 1 kere 15dk boyunca emzik emmişlerdir. Tükürük örnekleri uygulamanın başında ve sonunda alınmıştır. Araştırmanın sonucunda, bu bakterilerin bir arada kullanılmasının sinerjik etki gösterdiği ve tükürük MS seviyelerinde belirgin bir azalma görüldüğü, laktobasil sayısında ise bir değişim görülmediği belirtilmiştir (116).

Stamatova ve ark. (2009), *L. delbrueckii bulgaricus* ve LGG' nin tükürük kaplı yüzeylere in vitro olarak bağlanmasını incelemişlerdir. 15 *L. delbrueckii bulgaricus* süşunun ve LGG' nin tükürük kaplı hidroksiapatit boncuklara ve polistiren mikrotitre tabakalarına bağlanması, laktobasilin bağlanmasında lizozimin etkisi ve öncesinde laktobasil uygulanmasının *S. sanguinis*' in bağlanmasındaki etkisi araştırılmıştır. Bu yüzeylere iyi bağlanabilen probiyotik bakterilerin oral dokularda daha iyi kolonize olabildikleri, bağlanmanın, hidrofobik etkileşim ve spesifik adezin-reseptör etkileşimi ile olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, *L. delbrueckii bulgaricus*' un yalnızca bir türünün bağlanma kapasitesinin yüksek olduğu sonucunu açıklamışlardır (178).

Çağlar ve ark. (2009), *L. reuteri* ATCC 55730 probiyotik bakterisinin kolonizasyon süresini araştırmışlardır. Çalışma 2'şer haftalık 3 periyoddan oluşmaktadır. Boşluk (clearance) periyodu, uygulama periyodu ve tedavi sonrası periyodu. 25 gönüllü genç birey 2 hafta boyunca günde 1 kere *L. reuteri* ATCC 55730 içeren çiğnenebilen tablet tüketmişlerdir. Boşluk ve tedavi sonrası periyodlarında

bireyler hiçbir probiyotik bakteri tüketmemişlerdir. Tükürük örnekleri, uygulama dönemi öncesinde ve uygulama dönemi sonrasında örneklerde *L. reuteri* görülme-yene kadar hergün alınmıştır. Bireyler tablet tüketimini bıraktıktan 1 hafta sonra, %8' inde *L. reuteri*' ye rastlandığı, 5 hafta sonra ise hiçbir bireyde rastlanmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar, probiyotiklerin ağız içinde yararlı etkilerinin görülebilmesi için biyofilmin bir parçası olması gerekmediğini bildirmişlerdir (118).

Tanzer ve ark. (2010), *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671 bakterisinin sıçanlardaki oral kolonizasyonunu, çürük gelişimini engellemesindeki etkilerini ve bu bakterinin güvenilirliğini araştırmışlardır. Araştırmacılar sıçanları 4 gruba ayırmışlardır. *S. mutans* 10449S inokule edilen ve diyetine *L. paracasei* DSMZ16671 eklenen grup. *S. mutans* 10449S inokule edilmeyen ve diyetine *L. paracasei* DSMZ16671 eklenen grup. *S. mutans* 10449S inokule edilen ve diyetine *L. paracasei* DSMZ16671 eklenmeyen grup. *S. mutans* 10449S inokule edilmeyen ve diyetine *L. paracasei* DSMZ16671 eklenmeyen grup. Inokulasyon sonrası 21. ve 42. günlerde dişlerden örnekler alınarak incelenmiştir. Araştırmanın sonucunda, laktobasillerin *S. mutans* kolonizasyonunu inhibe ederek çürük gelişimini azalttığı ortaya çıkmıştır. *L. paracasei* DSMZ16671 bakterisinin toksik ve mutajenik özellikler göstermediği ve sıçanlarda kullanımının güvenli olduğu bildirilmiştir (282).

Keller ve ark. (2011), yapmış oldukları çalışmalarında çürüklü ve çürüksüz ağızlardan tükürük örnekleri alıp, bu örneklerden *S. mutans* ayırtmışlardır. *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* 931, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LB21, *L. paracasei* F19, *L. reuteri* PTA5289, *L. reuteri* DSM17938, *L. acidophilus* La5 suşlarının *S. mutans* ile etkileşimini in vitro olarak incelemişlerdir. Sonuç olarak, tüm probiyotik bakterilerin *S. mutans* sayısını azalttığı görülmüştür. Sonuç olarak, tüm probiyotik bakterilerin *S. mutans* sayısını azalttığı görülmüştür. Çürüklü ve çürüksüz ağızlardaki *S. mutans* bakterileri ile laktobasil suşlarının bu patojen bakterileri inhibe etmesi arasında bir orantı bulunamamıştır. Ancak her bir probiyotik suşunun etkisinin farklı olduğu gözlenmiştir (227).

Tahmourespour ve ark. (2011), yapmış oldukları biyofilm çalışmasında, gönüllü bireylerin dental plak ve çürüklerinden izole ettikleri MS ve non-MS' lerin yüzeye bağlanma kapasitesini ve bu kapasiteye *L. acidophilus* DSM20079 probiyotik

bakterisinin etkisini araştırmışlardır. Probiyotik etkisi incelenirken 2 yöntem kullanılmıştır. İlk grupta, MS ve *L. acidophilus* DSM20079 aynı anda yüzeye uygulanmıştır. İkinci grupta ise, *L. acidophilus* DSM20079 ekildikten 30dk sonra MS ilave edilmiştir. Araştırmanın sonucunda MS' ların %42' sinin, non-MS' ların ise %23,5' inin yüzeye güçlü baēlanma gsterdiēi belirtilmiştir. *L. acidophilus* varlıēında, MS ve non-MS' ların baēlanma kapasiteleri azalmıştır ve MS' ların baēlanma kapasitesi düşüşü, non-MS' lara oranla istatistiksel olarak daha fazladır. Ancak, *L. acidophilus*' un önce eklenmesinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluřturmadıēı bildirilmiştir (283).

Aminabadi ve ark. (2011), *L.rhamnosus* GG iēeren yoēurt tüketiminden önce klorheksidin kullanımının etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 105 ocuk 3 gruba ayrılmıştır. Grup A 2 hafta klorheksidin gargara kullanmıştır. Grup B 3 hafta boyunca günde  $2 \times 10^8$  cfu/gr LGG iēeren yoēurt tüketmiştir. Grup C 2 hafta klorheksidin gargara kullanıp 24 saatlik aradan sonra 3 hafta boyunca günde  $2 \times 10^8$  cfu/gr LGG iēeren yoēurt tüketmiştir. Tükürük *S. mutans* ve LGG sayıları bařlangıēta, 24.saat, 1.hafta ve 5.haftada tespit edilmiştir. Grup A' da *S. mutans* sayısı 24.saatte dşmş fakat 5 hafta boyunca sabit kalmıştır. Grup B' de *S. mutans* sayısında 5 hafta boyunca anlamlı bir farklılık görülmemiştir. LGG sayısı önce artmış fakat 5 hafta boyunca sabit kalamamıştır. Grup C' de *S. mutans* sayısında anlamlı bir azalma görülmüş ve 5 hafta boyunca sabit kalmıştır. LGG sayısı anlamlı bir şekilde artmış ve 5 hafta boyunca sabit kalmıştır. Sonuē olarak, klorheksidin gargara kullanıp sonrasında probiyotik bakteri tüketen ocuklarda, LGG suşunun daha kararlı bir şekilde kolonize olduēu görülmüştür (226).

Çıldır ve ark. (2011), *L. reuteri* DSM 17938 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 iēeren damlanın dudak damak yarıklı çocuklardaki etkisini incelemişlerdir. 4-12 yaş arası 19 dudak damak yarıklı ocuk çalışmaya katılmıştır. Çalışma 4 periyoddan oluşmaktadır. 1. periyod 1 hafta, 3. periyod 3 hafta, 2. ve 4. periyodlar 25' er gün olarak belirlenmiştir. 1. ve 3. periyodlarda her türlü süt ürünü, probiyotik ve ksilitollü ürünlerin kullanımından kaēınılmıřtır. 2. ve 4. periyodlarda, aileleri, çocukların aēızlarına günde 5 damla Biogaia damla <sup>®</sup> (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belēika) (*L.reuteri*

DSM 17938 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289) damlatmışlardır. Araştırmanın sonucunda, tükürük örneklerinde MS sayılarında anlamlı bir azalma görülmemiştir (228).

Shen ve ark. (2011), kısa dönem probiyotikli yoğurt tüketilmesinin ardından *L. acidophilus*' un kolonizasyonunu araştırmışlardır. 23 gönüllü 14 gün boyunca günde 200gr probiyotik içeren yoğurt tüketmişlerdir. Yoğurt *L. acidophilus*, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* ve *Bifidobakter* içermektedir. 3 periyoddan oluşan çalışmada, gönüllüler yoğurtları 2. periyotta tüketmişlerdir ve 23 gönüllünün tükürük, plak, dil-yanak yüzeyleri ve fecesleri 2. periyodun başında ve bakteri bulunmayana dek 2. periyodun sonunda incelenmiştir. Probiyotik tüketiminin 1 hafta ardından oral yüzeylerde *L. acidophilus*' a rastlanmamıştır. GI sistemde ise daha uzun süre gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, kısa dönem probiyotik kullanımının, oral kavite ve GI sistemde kalıcı kolonizasyonu sağlamadığı bildirilmiştir (229).

Ravn ve ark. (2012), *Lactobacillus casei* F19, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 bakterilerini içeren sütü (Cultura Dofilus® (Arla Foods®, Danimarka)) günde 8 kez 3 gün boyunca tüketen 8 kişinin tükürük, mukoza ve dental yüzeyleri temsil etmesi için ağızlarına yerleştirilen cam levhalardan örnekler alarak incelemişlerdir. Süt, pasteur pipetleriyle her defasında 5ml olacak şekilde ağıza damlatılmıştır. Bireyler günde  $6 \times 10^9$  probiyotik bakteri almışlardır. Çalışmanın sonucunda, probiyotik bakterilerin tükürükte ve mukozal yüzeylerde 72 saate kadar gözlemlendiği daha sonra gözlemlenmediği, dental yüzeyleri temsil eden cam levhalarda hiç gözlemlenmediği ve biyofilme dahil olmadığı belirtilmiştir (231).

