



T. C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**BİFİDOBAKTERİUM BİFİDUM DN-173 010 İÇEREN
PROBİYOTİK MEYVELİ YOĞURT TÜKETEN
ÇOCUKLARDA DENTAL PLAK VE TÜKÜRÜKTEKİ
AĞIZ-DİŞ SAĞLIĞI İLE İLGİLİ BAKTERİLERİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

**DİŞHEKİMİ
ONUR SERGER**

**DANIŞMAN
PROF. DR. NÜKET SANDALLI**

İSTANBUL – 2010

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

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

İMZA

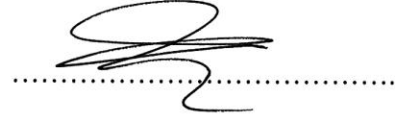
Başkan : Prof. Dr. Nüket SANDALLI
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Serap AKYÜZ
Üniversite : Marmara Üniversitesi



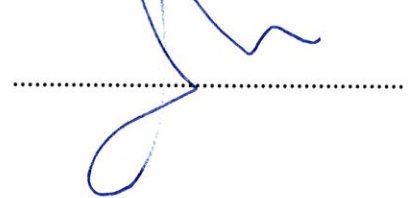
Üye : Prof. Dr. Gamze AREN
Üniversite : İstanbul Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Ali MENTEŞ
Üniversite : Marmara Üniversitesi



Üye : Yard. Doç.Dr.Eşber ÇAĞLAR
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...28.. 10.. 2010 tarih ve 21...6..sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selçuk YILMAZ
Müdür



ÖZET

Son yıllarda probiyotik ürünlerin kullanımının 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 yer değiştirme terapisi ile, konağa yararlı bakterilerden olan *Bifidobacterium bifidum* DN – 173 010 ' un çocuklarda ağız içinde ve dişlerin çevresindeki plak ve tükürük içerisinde bulunan mikroorganizmalar (m.o.) üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız için Yeditepe Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Yeditepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'na başvuran 8 – 10 yaş grubunda 60 çocuk hasta seçilmiştir. Gerekli tıbbi ve dental anamnez alındıktan sonra, herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan ve düzenli ilaç kullanmayan hastaların velilerine çalışma ile ilgili gerekli bilgi verilerek yazılı onam formu imzalatılmıştır.

Çalışmamızın gereç ve yöntemi aşağıda bildirilmiştir:

1 -) Çocuk hastalarımız rastgele dağılımla iki gruba ayrılmışlardır. Her grup için 1 hafta süresince süt ve süt ürünleri kullanımı kesildikten (wash-out = arınma süreci) sonra tükürük ve dental plak örnekleri toplanmış, pH incelenmiştir. Hastalardan toplanan örneklerin mutans streptokok (m.s.) ve laktobasil seviyeleri Dentocult® SM ve Dentocult® LB (Orion Diagnostica®, Espoo, Finlandiya) chair-side (hasta başında uygulanan) kitlerle ölçülmüştür.

2 -) Hastalardan toplanan dental plak ve tükürük örneklerinde m.s. ve laktobasil seviyelerinin belirlenmesinden sonra 2'şer hafta boyunca grupların *B. bifidum* DN–173 010 içeren meyveli yoğurt (Danone Activia® çilek meyveli, Danone®, Lüleburgaz, Türkiye) ve plasebo (çilek meyveli Danone® yoğurt, Danone®, Lüleburgaz, Türkiye) yoğurt tüketmeleri sağlanmıştır.

3 -) Günlük meyveli yoğurt tüketim miktarı 1 kup (110 g) olarak belirlenmiştir. Meyveli probiyotik yoğurt tüketen grup için günlük *B. biūdum* DN – 173 010 alım sayısı yaklaşık 1×10^{10} koloni oluşum birimi / gram (cfu / g) olarak belirlenmiştir.

4 -) İki haftalık düzenli meyveli yoğurt tüketimi sonrasında plak ve tükürük örnekleri toplanmıştır.

5 -) Bu çalışma, çapraz şekilde her iki gruba da uygulanmıştır.

6 -) Gruplar 2 haftalık wash-out periyodundan sonra yoğurtlar değiştirilerek verilmiştir. Günlük tüketim miktarlarında ve verilen probiyotik bakteri sayısında değişiklik yapılmamıştır. Aynı çalışma, gruplar değiştirilerek tekrarlanmış, gruplardaki tüm bireylerin dental plak ve tükürük örnekleri toplanmıştır. Hastalardan toplanan örneklerin dental plak ve tükürükteki m.s., tükürükteki laktobasil seviyeleri ve pH değerleri chair-side kitlerle ölçülmüştür.