Taipale ve ark. (2012), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12(BB-12) probiyotik bakterisinin erken çocukluk döneminde uygulanmasının, MS ve BB-12' nin oral kolonizasyonuna etkisini ve annelerdeki MS miktarının çocuklarındaki MS miktarıyla ilişkisini araştırmışlardır. Yaşları yaklaşık 1 aylık olan 106 bebek üç gruba ayrılarak, ilk gruba BB-12, ikinci gruba ksilitol, üçüncü gruba sorbitol uygulaması yapılmıştır. Uygulamalar, bebekler 6-8 aylık olana kadar, günde 2 kere, emzik veya kaşık aracılığı ile aileleri tarafından yapılmıştır. Bebekler 1 aylıkken annelerden dental plak örnekleri alınarak MS sayıları belirlenmiştir. Bebeklerin diş ve oral mukoza yüzeylerinden 8. ay ve 24. ayda örnekler toplanarak MS ve BB-12 sayıları belirlenmiştir. Annelerin %90' ının MS sayılarının yüksek olduğu, fakat çocukların 24

aylık örneklerinde tüm gruplarda MS kolonizasyonunun düşük olduğu görülmüştür. Geçmiş çalışmalarda, (285-287) MS sayısı 5 cfu ve üstü olan annelerin çocuklarının yaklaşık yarısının 2 yaş civarında MS ile kolonize olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada her gruptaki çocukların %46-48' inin MS pozitif olması beklenirken çok daha az sayıda çocuğun MS pozitif olduğu belirtilmiştir. Laktobasil ve kandida seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. 8. ay örneklerinde 3 örnekte çok az sayıda BB-12 varlığı gözlemlenirken, 24. ay örneklerinde hiç BB-12' ye rastlanmamıştır. Sonuç olarak, erken dönem BB-12 probiyotik bakterisi uygulanmasının, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde probiyotik kolonizasyonu sağlamadığı ve MS sayısını azaltmadığı bildirilmiştir (284).

Günümüze kadar yapılan araştırmalarda, kısa dönem takip edilen kolonizasyon çalışmalarında, düzenli probiyotik kullanımının oral MS' leri azalttığı, uzun dönem takip edilen çalışmalarda ise sonuçların farklılık gösterdiği görülmektedir.

Çalışmamızda, Probiyotik I ve Probiyotik II gruplarında, *S. mutans* sayısı önce artmış daha sonra azalmıştır. Ancak, Kontrol grubunda da aynı şekilde gerçekleşerek, *S. mutans* sayısı önce artmış daha sonra azalmıştır. Kontrol grubunda görülen bu durum, *S. mutans* kolonizasyonunun sağlanamadığını ve probiyotik gruplarındaki *S. mutans* sayılarındaki azalmanın anlamlı olmadığını göstermiştir. Sıçanların yemlerine sakkaroz ilave edilmesi veya ağızlarına günde belli miktarda süt damlatılması ile kolonizasyon süreci etkilenebilir. Ancak bu konuda yeterli araştırma bulunmadığı için ilk örnek teşkil eden çalışmamızda bu etken faktörler dahil edilmemiştir.

Probiyotik I ve Probiyotik II gruplarında *L. reuteri* sayısı her ay daha da yükselmiştir fakat aylar arasındaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Daha uzun dönem tükürük mikrobiyolojik analizleri yapılarak, *L. reuteri'* nin ne kadar süre daha ağızda kalacağı, daimi kolonizasyon sağlanıp sağlanmadığı takip edilebilir.

Çürükle ilişkili m.o.'ları etkileyebilmenin, bu m.o.'lar daimi olarak kolonize olmadan önce daha kolay olabileceği, oral flora kararlı bir şekilde oluştuktan sonra bu m.o.'ları etkileyebilmenin daha zor olabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle probiyotik uygulamalarının erken dönemde uygulanmasının daha faydalı olabileceği bildirilmiştir (117).



Çalışmamızda Probiyotik grupları oluşturulurken, Probiyotik I grubuna önce *S. mutans* inokulasyonu sonra *L. reuteri* inokulasyonu yapılması, Probiyotik II grubuna ise önce *L.reuteri* inokulasyonu sonra *S. mutans* inokulasyonu yapılması tasarlanmıştır. Bu planlamayla, *L. reuteri*' nin, *S. mutans* varlığında veya yokluğunda ne kadar kolonize olabileceğinin belirlenmesi planlanmıştır. Sonuç olarak, *S. mutans* varlığı ve yokluğu, *L. reuteri*' nin kolonizasyonunda anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. Bu durum, Tahmourespour ve ark.' nın (2011) (283) ve Comelli ve ark.' nın (2002) (277) yapmış oldukları çalışmalarında buldukları sonuç ile uyumludur.

Günümüze kadar yapılan hayvan çalışmalarında birçok hayvan türü kullanılmıştır. Kemirgenler, boyutlarının küçük, elle tutulmalarının kolay ve bakımlarının ekonomik olması, hem döl verme sürelerinin hem de ömürlerinin kısa olması, haklarında ayrıntılı bilginin varlığı, germ-free ve patojen-free üretim modellerinin uygulanabileceği birçok türün olması, yüksek üretkenlik kapasiteleri, insanlarda görülen birçok hastalık modelinin kemirgenlere de oluşturulabilmesi nedeniyle, deneylerde tercih edilmektedir. Sıçanlar, tıbbi araştırmalarda en fazla kullanılan hayvanlardır (271).

Deney hayvanlarının kullanıldığı araştırmalarda 3R kuralı uygulanmaktadır. (Replacement\_Yerine Koyma/Reduction\_Azaltma/Refind\_İyileştirme) Bu kuralın ilk maddesi, araştırmalarda kullanılacak hayvan çeşidinin, mümkün olan en küçük hayvan olması gerektiğini belirtir (271). Fare ağzının çok küçük olması ve tükürük örneği almaya imkan vermemesi sebebi ile çalışmamızda sıçan kullanılmasına karar verilmiştir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda birçok farklı probiyotik bakteri türü kullanılmıştır. Farklı probiyotik suşlarının, ağız içinde farklı mekanizmalarla etkileri görülmektedir. *L. reuteri*' nin, tükürük içinde bulunan MS sayılarını azaltabildiği (114, 191) fakat oral kavite içinde kolonize olamadığı gözlemlenmiştir. (114, 115, 117, 118, 198) Ayrıca, *L. reuteri*, tükürük pelikülünün protein içeriğini değiştirerek diğer bakterilerin bağlanmasını engellemektedir ve böylece oral ekolojiiyi etkilemektedir (288). Probiyotik suşlarıyla ilgili diğer bir konu ise, dişlere verebilecekleri zararlar nedeniyle, şekerlerden asit üretebilme kapasiteleridir. Hedberg ve ark. (289) yapmış

oldukları çalışmalarında *L. reuteri* ATCC PTA 5289' un glukoz, laktoz, sukroz, maltoz ve melibioz ile yavaş bir şekilde zayıf bir reaksiyon başlattığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda multistrain probiyotik bakteriler (*L. reuteri* DSM 17938 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289) uygulanmıştır. Monostrain bakterilerin, host ve endojen mikroflorasının neden olduğu engellerin üstesinden gelmesi, multistrain bakterilere göre daha fazladır. Monostrain bakterilere oranla, multistrain bakterilerden en az birinin hayatta kalma şansı daha yüksektir (62).

Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin ağızdan uygulanmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Probiyotik bakteriler, yiyecek ve içeceklere ilave edilerek, emzik, pipet aracılığı ile tablet, kapsül, toz formunda veya damla şeklinde uygulanabilmektedir (113). Çalışmamızda, sıçanların ad libitum beslenme yapmaları nedeni ile yemlerine veya sularına probiyotik bakteri eklenmesi durumunda alınan miktarın kontrol edilemeyeceği düşünülerek, her sıçanın aynı miktarda probiyotik bakterisi aldığından emin olmak için, probiyotik bakteriler sıvı formda damlatılarak uygulanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan BioGaia Damla® (Eczacıbaşı, Sanico N.V, Belçika), *L. reuteri* DSM 17938 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 probiyotik bakterilerinin gıda yağı içerisinde bulunduğu bir damladır. Bakteriler bu yağ ile uyumludur ve canlı kalabilmektedir. Ayrıca, probiyotik damla buzdolabı içerisinde en az 18 ay sabit kalabilmektedir (80).

Çalışmamızda, mikrobiyal örnek alırken dişler üzerinden plak örneği almak yerine tükürük örneği alınmıştır. Tükürükteki m.o. sayılarının plaktaki m.o. sayılarına göre daha tutarlı olduğu bildirilmiştir (290). Bakterilerin, oral yüzeylerin ana sıvısı olan tükürüğe bağlanabilmeleri önemlidir. Tükürük, m.o. ve host arasındaki temasın ilk biyolojik ögesidir ve tüm ağız içi yüzeylerinde protein pelikül oluşturur. Tükürük pelikülüne iyi bağlanabilen probiyotik bakterisinin, oral kavite içerisine kolonize olabileceği tahmin edilmektedir (178).

Çalışmamızda, tükürük örnekleri alınırken steril eküvyonlar kullanılmıştır. Mikropipetle tükürük örneği alınmamasının sebebi, sıçanların ağızında bulunan tükürük miktarının azlığıdır.

Sıçanlar üzerinde diş çürüğü modeli oluşturularak çok sayıda çalışma yapılmıştır. Diş çürüklerini sıçan modeli üzerinde araştırmak;

1. Hastalığın enfeksiyöz karakterinin belirlenmesi (291),
2. Kolonizasyon, bulaşabilirlik ve çürük lezyonunun değerlendirilmesi gibi araştırmalarla bazı sorumlu genlerin belirlenmesi (292),
3. Konak faktörlerinin belirlenmesi (293),
4. Karyostatik ajanların etkilerinin belirlenmesi (294),

konularında önemli bilgiler elde edilmesini sağlamıştır.

Uygun koşullarda *S. mutans* bakterisinin, insanlarda olduğu gibi sıçanlarda da çürüğe neden olduğu araştırmalarda gösterilmiştir (295). *S. mutans* bakterisinin, insanlarda olduğu gibi sıçanlarda da primer çürük yapıcı bakteri olduğu, sıçanların büyük azı dişlerinin pit, fissür ve düz yüzey yapılarının ve oral floralarının insanlarla benzer yapıda olduğu bildirilmiştir. Diyetlerine sükröz ilave edilmesiyle, sıçanlarda kolaylıkla çürük oluşturulabilmektedir (291, 296).

Deney hayvanlarında çürük oluşturmak için en az 3 faktör gerektiği çeşitli araştırmalarda belirtilmiştir. Bu faktörler, uygun bir konak, çürük yapıcı bir diyet ve karyojenik mikrofloradır. Sıçanlarda diş çürüğü oluşturmak üzere yapılan deneyler için birçok diyet formülasyonu geliştirilmiştir. Büyük azı dişlerinin en çok oluklarında çürük oluşturmak için Hoppert, Webber ve Canniff (297) tarafından 1931' de pirinç unu diyeti, Stephan ve ark. (298) tarafından 1952' de mısır unu diyeti (diyet 585), Griffiths ve Shaw (299) tarafından 1960' da diyet 2700 geliştirilmiştir. Sıçanların büyük azı dişlerinin hem oluklarında hem düz yüzeylerinde çürük oluşturmak için, Stephan ve Harris tarafından 1953' de diyet 580, McClure ve Folk (300) tarafından 1953' de diyet 636 ve Keyes tarafından 1964' de diyet 2000 geliştirilmiştir. Günümüzde çoğunlukla diyet 2000 kullanılmaktadır. (çürük diyet no 2000: %56 şeker, %28 süt tozu, %6 buğday tozu, %3 alfalfa tozu, %4 bira mayası, %1 karaciğer tozu, %2 sodyum klorid)

Bununla beraber, çeşitli çalışmalarda, ihmal edilebilir düzeyde sükröz içeren besinlerle beslenen veya hiç sükröz almayan 'sükraz yetersizliği' görülen çocukların ve sükrözsüz ortamda yaşayan vahşi sıçanların oral kavitelerinde *S. mutans* kolonizasyonunun gerçekleşebildiği belirtilmiştir (301, 302). Germfree sıçanlarda ise, çürük yapıcı bir diyetle beslenseler bile çürük oluşmadığı bildirilmiştir (303).

Gibbons ve ark. 1966 yılında, insan diş çürüklerinden izole ettikleri streptokok suşlarını germ free Sprague Dawley sıçanlarının oral kavitelerine inokule etmişlerdir. Bu suşların, sıçanların dişlerinde çürük oluşturduğunu gözlemlemişlerdir (304).

Fitzgerald ve ark. (1966), Sprague Dawley sıçanlarına *L. acidophilus* inokule etmişlerdir. 21-24 günlük sıçanlara tek sefer inokulasyon yapıldıktan sonra 90 gün boyunca karyojenik diyet ile beslenmeleri sağlanmıştır. Sonuç olarak, sıçanların molar dişlerinde çürük geliştiği bildirilmiştir (305).

Frostell ve ark. (1967), yaptıkları çalışmalarında çeşitli şeker ve karbonhidratların sıçan dişlerinde oluşturduğu çürük lezyonlarını ve dental plak miktarını incelemişlerdir. Çalışmada, sıçanlar gruplara ayrılarak sükröz, fruktoz, dekstroz, fruktoz ve dekstroz, maltoz, patates nişastası, sükröz ve patates nişastası içeren yemlerle beslenmişlerdir ve oral kavitelerine 'çürük yapıcı streptokok' inokule

edilmiştir. Araştırmanın sonucunda, en fazla sayıda çürük lezyonu görülen ve en yoğun dental plak bulunan grubun sükröz grubu olduğu belirtilmiştir (306).

Tanzer ve ark. (1979), hayvanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında, sıçanların yemlerine sükröz veya glukoz ekledikten 3 gün sonra her bir sıçana oral yolla 0,2 ml  $1,3 \times 10^9$  cfu /ml *S. mutans* inokulasyonu yapmışlardır. Sonuç olarak sükröz içeren yemle beslenen sıçanların dişlerinde daha yoğun plak gözleendiği bildirilmiştir (307).

Johnson ve ark. (1980), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında, laktat dehidrojenaz enzim eksikliği olan mutant *S. mutans* ile infekte edilen ve 14 hafta boyunca yüksek sükröz içerikli diyetle beslenen sıçanların dişlerinde, *S. mutans* suşuyla infekte edilen sıçanların dişlerine oranla %90 oranla daha az çürük tespit edilmiştir (308).

Tanzer ve ark (1985), *S. salivarius* bakterisinin, çürük yapıcı bakteriler olan *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakterileri ile yer değiştirme kabiliyetini sıçanlar üzerinde araştırmışlardır. Diyet 2000 ile beslenmeleri sağlanan sıçanlar gruplara ayrılarak 7 gün boyunca *S. mutans* ve *S. sobrinus* ile infekte edilmişlerdir. Sonrasında *S. salivarius* inokule edilen sıçanların dil ve dişlerinden eküvyonlarla örnekler alınarak incelenmiştir. Sonuç olarak, *S. salivarius* bakterisinin, *S. mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonunu azalttığı bildirilmiştir (309).

Johnson ve ark. (1980) yapmış oldukları diğer bir çalışmalarında, germ free sıçanları laktat dehidrojenaz eksikliği olan mutant *S. mutans* ile infekte ettikten sonra *S. mutans* kolonizasyonunun sağlanması için gerekli olan minimal enfeksiyon dozununun 10-10000 kat arttığı bildirilmiştir (310).

Geçmişte sıçanlarda *S. mutans* ve çürük üzerine yapılan çalışmalarda çoğunlukla çürüğün etiyojisiyle ilgili araştırmalar yapılmışken, günümüzde ve yakın geçmişte çürük üzerine yapılan çalışmalar daha spesifik konularda yapılmaktadır.

Koo ve ark. (2005), propolis içerisinde bulunan apigenin ve tt-farnesol maddelerinin biyofilm ve diş çürükleri üzerine etkilerini sıçanlarda araştırmışlardır. 21 günlük sıçanlar *S. mutans* UA159 ile infekte edilmiş ve diyet 2000 ve %5 sukroz ile

beslenmeleri sağlanmıştır. Sıçanlar gruplara ayrılarak, apigenin, farnesol, klorheksidin ve florid ayrı ayrı ve birlikte topikal olarak sıçanların dişlerine uygulanmıştır. Apigenin, farnesol ve floridin birlikte uygulandığı grubun, sıçanlarda çürük gelişiminin önlenmesinde etkisinin yüksek olduğu bildirilmiştir (311).

Koo ve ark. (2010), kızılık meyvesinin diş çürüğü gelişimi üzerindeki etkisini sıçanlar üzerinde araştırmışlardır. Sıçanlar 14 ve 15 günlükken *S. mutans* UA159 ile infekte edilmişlerdir. Diyet 2000 ve %5 sukroz içeren su ile beslenen sıçanlar gruplara ayrılarak, 5 hafta boyunca bir gruba kızılık içerisinde bulunan proantosiyanidin maddesi topikal olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak, proantosiyanidin maddesinin, kontrol grubuna oranla, biyofilm oluşumunu ve çürük gelişimini azalttığı bildirilmiştir (312).

Fujinami ve ark. (2011), pasif olarak sigara dumanına maruz kalmanın diş çürükleri üzerindeki etkisini sıçanlar üzerinde araştırmışlardır. *S. mutans* MT8148 inokule edilen, karyojenik diyet ve yüksek miktar sukroz (%10) içeren su ile beslenen sıçanlar sigara dumanına maruz bırakılarak, tükürük akış hızları, tükürük *S. mutans* değerleri ve büyük azı dişlerinde oluşan çürük boyutu açısından incelenmişlerdir. Araştırmanın sonucunda, sigara dumanına maruz kalan sıçanların kontrol grubundaki sıçanlara göre daha az kilo aldığı, tükürük akış hızı, tükürük *S. mutans* değerlerinde istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı bildirilmiştir. Dumandan etkilenen sıçanların büyük azı dişlerindeki çürük genişliğinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (313).

Tanzer ve ark. (2012), *S. gordonii* ve *S. mutans* bakterilerinin sıçanlar üzerinde kolonizasyonunu ve birbirleriyle olan ilişkilerini incelemişlerdir. *S. gordonii* bakterisinin *S. mutans* ile yer değiştirip değiştiremeyeceği araştırılmıştır. Sükroz içerikli diyet varlığı ve yokluğunun bakteri kolonizasyonuna etkisi incelenmiştir. Sıçanlara, *S. gordonii* inokulasyonu, *S. mutans* ile aynı anda, *S. mutans* kolonizasyonu öncesi ve sonrasında yapılmıştır. Ayrıca, *S. mutans* inokulasyonu, *S. gordonii* ile aynı anda, *S. gordonii* kolonizasyonu öncesi ve sonrasında yapılmıştır. Sonuç olarak, tüm koşullarda *S. gordonii*' nin plak biyofilminde *S. mutans* ile yarışmadığı, *S. mutans* kolonizasyonu üstünlüğünün sükroz içerikli diyet varlığı ve yokluğunda değişmediği bildirilmiştir. Ancak, sükroz içerikli beslenen sıçanların dişlerinde daha fazla çürük

lezyonu oluştuğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, *S. gordonii*' nin çürüklere karşı yer değiştirme terapisine uygun bir bakteri olmadığını belirtmişlerdir (314).

## 7. SONUÇLAR

1. Kontrol grubunda *S. mutans* sayısının 3. ve 4. aylarda artış gösterdiği, 5. aydan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür.
2. Probiyotik I grubunda ilk *S.mutans* inokülasyonu ardından 3.ayda verilen *L. reuteri* suşu 4. ve 5. aylarda düzeyini arttırarak ağız içinde kolonize olmuştur. *S. mutans* seviyeleri ise Kontrol grubuna paralel olarak azalmıştır.
3. Probiyotik I grubunda *S.mutans* kolonizasyonuna karşın *L. reuteri* kolonizasyonu gerçekleşmiştir. *S.mutans* seviyesindeki azalma ise Kontrol grubuna paralellik gösterdiğinden *S. mutans* seviyesindeki azalmanın *L. reuteri* kolonizasyonuna bağlı olmadığı düşünülmektedir.
4. Probiyotik II grubunda ilk *L. reuteri* inokülasyonu ardından 3.ayda *S.mutans* verilen ağızlarda *L. reuteri* kolonize olmuş ve kolonizasyonu 4. ve 5. aylarda arttırarak sürmüştür. *S. mutans* seviyesi 4.ayda Kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede başlamış ancak 5.ayda sıfırlanmıştır.
5. Probiyotik II grubunda *S.mutans* seviyesinin hızlı sonlanması *L. reuteri*'nin ilk inokülasyon suşu olarak erken kolonizasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir.