7 -) İkişer haftalık düzenli meyveli yoğurt tüketimi sonrasında dental plak ve tükürük örnekleri her hastadan yeniden toplanmıştır. Meyveli probiyotik ve plasebo yoğurt tüketiminden sonra kullanım öncesi ve sonrası ölçümlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

Sonuç olarak ağızda diş çürüklerinin primer etkeni olan m.s.'ların ve laktobasillerin bakteriyoterapi ile probiyotik bakterilerle yer değiştirmesi sonucunda; tükürükteki ve plaktaki m.s. değerlerinde belirli ölçülerde değişim sağlanmaktadır. Çalışmamız, çocuk hastalarda karışık dişlenme dönemine ait, dental plak ve tükürükte probiyotik bakterilerin karyojenik bakteriler üzerine etkilerini inceleyen ilk ve tek çalışmadır. *B. biūdum* DN–173 010'un dental plakta bulunan m.s.'ların üzerine etkileri incelendiğinde, m.s. seviyesinde azalmalar gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamıştır. *B. biūdum* DN–173 010'un tükürükte bulunan m.s.'lar üzerine etkileri incelendiğinde, m.s. seviyesinde azalmalar gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamıştır. *B. biūdum* DN–173 010'un laktobasiller üzerine etkileri incelendiğinde, laktobasil seviyesi azalmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Test ve plasebo gruplarında pH değişimleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Anahtar kelimeler : *Biūdobaūterium biūdum*, dental plak, laktobasil, mutans streptokok, probiyotik bakteriler, tükürük

SUMMARY

Determination of oral bacteria in dental plaque and saliva of children consuming Bifidobacterium bifidum DN – 173 010 containing fruit yogurt

The aim of the present study to evaluate the effect of *B. bifidum* DN – 173010 in the oral microbial flora regarding dental plaque and saliva of children within the limits of replacement therapy.

Consumption of probiotic dairy products are overwhelmingly popular in recent years. Probiotic bacteria exchange the flora with pathogenic bacteria and form a stable relationship with the host. While letter products show rapid development, the effects of probiotics with oral flora and dental plaque is still a debate to investigate and would be popular in future years. The aim of the present study is to determine the oral pathogenic bacteria at the dental plaque and in the saliva at children consuming probiotic fruit yogurt. Sixty patients between the age of 8 - 10 attending to Department of Peadiatric Dentistry, School of Dentistry were invited to the trial. Regarding medical and dental histories, healthy children without any systemic disorders and with no relation to no regular medication, regular xylitol and probiotic consumption were chosen. Written permission form have been received from their parents. The ethical clearance was received from Yeditepe University Ethical Commitee.Regarding the methodology,

1 -) The present study was a randomised, double-blind, cross-over study.

2 -) The patients were divided into two groups randomly.

3 -) Each group had a wash-out period that no milk or dairy product were consumed and then indexes were evaluated and for 2 weeks; Test group consumed *B. bifidum* DN – 173 010 containing yogurt (Danone® Activia yogurt with strawberry fruit, Danone®, Luleburgaz, Turkey) and placebo group consumed placebo yogurt (Danone® yogurt with strawberry Luleburgaz, Turkey).

4 -) Daily yogurt consumption was established as 1 cup (110g) of yogurt per day. For test group , the daily dosage of *B. bifidum* DN – 173 010 was approximately 1×10^{10} cfu / g.

5 -) After regular consumption of yogurts for 2 weeks, dental plaque and saliva samplings were collected.

6 -) After 2 week wash-out period, all patients' dental plaque and saliva samplings were collected and again test and placebo yogurts were consumed by the volunteers.

7 -) After proper consumption of the yogurts for 2 weeks, indexes have been collected from each child patient.

Statistical evaluations of the data have been made at the end of the study.

The present study is the first and only study which evaluates the effects of probiotics on cariogenic bacteria in dental plaque and saliva at child patients. When the effects of *B. biīdum* DN-173 010 on m.s. in the dental plaque were evaluated, results were not statistically significant. When the effects of *B. biīdum* DN-173 010 on m.s. in the saliva were evaluated, results were not statistically significant. When the effects of *B. biīdum* DN-173 010 on lactobacillus were evaluated, results were statistically significant. When the pH levels were evaluated both test and placebo groups, results were not statistically significant.

The present study will guide future studies regarding prevention of oral diseases within consumption of probiotics.

Keywords : *Biīdobacterium biīdum*, dental plaque, *lactobasillus*, *mutans streptococcus*, probiotic bacteria, saliva.

Hayatımda önemli bir yere sahip olan uzun, yorucu ama bir o kadar da keyifli bu tez çalışmamı; canımdan çok sevdiğim Annem Aysel Serger'e ve varlığını her an yanımda hissettiğim canım Babam rahmetli Mehmet Serger'e adıyorum.

TEŞEKKÜR

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

Doktora eğitimine başladığım ilk günden itibaren bana hem mesleki hem de sosyal anlamda yol gösteren ve her konuda destek olan, doktora eğitimim süresince üzerimde çok büyük emeği olan ve doktora eğitimim sonrasında da kendisini hep örnek alacağım, her zaman gösterdiği içten, samimi yaklaşım ve bana kazandırdığı vizyon için çok değerli hocam Sayın **Yrd. Doç. Dr. Eşber Çağlar**'a,

Doktora eğitimim süresince her konuda verdiği destek için, her zaman ilgisini, gülyüzünü ve çok değerli zamanını benden esirgemeyen, bilgisiyle, çalışkanlığıyla, yaptığı her işte gösterdiği özen ve dikkatle bana örnek olan; doktora eğitimim sonrasında da kendime hep örnek alacağım, çok değerli hocam Sayın **Yrd. Doç. Dr. Şule Kavaloğlu Çıldır**'a,

Doktora tez çalışmam sırasında kendisini tanıma fırsatı bulduğum, çok değerli bilgisini ve zamanını benimle paylaşarak bana çok destek olan, çok değerli hocam Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı **Doç Dr. Nural Bekiroğlu**'na,

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında bana karşı her zaman anlayış gösteren, bilgi, tecrübe ve yardımlarını benden esirgemeyen, kendisinden çok değerli bilgiler edindiğim değerli hocam Sayın **Yrd. 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 Kuşçu**'ya,

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

Doktora eğitimim boyunca bana gösterdiği ilgi ve destek için **Yrd. Doç. Dr. Didem Özdemir Özenen, Dr. Evren Ülker Delilbaşı ve Dr. Elif Sungurtekin**'e,

Tez çalışmalarım sırasında bana her zaman moral ve destek vererek yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki tüm arkadaşlarıma tek tek teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde bana yol gösteren ve her konuda destek olan, acı tatlı her anımı benimle paylaşan, canım **Annem Aysel Serger**'e, rahmetli **Babam Mehmet Serger**'e, **Ağabeyim Emrah Serger**'e ve **Dt. Siber Acar**'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇ KAPAK	I
ÖZET	III
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VIII
KISALTMALARIN LİSTESİ	XIV
TABLoların LİSTESİ	XVII
ŞEKİL VE RESİMLERİN LİSTESİ	XIX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 BAKTERİYOTERAPİ VE PROBİYOTİKLER.....	3
2.1.1 Prebiyotikler.....	4
2.1.2 Probiyotiklerin Tarihçesi	6
2.1.3 Probiyotiklerin Sınıflandırılması.....	12
2.1.4 Probiyotiklerin Genel Özellikleri.....	14
2.1.5 Probiyotiklerin Kullanım Alanları.....	15
2.1.6 Probiyotikler ve Günlük Ürünler.....	16
2.1.7 Probiyotiklerin Güvenliği.....	18
2.2. PROBİYOTİKLERİN GENEL SAĞLIKTAKİ ROLÜ	20
2.2.1 Probiyotiklerin Gastrointestinal Sisteme Etkileri.....	20
	X

2.2.2	Probiyotiklerin İmmün Sisteme Etkileri.....	21
2.2.3	Probiyotiklerin Ürogenital Sisteme Etkileri.....	21
2.2.4	Probiyotiklerin Orofarengeal Sisteme Etkileri.....	22
2.2.5	Akut Otitis Media ve Probiyotikler.....	23
2.2.6	Probiyotiklerin Oral Ekosistem Üzerine Etkileri.....	24
2.3	PROBİYOTİKLER VE AĞIZ-DİŞ SAĞLIĞI	25
2.4	PROBİYOTİKLERİN AĞIZ İÇİ ETKİ MEKANİZMALARI.....	30
2.4.1	Probiyotiklerin Oral Kaviteye Tutunması, Adezyonu ve Kolonizasyonu..	33
2.4.1.1	Probiyotiklerin Oral Yüzeyle Tutunması.....	33
2.4.1.2	Probiyotiklerin Oral Yüzeyle Adezyonu	35
2.4.1.3	Probiyotiklerin Oral Kavitede Kolonizasyonu.....	36
2.4.2.	Probiyotikler ve Diş Çürükleri Üzerine Araştırmalar	38
2.4.2.1	Probiyotiklerin Oral Kaviteye Uygulanması.....	38
2.5	ORAL MİKROFLORA VE KONAKLARI.....	39
2.5.1	Tükürük ve Tükürük Mikroflorası.....	39
2.5.2	Biyofilm.....	41
2.5.3	Pelikül.....	41
2.5.4	Dental plak.....	42
2.5.5	Mutans Streptokoklar.....	43
2.5.5.1	<i>Streptococcus mutans</i>	43
2.5.5.2	<i>Streptococcus sobrinus</i>	43
2.5.5.3	<i>Streptococcus cricetus</i>	44
2.5.5.4	<i>Streptococcus ferus</i>	44
2.5.5.5	<i>Streptococcus rattus</i>	44
2.5.5.6	<i>Streptococcus macacae</i>	44