## 8. KAYNAKLAR

- 1- Patil Mb, Reddy N. Bacteriotherapy and probiotics in dentistry. *KSDJ*, 2: 98-102, 2006.
2. Metchnikoff E. The prolongation of life. Optimistic studies. London: Butter-worth-Heinemann. 1907.
3. Olmez S, Turgut MD. Diş çürüğünün önlenmesinde Pre- ve Probiyotikler. *Katkı Pediatri Dergi*, 26 (Özel sayı): 309-314, 2004.
4. Guarner F, Perdigon G, Corthier G, Salminen S, Koletzko B, Morelli L. Should yoghurt cultures be considered probiotic? *Br J Nutr*, 93(6):783-6, 2005.
5. Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol*, 37: 42-47, 2003.
6. Adair MS. Epidemiology and mechanisms of dental disease in children. In: Pinkham, J.R. *Pediatric Dentistry Infancy Through Adolescence*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter 2: 9-14, 1988.
7. Van Winkelhoff AJ, Herrera GD, Winkel EG, Delleijn-Kippuw N, Vandembroucke Grauls CM, Sanz M. J. Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *Clin Periodontol*, 27: 79–86, 2000.
8. Huovinen P. Bacteriotherapy: The time has come. *Br Med J*, 323: 353–354, 2001.
9. Carson CF, Riley TV. Non-antibiotic therapies for infectious diseases. *Commun Dis Intell*, 27: 143–146, 2003.
10. Gorbach SL. Probiotics in the third millennium. *Dig Liver Dis*, 34: 2–7, 2002.
11. Meurman JH. Probiotics do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci*, 113: 188–196, 2005.

12. Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol*, 2: 27–42, 2001.
13. Guidance document the use of probiotic microorganisms in food. Food Directorate Health Products and Food Branch, Health Canada, 2009.
14. Barrenetxe J, Aranguren P, Grijalba A, Martnez-Peuela M, Marzo F, Urdaneta E. Modulation of gastrointestinal physiology through probiotic strains of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*. *An Sist Sanit Navar*, 29: 337-47, 2006.
15. 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 App Microbiol*, 100: 754–764, 2006.
16. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000*; 48: 111–147, 2008.
17. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, 125: 1401-1412, 1995.
18. Bengmark S. Pre-, pro- and synbiotics. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 4: 571-579, 2001.
19. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet*, 360: 512-519. 2003.
20. Gibson GR. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clin Nutr*, 1: 25-31, 2004.
21. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis*, 11:131-137, 2005.
22. De Vrese M, Marteau PR. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. *J Nutr*, 137: 803-811, 2007.
23. Salvini F, Granieri L, Gemmellaro L, Giovannini M. Probiotics, prebiotics and child health: where are we going? *J. Int. Med. Res*, 2004.

24. Bodera P. Influence of prebiotics on the human immune system (GALT). *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 2: 149-153, 2008.
25. Gibson GR, Beatty EB, Wang X. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterol*, 108: 975–982, 1995.
26. Guigoz Y, Rochat F, Perruisseau-Carrier G. Effects of oligosaccharide on the faecal flora and nonspecific immune system in the elderly people. *Nutr Res*, 22:13-25, 2002.
27. Izzo MT. Inulin and oligofructose in functional confections. *Int Dent J*, 82: 8, 79-80, 2001.
28. Williams CH, Witherly SA, Buddington RK. Influence of dietary neo sugar on selected bacterial groups of the human faecal microbiota. *Microb Ecol Health Dis*, 7: 91–97, 1994.
29. Stahl B, Thurl S, Zeng J, Karas M, Hillenkamp F, Steup M, Sawatzki G. Oligosaccharides from human milk as revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Anal Biochem*, 223: 218–226, 1994.
30. Veereman G. Pediatric Applications of Inulin and Oligofructose. *J Nutr*, 137: 2585-2589, 2007.
31. Ötleş S, Çağındı Ö, Akçiçek E. Probiotics and health. *Asian Pacific*, 2003.
32. Hill HS, Guarner F. Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad Med J*, 80: 516-526, 2004.
33. Isolauri E, Salminen S, Ouwehand AC. Probiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 18: 299-313, 2004.
34. Hamilton-Miller JMT, Gibson GR, Bruck W. Some insight into the derivation and early uses of the word probiotic. *Brit Nutr*, 90: 845, 2003.
35. Kollath W. The increase of the diseases of civilization and their prevention. *Munch Med Wochenschr*, 95: 1260-1262, 1953.

36. Kosikowski F, Mistry VV. Cheese and fermented milk foods Origins and principles, Vol. 1. Westport, CT, USA: F V Kosikowski Llc. pp. 87–108, 1997.
37. Vasiljevic T, Shah NP. Probiotics from Metchnikoff to bioactives. *Int. Dairy J*, 18:714– 728, 2008.
38. Escherich T. Die darmbakterien des neugeborenen und sauglings. *Fortschritte der Medizin*, 3: 515–522, 1885.
39. Metchnikoff E. Lactic acid as inhibiting intestinal putrefactions. In: Metchnikoff E, Mitchell PC, editors. *The prolongation of life; optimistic studies*. W. Heinemann, pp.161 183, London, United Kingdom, 1907.
40. Carre C. Ueber Antagonisten unter den Bacterien. *Correspondenz-Blatt fuer Schweizer Aerzte*, 17: 385- 392, 1887.
41. Moro E. Morphologische und biologische untersuchung uber dei darmbakterien des sauglings. *J Kinder Phy Erziehung*, 61: 687–734, 1905.
42. Tissier H. Traitement des infections intestinales par la me'thode de la flore bacterienne de l'intestin. *C R Soc Biol Paris*; 60: 359–361, 1906.
43. Tissier H. Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourrisson pp. 1–253. The'se, Paris, France, 1900.
44. Moro E. Uber den Bacillus acidophilus. *J Kinder Phy Erziehung*, 52: 38–55, 1900.
45. Tissier H. Recherches sur la flore intestinale normale des enfants ages d'un an a cin ans. *Annales de l'Institute Pasteur*; 22: 189–207, 1908.
46. De Vrese M, Schrezenmeir J. Pro-, pre- and synbiotics *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 111: 1-66, 2008.
47. Grigoroff S. Etude sur un lait fermente comestible. Le Kisselo-mleko'' de Bulgarie. *Revue Med Suisse Romande* 25: 714–720, 1905.
48. Rettger LF, Horton GD. A comparative study of the intestinal flora of white rats kept on experimental and ordinary mixed diets. *Zent Bakt Parasit*, 73:362–372, 1914.

49. Rettger LF, Cheplin HA. The transformation of the intestinal flora, with special reference to the implantation of *Bacillus acidophilus*. I. Feeding experiments with albino rats. *Pro Nat Aca Sci USA*, 6: 423–426, 1920.
50. Rettger LF, Cheplin HA. The transformation of the intestinal flora, with special reference to the implantation of *Bacillus acidophilus*. II. Feeding experiments on man. *Pro Nat Aca Sci USA*, 6: 704–705, 1920.
51. Burke A. Practical manufacture of cultured milk and kindred products. Olsen Publishing Co, Milwaukee, WI, USA, 1938.
52. *Lactobacillus cases* strain Shirota. Yakult Central Institute for Microbiological Research. Yakult Honsha Company Ltd, Tokyo, Japan, 1998.
53. Florey HW. The use of microorganisms for therapeutic purposes. *Yale J Biol Med*, 19: 101–117, 1946.
54. Vergin F. Anti- und Probiotika. *Hippokrates*, 25: 116–119, 1954.
55. Kolb H. Die Behandlung acuter infekte unter dem gesichtswinkel der prophylaxe chronischer leiden. Uber die behandlung mit physiologischen bakterien. *Microecol Therapy*, 1: 15–19, 1955.
56. Sperti, GS. Probiotics. pp 121. Avi Publishing Co. Westpoint, CT, USA, 1971.
57. Fujii A, Cook ES. Probiotics. Antistaphylococcal and antifibrinolytic activities of omega-guanidine acids and omega-guanidinoacyl-L-histidines. *J Med Chem*, 16: 1409–1411, 1973.
58. Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*, 29: 4–8, 1974.
59. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*, 66: 365–378, 1989.
60. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.

61. De Morais MB, Jacob CMA. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice . *J Pediatr*, 82: 189-197, 2006.
62. Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombout FM, Beynen AC. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics-A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol*, 96: 219– 233, 2004.
63. Perdigon G, Nader de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holgado. Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *J Dairy Res*, 57: 255–264, 1990.
64. Zoppi G, Cinquetti M, Benini A, Bonamini E, Minelli EB, Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone. *Curr Ther Res*, 62: 418– 35, 2001.
65. Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *J Am Diet Assoc*, 101: 229-238, 2001.
66. Ouwehand A, Salminen S, Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 279-289, 2002.
67. Young RJ, Huffman S. Probiotic use in children. *J Pediatr Health Care*, 17: 277-283, 2003.
68. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect*, 11: 958-966, 2005.
69. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis*, 13: 443-451, 2007.
70. Santosa S, Farnworth E, Jones PJ. Probiotics and their potential health claims. *Nutr Rev*, 64(6):265-74, 2006.
71. Doron S, Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 4(2):261-75. Review, 2006.

72. Juntunen M, Kirjavainen PV, Ouwehand AC, Salminen SJ, Isolauri E. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. *Clin Diagn Lab Immunol*, 8: 293-296, 2001.
73. Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis*, 32(11):1567-76, 2001.
74. Gionchetti P, Lammers KM, Rizzello F, Campieri M. VSL#3: an analysis of basic and clinical contributions in probiotic therapeutics. *Gastroenterol Clin North Am*, 34: 499-513, 2005.
75. Talarico TL, Dobrogosz WJ. Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob Agents Chemother*, 33(5):674-679. 1989.
76. Cleusix V, Lacroix C, Vollenweider S, Le Blay G. Glycerol induces reuterin production and decreases *Escherichia coli* population in an in vitro model of colonic fermentation with immobilized human feces. *FEMS microbiology ecology*, 63(1):56-64, 2008.
77. Olivares M, Diaz-Ropero M.P, Martin R, Rodriguez JM, Xaus J. Antimicrobial potential of four *Lactobacillus* strains isolated from breast milk. *J App Microbiol*, 101: 72-79, 2006.
78. Spinler JK, Taweechotipatr M, Rognerud CL, Ou CN, Tumwasorn S, Versalovic J. Human-derived probiotic *Lactobacillus reuteri* demonstrate antimicrobial activities targeting diverse enteric bacterial pathogens. *Aerobe*, 14(3):166-71, 2008.
79. Abrahamsson TR, Sinkiewicz G, Jakobsson T, Fredrikson M, Björkstén B. Probiotic lactobacilli in breast milk and infant stool in relation to oral intake during the first year of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 49(3):349-54, 2009.
80. Connolly E. *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730; a clinically proven probiotic. *Nutrafoods*, 3:15-22, 2004.
81. Bergonzelli GE, Blum S, Brüssow H, Corth sy-Theulaz I. Probiotics as a treatment strategy for gastrointestinal. *Digest*, 72: 57-68, 2005.

82. Gorbach SL. Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med*, 22: 37-41, 1990.
83. Gotz VP, Romankiewics JA, Moss J, Murray HW. Prophylaxis against ampicillin associated diarrhoea with a *Lactobacillus* preparation. *Am J Hosp Phar*, 35:754-757, 1979.
84. Lidbeck A, Edlund C, Gustafsson JA, Kager L, Nord CE. Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplements on the human oropharyngeal and intestinal microflora. *Scan J Inf Dis*, 19: 531-537, 1987.
85. Nord CE, Heimdahl A, Kager L. Antimicrobial induced alterations of the human oropharyngeal and intestinal microflora. *Scand J Inf Dis*, 49: 64-72, 1986.
86. Steffen R, van der Linde F, Gyr K, Schar M. Epidemiology of diarrhoea in travelers. *J Am Med Association*, 249: 1176-1180, 1983.
87. Borchers AT, Semli C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol*, 44: 26-46, 2009.
88. Hedge DD, Strain JD, Heins JR, Farver DK. New advances in the treatment of *Clostridium difficile* infection (CDI). *Ther Clin Risk Manag*, 4: 949-964, 2008.
89. Coudeyras S, Jugie G, Vermerie M, Forestier C. Adhesion of human probiotic *Lactobacillus rhamnosus* to cervical and vaginal cells and interaction with vaginosis-associated pathogens. *Infect Dis Obstet Gynecol*: 549640, 2008.
90. Devillard E, Burton P, Reid G. Complexity of vaginal microflora as analyzed by PCR denaturing gradient gel electrophoresis in a patient with recurrent bacterial vaginosis. *Inf Dis Obs Gyn*, 13: 25-30, 2005.
91. Strus M, Kucharska A, Kukla G, Brzychczy-Wloch M, Maresz K, Heczko PB. The in vitro activity of vaginal *Lactobacillus* with probiotic properties against candida. *Inf Dis ObstGynecol*, 13: 69-75, 2005.
92. Christensen U, Haagerup A, Binderup HG, Vestbo J, Kruse TA, Borglum AD. Family based association analysis of the IL2 and IL15 genes in allergic disorders. *Eur J Human Genetics*, 14: 227-235, 2006.



93. Hoppu U, Rinne M, Lampi A, Isolauri E. Breast milk fatty acid composition is associated with development of atopic dermatitis in the infant. *J Pediatric Gastroenterol Nutr*, 41:335–338, 2005.
94. Infante PD, Redecillas FS, Torrent VA, Segarra CO, Maldonado SM, Gartner TL, Hidalgo AE. Improvement of intestinal function in cystic fibrosis patients using probiotics. *An Pediatr (Barc)*, 69: 501-505, 2008.
95. Brzozowski T, Konturek PC, Mierzwa M, Drozdowicz D, Bielanski W, Kwiecien S, Konturek SJ, Stachura J, Pawlik WH, Hahn EG. Effect of probiotics and triple eradication therapy on the Cyclooxygenase (COX)-2 expression, apoptosis, and functional gastric mucosal impairment in *Helicobacter pylori* -infected Mongolian gerbils. *Helicobacter*, 11 : 10–20, 2006.
96. Mego M, Májek J, Konceková R, Ebringer L, Cierniková S, Rauko P, Kovác M, Trupl J, Slezák P, Zajac V. Intramucosal bacteria in colon cancer and their elimination by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 with organic selenium. *Folia Microbiol (Praha)*, 50: 443-447, 2005.
97. Brenner DM , Moeller MJ , Chey WD, Schoenfeld PS. The Utility of Probiotics in the Treatment of Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review. *Am J Gastroenterol*, 104:1033–1049, 2009.
98. Hütt P, Shchepetova J, Loivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *J App Microbiol*, 100: 1324–1332, 2006.
99. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatr*, 122: 8-12, 2008.
100. Allen SJ, Jordan S, Storey M, Thornton CA, Gravenor M, Garaiova I, Plummer SF, Wang D, Morgan G. Dietary supplementation with lactobacilli and bifidobacteria is well tolerated and not associated with adverse events during late pregnancy and early infancy. *J Nutr*, 140: 483-488, 2010.

101. Chou I, Kuo H, Chang J, Wu S. Lack of effects of oral probiotics on growth and neurodevelopmental outcomes in preterm very low birth weight infants. *J Pediatr*, 156: 393-396, 2010.
102. Bolton M, Van Der Straten A, Caig R. Cohen. Probiotics: Potential to Prevent HIV and Sexually Transmitted Infections in Women. *Sexually Transmitted Diseases*; 35(3): 214–25, 2008.
103. Aihara K, Kajimoto O, Hirata H, Takahashi R, Nakamura Y. Effect of powdered fermented milk with *Lactobacillus helveticus* on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. *J Am Coll Nutr*; 24: 257–65, 2005.
104. Jauhiainen M, Verbeek J, Salmi J, Pasternack I, Laamanen I, Schaafsma F, Hulshof C, van Dijk FA. Search strategy for occupational health intervention studies. *Occup Environ Med*, 62: 682–687, 2005.
105. 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*, 103: 253–258, 1995.
106. Busscher HJ, Mulder AF, Van der Mei CH. In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by lactobacilli from a bio-yogurt. *Caries Res*, 33: 403–404, 1999.
107. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res*, 35:412–420, 2001.
108. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol*, 183:3770-3783, 2001.
109. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol*, 47: 799–804, 2002.

110. Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, Paster BJ. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol*, 41: 558-563, 2003.
111. Dahlen G. Bacterial infections of the oral mucosa. *Perio 2000*, 49:13–38, 2009.
112. Caglar E, Sandallı N. Probiyotiklerin Diş Sağlığı Üzerine Etkileri. *Turk Orth*, 18:287-292, 2005.
113. Caglar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu 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*, 63: 317-320, 2005.
114. Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli 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*, 64: 314-318, 2006.
115. Caglar E, Kavaloglu SC, Kuscu OO, Sandalli N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Invest*, 11: 425-429, 2007.
116. Caglar E, Kuscu OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Int J Paed Dent*, 18: 35–39, 2008.
117. Caglar E, Kuscu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli 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*, 66:154-158, 2008.
118. Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int J Paediatr Dent*, 19: 377-381, 2009.
119. Cildir SK, Germec D, Caglar E, Sandalli N, Twetman S, Ozdemir FI, Arun T. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily

- consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *Eur J Orthod*, 31: 407-411, 2009.
120. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent*, 18: 3–10, 2008.
121. Lee YK, Salminen S. The coming of age of probiotics. *Trends Food Sci Technol*, 6: 241–245, 1995.
122. Gibson CA, Landerkin GB, Morse PM. Survival of strains of lactic streptococci during freezing storage. *J Dairy Res*, 32: 151–156, 1965.
123. Smittle RB, Gilliland SE, Speck ML, Walter Jr, WM. Relationship of cellular fatty acid composition to survival of *Lactobacillus bulgaricus* in liquid nitrogen. *App Microbiol*, 27: 738–743, 1974.
124. Thunell RK, Sandine E, Bodyfelt FW. Frozen starters from internal-pH-control-grown cultures. *J Dairy Sci*, 67: 24–36, 1984.
125. Foschino R, Beretta C, Ottogalli G. Studio delle condizioni ottimali di congelamento e scongelamento di colture lattiche termofile. *L'industria del Latte*, 28: 49–67, 1992.
126. Twetman S. Treatment protocols: nonfluoride management of the caries disease process and available diagnostics. *Dent Clin North Am*, Jul, 54(3):527-40, 2010.
127. Salminen MK, Tynkkynen S, Rautelin H, Saxelin M, Vaara M, Ruutu P, Sarna S, Valtonen V, Jarvinen A. *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clin Infect Dis*, 35: 1155-1160, 2002.
128. Snyderman DR. The Safety of Probiotics. *Clin Infect Dis*, 46: 104–11, 2008.
129. Salminen S, von Wright A, Morelli L. Demonstration of safety of probiotics a review. *Int J Food Microbiol*, 44: 93–106, 1998.
130. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr*, 73: 465–470, 2001.