2.5.6	Laktobasiller.....	45
2.5.6.1	Zorunlu Homofermenterler (Homolaktik fermenterler).....	45
2.5.6.2	Zorunlu Heterofermenterler(Heterolaktik fermenterler).....	46
2.5.6.3	Fakültatif Heterofermenterler.....	46
2.6	pH VE TÜKÜRÜK TAMPONLAMA KAPASİTESİ.....	46
2.6.1	Ağız Ortamında pH'ın Önemi.....	46
2.6.2	pH Tayini.....	47
2.7	TÜKÜRÜKTE MİKROORGANİZMA TESPİT YÖNTEMLERİ.....	48
2.7.1	Tükürükte Mutans Streptokok Tayini.....	49
2.7.1.1	MSBB Metodu.....	49
2.7.1.2	Caries Screen SM.....	49
2.7.1.3	Chair-side (Hasta başında uygulanan) Metodlar.....	50
2.7.2	Tükürükte Laktobasil Tayini.....	50
2.7.2.1	Snyder Testi.....	50
2.7.2.2	Modifiye Snyder Testi.....	50
2.7.2.3	Cariostat.....	51
2.7.2.4	Chair-side Metodlar.....	51
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	52
3.1	GEREÇ	52
3.1.1	Etik Kurulu Raporu Temini	52
3.1.2	Gönüllü Çocuk Hastaların Belirlenmesi Esasları ve Tayini.....	52
3.1.3	Probiyotik Ajanın Seçimi.....	53
3.2	YÖNTEM.....	54

3.2.1	Süreç	56
3.2.2	Tükürük ve Plak Örneklerinin Alınması	56
3.2.3	Tükürük Tamponlama Kapasitesi Tayini.....	70
3.3	İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	74
4.	BULGULAR	75
5.	TARTIŞMA	89
5.1	GEÇMİŞ ARAŞTIRMALAR IŞIĞINDA ÇALIŞMAMIZIN AMACI...	89
5.2	GEREÇ VE YÖNTEMİN TARTIŞILMASI.....	92
5.2.1	Günümüzde Probiyotiklerin Kullanımı.....	96
5.2.2	Bakteri Suşları ve Etki Mekanizmaları.....	96
5.2.3	Probiyotik Ajanların Seçimi.....	102
5.2.4	Dozaj.....	103
5.2.5	Hasta Grupları.....	106
5.2.6	Güvenlik.....	106
5.3	BULGULARIN TARTIŞILMASI.....	108
6.	SONUÇLAR.....	114
7.	KAYNAKLAR.....	117
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	139

KISALTMALAR VE SİMGELER

Aa	: Aminoasit
<i>A. naeslundii</i>	: <i>Actinomyces naeslundii</i>
Aerob	: Oksijene ihtiyaç duyan
Anaerob	: Oksijene ihtiyaç duymayan
AOM	: Akut otitis media
BAE	: Birleşik Arap Emirliği
<i>B. acidophilus</i>	: <i>Bacillus acidophilus</i>
<i>B. adolescentis</i>	: <i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>B. bifidum</i>	: <i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>B. bifidus</i>	: <i>Bacillus bifidus</i>
<i>B. breve</i>	: <i>Bifidobacterium breve</i>
<i>B. infantis</i>	: <i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>B. longum</i>	: <i>Bifidobacterium longum</i>
BSA	: Sığır serum albümin
BV	: Bakteriyel vajinitis
Ca	: Kalsiyum
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
cfu	: Koloni oluşum birimi
CH₃SH	: Metil merkaptan
Chair-side	: Hasta başında uygulanan
<i>C. difficile</i>	: <i>Clostridium difficile</i>
emf	: Elektromotiv kuvveti
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecium</i>	: <i>Enterococcus faecium</i>
<i>E. fecalis</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
<i>F. nucleatum</i>	: <i>Fusobacterium nucleatum</i>
Flagella	: Kamçı
Fimbriae	: Saçak
FOS	: Frukt-oligosakkaritler
GI	: Gastrointestinal

Gr	: Gram
Glikokaliks	: Glikoz havuzcukları
HA	: Hidroksiapatit
Halitosis	: Ağız kokusu
HCO₃⁻	: Bikarbonat iyonu
<i>H. pylori</i>	: <i>Helicobacter pylori</i>
<i>H. influenza</i>	: <i>Haemophilus influenzae</i>
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
H₂S	: Hidrojen sülfid
H₂O₂	: Hidrojen peroksitin
IgA	: İmmünglobülin A
LAB	: Laktik asit bakterileri
Lantibiyotik	: Lanthionin içeren peptit antibiyotikler
<i>L. acidophilus</i>	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>L. bulgaricus</i>	: <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>L. casei</i>	: <i>Lactobacillus casei</i>
<i>L. casei Shirota</i>	: <i>Lactobacillus casei Shirota</i>
<i>L. gasseri</i>	: <i>Lactobacillus gasseri</i>
<i>L. helveticus</i>	: <i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>L. johnsonii</i>	: <i>Lactobacillus johnsonii</i>
<i>L. paracasei</i>	: <i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>L. plantarum</i>	: <i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>L. reuteri</i>	: <i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>L. rhamnosus</i>	: <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>L. salivarius</i>	: <i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	: <i>Lactobacillus lactis ssp. cremoris</i>
<i>L. lactis ssp. Diacetylactis</i>	: <i>Lactobacillus lactis ssp. diacetylactis</i>
<i>L. sporogens</i>	: <i>Lactobacillus sporogens</i>
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
µm	: Mikrometre
microtitre wells	: Analitik araştırmalarda ve klinik test laboratuvarlarında kullanılan, üzerinde çok sayıda çukurcuk bulunan plaka.