131. Reid G. Safety of lactobacillus strains as probiotic agents. *Clin Infect Dis*, 35: 349–350, 2002.
132. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*, 83: 1256–1264, 2006.
133. Henriksson A, Borody T, Clancy R. Probiotics under the regulatory microscope. *Expert Opin Drug Saf*, 4:1135–1143, 2005.
134. Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol*, 84: 197–215, 2000.
135. Kirjavainen PV, Tuomola EM, Crittenden RG. In vitro adhesion and platelet aggregation properties of bacteremia-associated lactobacilli. *Infect Immun*, 67: 2653–2655, 1999.
136. Yamazaki S, Machii K, Tsuyuki S, Momose H, Kawashima T, Ueda K. Immunological responses to monoassociated *Bifidobacterium longum* and their relation to prevention of bacterial invasion. *Immunol*, 56: 43–50, 1985.
137. McNaught CE, Woodcock NP, MacFie J, Mitchell CJ. A prospective randomised study of the probiotic *Lactobacillus plantarum* 299V on indices of gut barrier function in elective surgical patients. *Gut*, 51: 827–831, 2002.
138. Richard V, Van Der Auwera P, Snoeck R, Daneau D, Meunier F. Nosocomial bacteremia caused by *Bacillus* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 7: 783–785, 1988.
139. Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*. *J Clin Microbiol*, 36: 325–326, 1998.
140. Kunz AN, Noel JM, Fairchok MP. Two cases of *Lactobacillus* bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 38: 457–458, 2004.

141. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danzinger LH. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 24: 31–40, 2005.
142. Vesterlund S, Paltta J, Karp M, Ouwehand AC. Adhesion of bacteria to resected human colonic tissue: quantitative analysis of bacterial adhesion and viability. *Res Microbiol*, 156: 238–244, 2005.
143. Husni RN, Gordon SM, Washington JA, Longworth DL. *Lactobacillus* bacteremia and endocarditis review of 45 cases. *Clin Infect Dis*, 25: 1048–1055, 1997.
144. Ishihara K, Miyakawa H, Hasegawa A, Takazoel I, Kawai Y. Growth inhibition of *Streptococcus mutans* by cellular extracts of human intestinal lactic acid bacteria. *Infect Immun*, 49: 692-694, 1985.
145. 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*, 79: 261-267, 2004.
146. Makelainen H, Tahvonen R, Salminen S, Ouwehand AC. In vivo safety assessment of two *Bifidobacterium longum* strains. *Microbiol. Immunol*, 47: 911-914, 2003.
147. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc*, 75: 585-590, 2009.
148. Natural medicines comprehensive database. *Lactobacillus* monograph. [www.Naturaldatabase.com](http://www.Naturaldatabase.com).
149. Natural medicines comprehensive database. *bifidobacteria* monograph. [www.Naturaldatabase.com](http://www.Naturaldatabase.com).
150. Natural medicines comprehensive database. *Saccharomyces boullardi* monograph. [www.Naturaldatabase.com](http://www.Naturaldatabase.com).
151. Kligler B, Cohrssen A. Probiotics. *Am Fam Physician*, 1;78(9):1073-8, 2008.

152. Muñoz P, Bouza E, Cuenca-Estrella M, Eiros JM, Pérez MJ, Sánchez-Somolinos M, Rincón C, Hortal J, Peláez T. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clin Infect Dis*, 1,40(11):1625-34, 2005.
153. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet*, 15, 344(8929):1046-9, 1994.
154. Antoine JM. Probiotics: beneficial factors of the defence system. *Proc Nutr Soc*, 69: 429-433, 2010.
155. Ouwehand AC, Isolauri E, Salminen S. The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. *Eur J Nutr*, 41:132-137, 2002.
156. Ouwehand AC, Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen SJ. Adhesion of four *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus from subjects in different age groups. *Fems Microbiol Lett*, 172: 61-64, 1999.
157. Reid G. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *Am J Clin Nutr*, 73: 437-443, 2001.
158. Mego M, Majek J, Koncekova R, Ebringer L, Ciernikova S, Rauko P, Kovac M, Trupl J, Slezak P, Zajac V. Intramucosal bacteria in colon cancer and their elimination by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 with organic selenium. *Folia Microbiol (Praha)* 50:443-447, 2005.
159. Scarpellini E, Cazzato A, Lauritano C, Gabrielli M, Lupascu A, Gerardino L, Abenavoli L, Petruzzellis C, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Probiotics: which and when? *Dig Dis*, 26(2):175-82, 2008.
160. Goldin BR, Gorbach SL. Clinical indications for probiotics: an overview. *Clin Infect Dis* 1;46 Suppl 2: 96-100. Review. 2008,

161. Cremonini F, Di Caro S, Nista EC, Bartolozzi F, Capelli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther*, 16:1461-1467, 2002.
162. Pham M, Lemberg DA, Day AS. Probiotics: sorting the evidence from the myths. *Med J Aust*.3;188(5):304-8. Review, 2008.
163. Vanderhoof JA, Young R. Probiotics in the United States. *Clin Infect Dis*.1;46 Suppl 2: 67-72, 2008.
164. MacIntyre A, Cymet TC. Probiotics: the benefits of bacterial cultures. *Compr Ther*, 31:181-5, 2005.
165. Wald A, Rakel D. Behavioral and complementary approaches for the treatment of irritable bowel syndrome. *Nutr Clin Pract*, 23(3):284-92, 2008.
166. Gluck U, Gebbers JO. Ingested probiotics reduce nasal colonization with pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, and beta-hemolytic streptococci). *Am J Clin Nutr*, 77: 517-520, 2003.
167. 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*, 107: 129-134, 2001.
168. 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*, 357: 1076-1079, 2001.
169. Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, Okamoto H, Ikenaga T, Tajiri Y, Kumemura M. Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol*, 111: 587-591, 2003.
170. Vanderhoof JA, Young RJ. Probiotics in pediatrics. *Pediatrics*, 109:956-958, 2002.
171. Hilton E, Rindos P, Isenberg HD. *Lactobacillus GG* vaginal suppositories and vaginitis. *J Clin Microbiol*, 33(5):1433, 1995.



172. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann Intern Med.* 1, 116(5):353-7, 1992.
173. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev*, 16(4):658-72. Review, 2003.
174. Min TL. Role of probiotics and probiotics in colon cancer prevention-postulated mechanism and in vivo evidence. *Int J Mol Sci*, 9:854-63, 2008.
175. Lin T. Current opinion in HIV and AIDS. 3:599-602, 2008.
176. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Mikrobiol*, 50: 513-552, 1996.
177. Bowden G, Edwardsson S. Oral ecology and dental caries. in Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of Clinical Cariology*, Munksgaard, Copenhagen, Third Edition. Chapter 3: 51-69, 1994.
178. 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*, 24: 218-223, 2009.
179. Baehni PC, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis*, 1: 23-29, 2003.
180. Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of Clinical Cariology*, Munksgaard, Copenhagen, Third Edition; Chapter 3: 51-69, 1994.
181. Bradshaw DJ, Marsh PD. Analysis of pH driven disruption of oral microbial communities in vitro. *Car Res*, 32: 456-462, 1998.
182. Lingstrom P, Van Ruyyen FO, Van Houte J, Kent R. The pH of dental plaque in its relation to early enamel caries and dental plaque flora in humans. *J Dent Res*, 79: 770-777, 2000.

183. Hale KJ. American Academy of Pediatrics Section on Pediatric Dentistry. Oral health risk assessment timing and establishment of the dental home. *Pediatrics*, 111: 1113-1116, 2003.
184. Loesche WJ, Schork A, Terpenning MS, Chen YM, Stoll J. Factors which influence levels of selected organisms in saliva of older individuals. *J Clin Microbiol*, 33: 2550–2557, 1995.
185. Lima LM, Motisuki C, Spolidorio DMP, Santos-Pinto L. In vitro evaluation of probiotics microorganisms adhesion to an artificial caries model. *Eur J Clin Nutr*, 59, 884–86, 2005.
186. Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Nase L, Saxelin M, Korpela R. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ*, 322: 1-5, 2001.
187. Petti S, Tarsitani G, D'arca AS. A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora. *Arch Oral Biol*, 46: 705-712, 2001.
188. Hojo K, Taketomo N, Ohshima T, Maeda N. Lactobacillus species isolated from the mouths of healthy subjects. 81st General Session of the International Association for Dental Research, Svenska, 2003.
189. Matsuoka T, Nakanishi M, Aiba Y, Koga Y. Mechanism of Porphyromonas gingivalis killing by Lactobacillus salivarius TI 2711. *J Jpn Soc Periodontol* 46:118-126, 2004.
190. Elsevier, London In Güzel-Seydim Z, Kök-Taş T, Greene A.K. Kefir And Koumiss: Microbiology And Technology. Development And Manufacture Of Yogurt And Other Functional Dairy Products. Yıldız, F. Crc Press, Taylor And Francis Group. 5: 143-163. Robinson R.K., Tamime A.Y. Dairy Microbiology, In The Microbiology Of Milk Products , R.K. Robinson, Ed., Vol.2, P291, 1990.
191. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, Darmawan S, Hamada T, Hara K, Matsumoto A, Takemoto T, Aimi R. Lactobacillus

- reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol*, 95: 219-223, 2004.
192. Adair SM, Xie Q. Antibacterial and probiotic approaches to caries management. *Adv Dent Res*, 21: 87-89, 2009.
193. Tsubara S, Mizunuma H, Ishikawa S, Oyake I, Okabayashi M, Katoh K, Shibata M, Iizuka T, Toda T. The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 28: 1353-1356, 2009.
194. Chuang LC, Huang CS, Ou-Yang LW, Lin S.Y. Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clin Oral Investig*, 2010.
195. Free RH, Busscher HJ, Elving GJ, Van Der Mei HC, Van Weissenbruch R, Albers FW. Biofilm formation on voice prostheses: in vitro influence of probiotics. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 110: 946-951, 2001.
196. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuuttila H. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly – a randomized controlled trial. *J Dent Res*, 86: 125–130, 2007.
197. Yli-Knuuttila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*, 21: 129–131, 2006.
198. Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, Tenovuo J. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol*, 21: 326–332, 2006.
199. 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*, 36: 850–856, 2009.
200. Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y, Shimauchi H. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 36: 506–513, 2009.

201. Kang MS, Na HS, Oh JS. Coaggregation ability of *Weissella cibaria* isolates with *Fusobacterium nucleatum* and their adhesiveness to epithelial cells FEMS. *Microbiol Lett.* 15, 253: 323-329, 2005.
202. 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*, 30: 55–60, 2006.
203. Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee HC, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol*, 33:226-32, 2006.
204. Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using *Streptococcus salivarius* probiotics. *Oral Dis*, 11 Suppl 1:29-31, 2005.
205. Köll P, Mändar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiol Immunol*, 23(2):139-47, 2008.
206. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substances from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob Agents Chemother*, 31: 1231-1233, 1987.
207. Ouwehand AC. Antimicrobial components from LAB. In: Salminen S, Wright A, eds. *Lactic acid bacteria*. Marcel Dekker Inc, New York, USA, 139–159, 1998.
208. Kato I, Yokura T, Mutai M. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Micr Immunol*, 27: 611–618, 1983.
209. Allaker RP, Douglas CWI. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimic Agents*, 33: 8–13, 2009.
210. Ostengo Mdel C, Elena Nader-Macías M. Hydroxylapatite beads as an experimental model to study the adhesion of lactic acid bacteria from the oral cavity to hard tissues. *Methods Mol Biol*, 268: 447- 452, 2004.

211. Marsh PD. Microbiological aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am*, 43: 599-614, 1999.
212. Teanpaisan R, Dahlen G. Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species. *Oral Microbiol Immunol*, 21: 79–83, 2006.
213. Colloca ME, Ahumada MC, Lopez ME, Nader-Macas ME. Surface properties of lactobacilli isolated from healthy subjects. *Oral Dis*, 6: 227-233, 2000.
214. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol*, 54: 413-437, 2000.
215. Reid G, McGroarty JA, Angotti R, Cook RL. *Lactobacillus* inhibitor production against *Escherichia coli* and coaggregation ability with uropathogens. *Can J Microbiol*, 34: 344-351, 1988.
216. Boris J, Pahlson C, Larsson PG. Six years observation after successful treatment of bacterial vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 5: 297- 302, 1997.
217. Zahradnik RT, Magnusson I, Walker C, McDonell E, Hillman CH, Hillman JD. Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of ProBiora3, a probiotic mouthwash. *J Appl Microbiol*, 107(2):682-90, 2009.
218. Pham LC, Hoogenkamp MA, Exterkate RA, Terefework Z, de Soet JJ, ten Cate JM, Crielaard W, Zaura E. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on saliva-derived microcosms. *Arch Oral Biol*, 56(2):136-47, 2010.
219. Sinkiewicz G, Cronholm S, Ljunggren L, Dahlén G, Bratthall G. Influence of dietary supplementation with *Lactobacillus reuteri* on the oral flora of healthy subjects. *Swed Dent J*, 34(4):197-206, 2010.
220. Cogulu D, Topaloglu-Ak A, Caglar E, Sandalli N. Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. *J Dent Sci*, 5(3):144–149, 2010.

221. Caglar E, Sandalli N, Kuscu OO, Durhan MA, Pisiriciler R, Caliskan EA, Kargul B. Viability of fibroblasts in a novel probiotic storage media. *Dent Traumatol*, 26(6):532, 2010.
222. Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli--an in vitro study. *BMC Oral Health*, 10:18, 2010.
223. Harini PM, Aneundi RT. Efficacy of a probiotic and chlorhexidine mouth rinses: a short-term clinical study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 28(3):179-82, 2010.
224. Singh RP, Damle SG, Chawla A. Salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb12 and *Lactobacillus acidophilus* La5. *Acta Odontol Scand*, 69(6):389-94, 2011.
225. Petersson LG, Magnusson K, Hakestam U, Baigi A, Twetman S. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. *Acta Odontol Scand*, 69(6):321-7, 2011.
226. Aminabadi NA, Erfanparast L, Ebrahimi A, Oskouei SG. Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli probiotic in six- to twelve-year-old children: a randomized controlled trial. *Caries Res*, 45(2):148-54, 2011.
227. Keller MK, Hasslöf P, Stecksén-Blicks C, Twetman S. Co-aggregation and growth inhibition of probiotic lactobacilli and clinical isolates of mutans streptococci: an in vitro study. *Acta Odontol Scand*, 69(5):263-8, 2011.
228. Cildir SK, Sandalli N, Nazli S, Alp F, Caglar E. A novel delivery system of probiotic drop and its effect on dental caries risk factors in cleft lip/palate children. *Cleft Palate Craniofac J*, 49(3):369-72, 2011.
229. Shen D, Zhu Y, Hao Y, Lu J. Polymerase chain reaction detection of *Lactobacillus acidophilus* in human oral cavity and fecal samples after 2-week consumption of yoghurt. *Acta Odontol Scand*, 69(1):27-32, 2011.

230. Marttinen A, Haukioja A, Karjalainen S, Nylund L, Satokari R, Ohman C, Holgerson P, Twetman S, Söderling E. Short-term consumption of probiotic lactobacilli has no effect on acid production of supragingival plaque. *Clin Oral Investig*, 16(3):797-803, 2012.
231. Ravn I, Dige I, Meyer RL, Nyvad B. Colonization of the oral cavity by probiotic bacteria. *Caries Res*, 46(2):107-12, 2012.
232. Keller MK, Hasslöf P, Dahlén G, Stecksén-Blicks C, Twetman S. Probiotic supplements (*Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and ATCC PTA 5289) do not affect regrowth of mutans streptococci after full-mouth disinfection with chlorhexidine: a randomized controlled multicenter trial. *Caries Res*, 46(2):140-6, 2012.
233. Çalıkocaoğlu S, Koçak G, Güvener Z, Ang I. Protez kullanmaya başlayan hastaların aerop ağız florasının incelenmesi. *İ.Ü. Diş Hek. Fak. Derg*, 9, 1975.
234. Anuğ Ö. Ağız Mikrobiyolojisi. *İ.Ü. Diş. Hek. Fak. Yayınları*, 1977.
235. Erten H. Tükürüğün ağız-dis sağlığı bakımından önemi ve koruyucu fonksiyonları. *GÜ Dishek Fak Derg*, 20: 61-5, 2003.
236. Mandel ID. Functions of saliva. *J Dent Res*, 66: 623-627, 1987.
237. Wolff MS, Larson C. The cariogenic dental biofilm: good, bad or just something to control? *Braz Oral Res*, 23: 31-38, 2009.
238. Acevedo AC. Saliva and oral health. *Rev Assoc Med Bras*, 56: 1-9, 2010.
239. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol*, 30: 7-9, 2003.
240. Rudney JD. Saliva and dental plaque. *Adv Dent Res*, 14 :29-39, 2000.
241. Straetemans MM, van Loveren C, de Soet JJ, de Graaff J, ten Cate JM. Colonization with mutans streptococci and lactobacilli and the caries experience of children after the age of five. *J Dent Res*, 77: 1851-1855, 1998.

242. Ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology*, 94: 1-9, 2006.
243. Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64: 847-67, 2000.
244. Godoy GF, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel and remineralization preventive agents in enamel demineralization surface: The role of dental biofilm, saliva and remineralization. *J Am Dent Assoc*, 139: 25-34, 2008.
245. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res*, 17: 68-81, 2006.
246. Altun HU, Sener B. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39: 82-8, 2008.
247. Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, Walls AW. In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. *Eur J Oral Sci*, 114: 243-9, 2006.
248. Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *JADA*, 137: 10-5, 2006.
249. Thurnheer T, Ploeg JR, Giertsen E, Guggenheim B. Effects of *Streptococcus mutans* gtfC deficiency on mixed oral biofilms in vitro. *Caries Res*, 40: 163-71, 2006.
250. Bothwell MR, Smith AL, Phillips T. Recalcitrant otorhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 129: 599-60, 2003.
251. Allaker P, Douglas CW. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *International Journal Antimicrobial Agents*, 33: 8-13, 2009.
252. Aydın M. Mikrobiyal biyofilmler ve aeroseller. İçinde Cengiz: AT. Tıp ve Dis Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Günes kitapevi Ltd. Sti.; 176-179, 2004.
253. Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. *Adv Dent Res*, 9: 244-54, 1995.



254. Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol*, 11: 94-100, 2003.
255. Müller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci*, 115: 77–80, 2007.
256. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ*;83(9):661-9, 2005.
257. Baysan A, Lynch E, Grootveld M. The use of ozone for the management of primary root carious lesions. *Tissue Preservation and Caries Treatment*. IL: Quintessence Book, 2001.
258. Bagg J, Mac Farlane TW, Poxton IR, Miller CH, Smith AJ, *Essentials of Microbiology for Dental Students*. Oxford Publishing, London. pp.252-253, 2003.
259. Coykendall AL. Proposal to elevate the subspecies of *Streptococcus mutans* to species status, based on their molecular composition. *Int J Sys. Bacteriol*, 27: 26-30, 1977.
260. Law V, Seow WK, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Aust Dent J*, 52: 93-100, 2007.
261. Banas JA, Vickerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14: 89-99, 2003.
262. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*, 8: 263-271, 1994.
263. Van Houte J. Role of Microorganisms in Caries Etiology. *J Dent. Res*, 73:672-681, 1994.
264. Marsh P, Martin M. *Oral microbiology*. Fourth ed. Chapman&Hall, London, United Kingdom, 1997.

265. Seppa L, Luoma H, Forss H, Spets-Happonen S, Markkanen S, Pelkonen K. Invasion of streptococcus mutans and lactobacillus salivarius in early caries lesions in gnabiotic rats. *Caries Res*, 23: 371-374, 1989.
266. Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. *Microbial Rev*, 50: 353-380, 1986.
267. Socransky SS, Manganiello SD. The oral microbiota of man from birth to senility. *J Periodontol*, 42:485-96, 1971.
268. Köll-Klais P, Mändar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol*, 20(6):354-61, 2005.
269. Toi CS, Mogodiri R, Cleaton-Jones PE. Mutans streptococci and lactobacilli on healthy and carious teeth in the same mouth of children with and without dental caries. *Mic Ecol Health Dis*, 12: 35-41, 2000.
270. Nikiforuk G. Formation structure and metabolism of dental plaque, understanding dental caries, 1.Etiology and mechanisms. Basic and clinical aspects. pp. 119-157, Karger, Switzerland, 1985.
271. Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi, Laboratuvar Hayvanları Kursu Ders Notları, 2010.
272. Gold OG, Jordan HV, van Haute J. A selective medium for Streptococcus mutans. *Arch Oral Biol*, 18: 1357-64, 1973.
273. Campus G, Cagetti MG, Sacco G, Solinas G, Mastroberardino S, Lingstrom P. Six months of daily high-dose xylitol in high-risk schoolchildren: a randomized clinical trial on plaque pH and salivary mutans streptococci. *Car Res*, 43: 455-461, 2009.
274. Becker MR , Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*, 40: 1001-1009, 2002.