m.o.	: Mikroorganizma
m.s.	: Mutans streptokok
MSB agar	: Mitis salivarius basitrasin agar
Monostrain	: Tek bakteri içeren suş
<i>M. catarrhalis</i>	: <i>Neisseria catarrhalis</i>
Multistrain	: Birden fazla bakteri içeren suş
Pilus	: Tüycük
PO₄⁻³	: Fosfat
<i>P. gingivalis</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	: <i>Prevotella intermedia</i>
<i>S. mutans</i>	: <i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. sobrinus</i>	: <i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>S.macedonicus</i>	: <i>Streptococcus macedonicus</i>
<i>S. pneumoniae</i>	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>S. pyogenes</i>	: <i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>S. thermophilus</i>	: <i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>S. oralis</i>	: <i>Streptococcus oralis</i>
<i>S. sanguis</i>	: <i>Streptococcus sanguis</i>
<i>S. macacae</i>	: <i>Streptococcus macacae</i>
<i>S. downei</i>	: <i>Streptococcus downei</i>
<i>S. crisetus</i>	: <i>Streptococcus crisetus</i>
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
<i>T. denticola</i>	: <i>Treponema denticola</i>
TK	: Tamponlama kapasitesi
UTI	: Üriner yolların enfeksiyonu
ÜSYE	: Üst solunum yolu enfeksiyonları
<i>V. dispar</i>	: <i>Veillonella dispar</i>
VSC	: Uçucu kükürt bileşikleri
yy	: Yüzyıl
<i>W. cibaria</i>	: <i>Weissella cibaria</i>
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
Wash-out	: Arınma süreci

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No.
Tablo 1. Probiyotiklerin tanımı ve tarihçesi.....	11
Tablo 2. Probiyotiklerin sınıflandırılması.....	13
Tablo 3. Günümüzde dünya marketlerinde yer alan probiyotik ürünler.....	17
Tablo 4. Oral kavitede kullanılan probiyotik test suşları.....	27
Tablo 5. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında tükürükten alınan örneklerdeki m.s. seviyesinin değişimi.....	76
Tablo 6. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 16 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi.....	77
Tablo 7. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 11 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi.....	79
Tablo 8. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 36 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi.....	80
Tablo 9. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 31 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi.....	82
Tablo 10. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında tükürükten alınan örneklerdeki laktobasil seviyesindeki değişim.....	83
Tablo 11. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında tükürükten alınan örneklerdeki pH değişimi.....	85
Tablo 12. Çocuk hastaların yaş, cinsiyet dağılımları ve ağız içi hijyen indeksleri.....	86

Tablo 13. Çocuk hastalardan meyveli probiyotik yoğurt tüketimi öncesi ve sonrasında tükürük ve dental plaktan alınan örneklerde, m.s. ve LB seviye ve tükürük tamponlama kapasitesi (TK) değerleri 87

Tablo 14. Çocuk hastalardan meyveli yoğurt tüketimi öncesi ve sonrası tükürük ve dental plaktan alınan örneklerdeki m.s., LB ve tükürük tamponlama kapasitesi (TK) değerleri88

ŞEKİL VE RESİMLERİN LİSTESİ

	Sayfa No.
Şekil 1. Probiyotiklerin ağız içi etki mekanizmaları.....	32
Şekil 2. Çalışma metodunun şematik gösterimi.....	55
Şekil 3. Tükürükteki m.s. seviyesindeki değişim.....	76
Şekil 4. 16 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim.....	78
Şekil 5. 11 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim.....	79
Şekil 6. 36 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim.....	81
Şekil 7. 31 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim.....	82
Şekil 8. Tükürükten alınan örneklerde laktobasil seviyesindeki değişim.....	84
Şekil 9. Tükürükten alınan örneklerde pH değişimi.....	85
Resim 1. Elie Metchnikoff, Pasteur Enstitüsü'ndeki laboratuvarında çalışırken.....	8
Resim 2a,b. Danone® Activia® çilek meyveli probiyotik yoğurt ve Danone® çilek meyveli yoğurt.....	53
Resim 3. <i>B.bifidum</i> DN-173 010'un SEM görüntüsü.....	54
Resim 4. Çocuk hastanın ünite alınması ve hazırlıklar.....	56
Resim 5. Test tüplerinin içerisine basitrasin tablet atılması.....	57
Resim 6. Tükürük toplama işlemi için çocuk hastalara parafin tablet çiğnetilmesi.....	57
Resim 7. Uyarılmış tükürüğün steril kap içerisinde toplanması	58

Resim 8.	Steril kap içerisinde tükürük örneğinin biriktirilmesi	58
Resim 9.	Oral kavitede bulunan m.s. seviyesinin belirlenmesi amacıyla dil yüzeyinden strip yardımıyla örnek alınması.....	59
Resim 10.	Stripin test tüpüne yerleştirilmesi	59
Resim 11.	16 no.'lu dişten dental plak örneğinin alınması.....	60
Resim 12.	16 no.'lu dişten alınan dental plak örneği.....	61
Resim 13.	16 no.lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması.....	61
Resim 14.	11 no.'lu dişten dental plak örneğinin alınması	62
Resim 15.	11 no.'lu dişten alınan dental plak örneği.....	62
Resim 16.	11 no.'lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması.....	63
Resim 17.	36 no.'lu dişten dental plak örneğinin alınması	63
Resim 18.	36 no.'lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması.....	64
Resim 19.	31 no.'lu dişten dental plak örneğinin alınması	64
Resim 20.	31 no.'lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması.....	65
Resim 21.	Toplanan dental plak örneklerinin strip üzerine yayılmış görüntüsü.....	65
Resim 22.	Stripin test tüpüne yerleştirilmesi.....	66
Resim 23.	Dentocult® SM chair-side kit.....	66
Resim 24.	Dentocult® LB chair-side kit.....	67
Resim 25.	Dentocult® SM chair-side kit ile yapılacak deneyler için örnek şema.....	67
Resim 26 a,b,c,d	Stripler yardımıyla çocuk hastalardan toplanan dental plak ve tükürük örneklerinin 48 saat etüvde bekletildikten sonra stripler üzerinde oluşan m.s. kolonilerine örnekler.....	68
Resim 27.	Dentocult® LB chair-side kit ile yapılacak deneyler için örnek şema.....	68
Resim 28.	Toplanan tükürük örneğinin Dentocult® LB strip üzerine yayılması.....	69
Resim 29.	Dentobuff® Strip chair-side kit.....	70

Resim 30.	Çocuk hastadan alınan tükürük örneğinin steril pipet yardımıyla pH indikatörü üzerine yayılması	71
Resim 31.	Dentobuff® Strip chair-side kit ile yapılacak deneyler için örnek şema.....	71
Resim 32.	pH indikatöründe renk değişiminin incelenmesi.....	72
Resim 33.	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yumuşak Doku Laboratuvarı'nda muhafaza edilen test tüplerinin genel görüntüsü	72
Resim 34.	Yumuşak Doku Laboratuvarı etüvü	73

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Probiyotikler; doğal yollarla elde edilen, ağız yolu ile belirli sayıda alınan, genel sağlığı daha iyi hale getirebilen, iyi ve sağlıklı bağırsak bakteri florasını destekleyen, bakteriyel kültür veya yaşayan m.o.'lar olarak tanımlanmıştır. (1)

Probiyotiklerin insan sağlığının iyileştirilmesi amacıyla kullanımı çok eski zamanlara kadar uzanmaktadır. 1907 yılında Ilya Metchnikoff; laktik asit üreten *Lactobacillus bulgaricus*'un patolojik bağırsak m.o.'ları ile yer değiştirdiğini ve laktobasil içeren yoğurtların tüketimiyle bağırsakta bulunan toksin üreten bakterilerin sayıca azaldığı ve buna bağlı olarak konağın ömrünün uzadığını belirtmiştir.(2)

Probiyotiklerin vücuda etkileri incelendiğinde; bağırsak mikroflorasının kompozisyon ve aktivitesini etkilediği (prebiyosis), bağırsak hareketlerini düzenlediği, mineral emilimini stimüle ettiği, biyoyararlanımı arttırdığı ve osteoporoz gelişmesini geciktirdiği, bağırsak enfeksiyonlara eşlik eden diyareyi baskıladığı, hiperlipidemilere ikincil aterosklerotik kalp hastalığı riskini azalttığı, obezite ve Tip 2 Diabet riskini azalttığı, kolorektal kanser ve enfeksiyöz kolitten koruduğu, diş çürüğü oluşumunda azaltıcı etkisi olduğu, konakçının savunma mekanizmalarını güçlendirdiği bilinmektedir.(3)

Probiyotiklerin etki mekanizmaları incelendiğinde; diğer bakterilerle konak dokuya bağlanma yarışı ve besin için yarışma, antimikrobiyal bileşiklerin üretilmesi sonucunda yarışmacı dışlama görülmektedir. Bu mekanizmaya ek olarak probiyotiklerin konak üzerinde doğal ve spesifik immün fonksiyon değişiklikleri meydana getirmesiyle indirekt etki görülmektedir.