275. Beyar İ. Anneden bebeğe aktarılan çürük oluşturuucu bakterilerin bebeğin ağız sağlığına etkileri. G.Ü. Dişhek. Fak. Derg, 20: 57-63, 2003.
276. Zero DT, Fontana M, Martinez-Mier EA, Ferreira-Zandona A, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Bayne S. The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries: scientific advances in the United States. J Am Dent Assoc, 140: 25-34, 2009.
277. Makinen KK. Sugar alcohols, caries incidence, and remineralization of caries lesions: a literature review. Int J Dent, 981072, 2010.
278. Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser J-R. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. Eur J Oral Sci, 110: 218–224, 2002.
279. Wei H, Loimaranta V, Tenovuo J. Stability and activity of specific antibodies against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* strain GG or treated at ultra-high temperature. Oral Microbiol Immuno, 17: 9-15, 2002.
280. Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, Santoro L, Cuoco L, Manna R, Gasbarrini G. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. Digest, 69: 53–56, 2004.
281. Köll P, Mandar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarstrom L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. Oral Microbiol Immunol, 23: 139–147, 2008.
282. Tanzer JM, Thompson A, Lang C, Cooper B, Hareng L, Gamer A, Reindl A, Pompejus M. Caries inhibition by and safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671. J Dent Res, 89(9):921-6, 2010.
283. Tahmourespour A, Kermanshahi RK. The effect of a probiotic strain (*Lactobacillus acidophilus*) on the plaque formation of oral *Streptococci*. Bosn J Basic Med Sci, 11(1):37-40, 2011.

284. Taipale T, Pienihäkkinen K, Salminen S, Jokela J, Söderling E. Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 administration in early childhood: a randomized clinical trial of effects on oral colonization by mutans streptococci and the probiotic. *Caries Res*, 46(1):69-77, 2012.
285. Berkowitz RJ, Turner J, Green P. Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection of infants. *Arch Oral Biol*, 26(2):147-9, 1981.
286. Söderling E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, Tenovuo J. Influence of maternal xylitol consumption on acquisition of mutans streptococci by infants. *J Dent Res*, 79(3):882-7, 2000.
287. Gripp VC, Schlagenhauf U. Prevention of early mutans streptococci transmission in infants by professional tooth cleaning and chlorhexidine varnish treatment of the mother. *Caries Res*, 36(5):366-72, 2002.
288. Haukioja A, Söderling E, Tenovuo J. Acid production from sugars and sugar alcohols by probiotic lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Caries Res*, 42(6):449-53, 2008.
289. Hedberg M, Hasslöf P, Sjöström I, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Sugar fermentation in probiotic bacteria--an in vitro study. *Oral Microbiol Immunol*, 23(6):482-5, 2008.
290. Petti S, Campus G, Lumbau A, Tarsitani G. Salivary levels of mutans streptococci associated with restorations: a case-control study. *New Microbiol*, 24(3):281-8, 2001.
291. Fitzgerald Rj, Keyes Ph. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J Am Dent Assoc*, 61:9-19. 1960.
292. Fozo EM, Scott-Anne K, Koo H, Quivey RG Jr. Role of unsaturated fatty acid biosynthesis in virulence of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun*, 75(3):1537-9. 2007.
293. Bowen WH, Pearson SK, Young DA.J. The effect of desalivation on coronal and root surface caries in rats. *Dent Res*, 67(1):21-3. 1988.

294. Koo H, Schobel B, Scott-Anne K, Watson G, Bowen WH, Cury JA, Rosalen PL, Park YK. Apigenin and tt-farnesol with fluoride effects on *S. mutans* biofilms and dental caries. *J Dent Res*. Nov, 84(11):1016-20. 2005.
295. Yamashita Y, Bowen WH, Burne RA, Kuramitsu HK. Role of the *Streptococcus mutans* gtf genes in caries induction in the specific-pathogen-free rat model. *Infect Immun*, 61(9): 3811-7. 1993.
296. Fitzgerald RJ, Jordan HV, Stanley HR. Experimental caries and gingival pathologic changes in the gnotobiotic rat. *J Dent Res* 39:923-935. 1960.
297. Hoppert CA, Webber PA, Canniff TL. The production of dental caries in rats fed an adequate diet. *Science*. 17;74(1907):77-8, 1931.
298. Stephan Rm, Fitzgerald Rj, McClure Fj, Harris Mr, Jordan H. The comparative effects of penicillin, bacitracin, chloromycetin, aureomycin, and streptomycin on experimental dental caries and on certain oral bacteria in the rat. *J Dent Res.*, 31(3):421-7. 1952.
299. Shaw Jh, Griffiths D. An automatic water supply for rodents. *J Dent Res*, 39:639, 1960.
300. McClure Fj, Folk Je. Skim milk powder and experimental rat caries. *Proc Soc Exp Biol Med*. 83(1):21-6, 1953.
301. Van Houte JH, Duchin S.. *Streptococcus mutans* in the mouths of children with congenital sucrase deficiency. *Arch Oral Biol*, 20:771-773, 1975.
302. Coykendall, A., D. Bratthall, K. O'Connor, and R. A. Dvarskas. Serological and genetic examination of some nontypical *Streptococcus mutans* strains. *Infect Immun* 14:667-670, 1976.
303. Orland Fj, Blayney Jr, Harrison Rw, Reyniers Ja, Trexler Pc, Wagner M, Gordon Ha, Luckey Td. Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms. *J Dent Res*, 33(2):147-74, 1954.

304. Gibbons RJ, Berman KS, Knoettner P and Kapsimalis B. Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with capsule forming streptococci of human origin. *Arch Oral Biol*, 11:549-560, 1966.
305. Fitzgerald RJ, Jordan HV, Archard HO. Dental caries in gnotobiotic rats infected with a variety of *Lactobacillus acidophilus*. *Arch Oral Biol*, 11(5):473-6, 1966.
306. Frostell G, Keyes PH, Larson RH. Effect of various sugars and sugar substitutes on dental caries in hamsters and rats. *J Nutr*, 93(1):65-76, 1967.
307. Tanzer JM. Essential dependence of smooth surface caries on, and augmentation of fissure caries by, sucrose and *Streptococcus mutans* infection. *Infect Immun*, 25(2):526-31, 1979.
308. 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*, 25(11-12):707-13, 1980.
309. Tanzer JM, Kurasz AB, Clive J. Competitive displacement of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by *Streptococcus salivarius* TOVE-R. *Infect Immun*, 48(1):44-50, 1985.
310. 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*, 25(11-12):707-13, 1980.
311. Koo H, Schobel B, Scott-Anne K, Watson G, Bowen WH, Cury JA, Rosalen PL, Park YK. Apigenin and tt-farnesol with fluoride effects on *S. mutans* biofilms and dental caries. *J Dent Res.*, 84(11):1016-20, 2005.
312. Koo H, Duarte S, Murata RM, Scott-Anne K, Gregoire S, Watson GE, Singh AP, Vorsa N. Influence of cranberry proanthocyanidins on formation of biofilms by *Streptococcus mutans* on saliva-coated apatitic surface and on dental caries development in vivo. *Caries Res.*, 44(2):116-26, 2010.

313. Fujinami Y, Nakano K, Ueda O, Ara T, Hattori T, Kawakami T, Wang PL. Dental caries area of rat molar expanded by cigarette smoke exposure. *Caries Res*, 45(6):561-7, 2011.

314. Tanzer JM, Thompson A, Sharma K, Vickerman MM, Haase EM, Scannapieco FA. *Streptococcus mutans* out-competes *Streptococcus gordonii* in vivo. *J Dent Res*, 91(5):513-9, 2012.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Denizli’ de doğdu. İlk öğretimini Hürriyet İlköğretim Okulunda, orta ve lise öğretimini Türk Eğitim Vakfı Anadolu Lisesi’ nde tamamladı. 2002 yılında başladığı Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ni 2008 yılında tamamladı. 2008 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalında doktora yapmaya başladı.



Ek 1. Denev Hayvanları Kullanım Sertifikası

 **YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ** 

**DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI**

**CERTIFICATE of ANIMAL USE in EXPERIMENTAL RESEARCH**

**HİHAL ÖZBEY**

Yeditepe Üniversitesi Denev Hayvanları Etik Kurulunun düzenlediği 80 saatlik Laboratuvar Hayvanları kursunu tamamlamış ve kurs sınavında başarılı olmuştur.


Has completed the 80 hours course and passed the examination in Laboratory Animal Science organized by the Animal Research Ethics Committee of Yeditepe University.

11-21 Ekim 2010/October 11-21,2010  
İstanbul, TÜRKİYE/Istanbul, TURKEY

  
Prof. Dr. M. Ece GENÇ  
Yeditepe Üniversitesi/Yeditepe University  
Denev Hayvanları Etik Kurulu Başkanı/  
Head of the Animal Research Ethics Committee

  
Prof. Dr. Nurcan BAÇ  
T.C.Yeditepe Üniversitesi Rektörü V./  
President of the Yeditepe University

## Ek 2. Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu Raporu



YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ

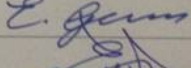
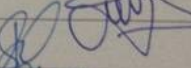
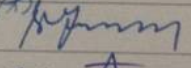
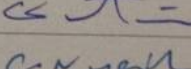
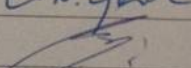
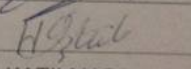
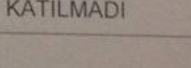

**T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU (YÜDHEK)**

**ETİK KURUL KARARI**

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
03.10.2011	213	27.09.2011 tarihli yazı	Prof.Dr.Nüket SANDALLI

**'Lactobasillus reuteri' nin oral kolonizasyonunun hayvan modeli üzerinde incelenmesi'** başlıklı bilimsel araştırma Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

**Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1Yıl**

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	
Raportör	Doç. Dr. Işıl Aksan KURNAZ	
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Üye	Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ	
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Ediz DENİZ	
Üye	Hatice ÖZTÜRK	
Üye	Semra TECÜMEN	KATILMADI