Probiyotik olarak sınıflanabilecek çok sayıda değişik m.o. bulunmaktadır. Probiyotiklerin belirlenmesindeki kriterler dikkate alındığında; seçilen bakteri türünün konak üzerinde yararlı etki gösterebilmesi için güvenli, canlı ve gastrointestinal (GI) sistemde metabolik olarak aktif olması büyük önem taşımaktadır. Buna ek olarak probiyotik bakterilerin konak üzerindeki etki süreleri ve konsantrasyon miktarları istenilen etkinin elde edilmesi ve sürdürülebilmesi için çok önemlidir. Farklı türlerdeki her bir probiyotik bakterinin tüm hastalıklarda istenilen etkileri yaratamayacağı gibi; belirli düzeyde probiyotik bakterinin konakta bulunmaması sonucu da istenilen etki elde edilemeyebilir. Her hastalık için kullanılacak probiyotik bakteri türlerinin ve dozajlarının farklılığı pek çok araştırma için alan oluşturmuştur. Probiyotik bakterilerin özelliklerinin ve etki mekanizmalarının

belirlenmesi, bunun sonucu olarak tedavi metodlarının geliştirilmesi araştırmaların temelini oluşturmaktadır.

Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde, probiyotik bakterilerin genel sağlık üzerinde çok olumlu etkileri gözlenmekle birlikte probiyotiklerin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda ağız ve diş sağlığının iyileştirilmesi ve sürdürülebilmesi ile ilgili çalışmaların sayıca az olduğu görülmektedir. Buna ek olarak probiyotiklerin çocuklarda ağız sağlığına etkileri bilinmemekte ve ocuk hastalar üzerinde yapılmış klinik çalışma bulunmamaktadır. Probiyotiklerin etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi ve probiyotiklerin çocuklarda ağız sağlığına etkisinin araştırılması, büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızın amacı, yer değiştirme tedavisi ile konağa yararlı bakterilerden olan *B. bişidum* DN-173 010'un çocuklarda dişlerin çevresindeki plakta ve tükürük içerisinde bulunan çürük yapıcı m.o.'lar üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Bu çalışmada elde edilecek sonuçların ileride yapılacak olan probiyotik çalışmalarına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bakteriyoterapi ve Probiyotikler

Antibiyotiklere karşı gelişen direnç, giderek artan küresel bir problemdir (4,5). Bu şanssız gelişme, bilim adamlarını enfeksiyöz hastalıklarla savaşıma konusunda farklı arayışlara yönlendirmiştir. Bu noktada bakteriyoterapi, enfeksiyöz hastalıkların kontrolü ve GI sistemdeki dirençli bakterilerin neden olduğu sağlık problemlerinin ortadan kaldırılmasında etkin bir yöntemdir (6,7). Ayrıca bakteriyoterapi; genellikle donör insan bağırsak florasının, şiddetli GI bozukluğu olan hastaya kolonik infüzyonu (8) ve insan kaynaklı doğal olarak oluşan bakterilerin bağırsak mikroflorasına tedavi amacıyla verilmesi olarak tanımlanmaktadır (9). Yakın zamanda yapılan çalışmaların ışığında probiyotiklerin, GI sistemin ötesinde vücut fonksiyonlarını da etkilediği gösterilmiştir (1). İnsan ve hayvanların; mikrobiyal enfeksiyonların neden olduğu hastalıklar ve laktik asit üreten bakterilerin immünostimülatör özelliklerinin sonucu olarak gelişen kanserlere karşı korunabildiğini gösteren raporlar bulunmaktadır (5, 10).

Kemoterapötikler, endojen ve ekzojen m.o.'ın neden olduğu enfeksiyonların tedavisi ve önlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. 20. yy.'da etkili antibiyotiklerin yaygınlaşması ile, gelişmiş ülkelerde enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde devrim yaşanmış ve ölüm oranlarında belirgin düşüşler kaydedilmiştir. İmmunoloji dalında Nobel ödülü kazanmış McFarlane Burnett, 1962'de; enfeksiyöz hastalıkların ortadan kaldırılmasının sosyal yaşamda önemli bir faktör olacağını bildirmiştir. Bazı önemli patojenlerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi; araştırmacıları alternatif antimikrobiyal yaklaşımlar konusunda cesaretlendirmiştir (11). Sağlığı geliştiren bakterilerin tedavi amacıyla kullanıldığı uygulamalar, bu konuda kullanılan en güçlü ajanlardır. Bu noktada sağlık bilgilerine hızlı erişimin geliştiği günümüzde; tüketicinin doğal ve bütüncü tıbbi reçetelere, önleyici yaklaşımlara ve sağlık durumunu iyi yönde etkileyen ajanlara olan eğilimi arttırmıştır. Temel besleyici özellikleri dışında sağlığı olumlu yönde etkileyici özellikleri bulunan besinlere genel olarak fonksiyonel besin adı verilir (12). Günümüzde fonksiyonel besinlere örnek olarak prebiyotik ve probiyotikler verilebilir (13).

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 (1). Probiyotikler; belirli bir patolojik durumun önlenmesi veya tedavisi için kullanılabilir. Bazı m.o.'ların belirli bazı hastalıklar üzerinde tedavi edici etkileri varsa bunlara biyoterapötik ajanlar da denilmektedir. Genellikle konağa en yararlı olan m.o.'lar laktobasiller, bifidobakterler ve mayalar arasından seçilmektedir. Literatürde probiyotik uygulamalara bakteriyel replasman (yerine koyma) tedavisi diyen yazarlar da bulunmaktadır (14). Ayrıca probiyotikler üzerine yapılan araştırmalar göstermiştir ki; yararlı bakteriler insanların doğal mikroflorasına katılabilmekte, enfeksiyonların iyileştirilmesinde veya enfeksiyonlara karşı direnç oluşturulmasında kullanılabilir (15). Kısaca probiyotik uygulamalarını, patojen olmayan bakterilerin patojen bakterileri kontrol etmesi amacı ile kullanılması olarak da tanımlayabiliriz.

2.1.1. Prebiyotikler

Bağırsaklarda bir yada birkaç tür m.o.'larının çoğalma ve/veya aktivitesini seçici olarak stimüle ederek, konağın sağlığını olumlu yönde etkileyebilen ve sindirilemeyen besin bileşenleri olarak tanımlanabilir (16).

Genel olarak prebiyotiklerin etkileri, mikrobiyal popülasyonun yoğunluğundaki değişim ile karakterizedir (17). Prebiyotiklerin en başlıca yararı; bağırsaklardaki zararlı veya zarar verme potansiyeli olan bakterilerin seviyesini azaltmasıdır (18). Bu enfeksiyona bağlı diyare ve sindirim sistemi rahatsızlıkları gibi durumların oluşma risklerini azaltır. Bir diğer yararı ise kalın bağırsak hareketlerinde artış ve bağırsaktan geçiş süresinin azaltılması ile bağırsak fonksiyonunda iyileşme görülmektedir. Bunun sonucunda sağlıklı sindirim sistemi elde edilmekte ve kabızlık gibi rahatsızlıklar giderilmektedir (19).

Prebiyotiklere örnek olarak inülin, frukto-oligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler ve laktuloz sayılabilir (16,20). İnülin, hindiba kökünden elde edilen doğal çözünebilen lifli bir besindir. İnülin, bir çok meyve ve sebzede karbonhidrat deposu olarak görev alır (21). FOS, doğal olarak oluşabilen ve insan bağırsağı tarafından sindirilemeyen ve emilemeyen karbonhidratlardır. FOS, bifidobakterlerin gelişimini desteklerler ve bu nedenle hastalara FOS ile birlikte bifidobakterler verilerek probiyotiklerin etkinliği artırılır (22).

Anne sütü yüksek oranda oligosakkarit (10-12 gr/L) içermektedir ve içerdikleri oligosakkaritler, bifidobakterlerin büyümesini stimüle etmektedir (23). Bu nedenle anne sütü

ile beslenmekte olan bebeklerin sindirim kanalında mama ile beslenenlere göre 10 kat daha fazla bifidobakter bulunmaktadır (24). Çocuklar için önerilen günlük prebiyotik dozu 1-3 gr/gün, erişkinler için 5-15 gr/gün'dür (24).

Bir substratın prebiyotik olarak kabul edilebilmesi için taşıması gereken özellikler:

- i) Mide ve ince bağırsaklarda hidrolize veya absorbe olmamalı,
- ii) Kolonda bulunan yararlı m.o.'lar için seçici olmalı ve çoğalmalarını stimüle etmeli,
- iii) Florayı sağlıklı bir kompozisyon oluşacak şekilde değiştirmeli ve konak dokuda yararlı luminal /sistemik etkiler yapmalıdır (3).

Ağız yolu ile alınan probiyotik bakteriler kolona eriştiklerinde ortamda bulunan besin kaynakları ve ekolojik kolonizasyon bölgeleri için kolonda daha önce yerleşmiş m.o.'lar ile yarışmaya girerler (yarışmacı dışlama). Bu noktada probiyotiklerin karşılaştıkları güçlükleri giderici ve probiyotik bakterilerin çoğalmalarına yardımcı bir yaklaşım prebiyotiklerin kullanımındır (25). Prebiyotiklerin sağlığımız üzerinde önemli etkilerinden bazılarını şöylece sıralayabiliriz (26):

- i) Bağırsak hareketlerini düzenler,
- ii) Bağırsak mikroflorasının kompozisyon ve aktivitesini etkiler (prebiyosis),
- iii) Bağırsak enfeksiyonların eşlik ettiği diyareyi baskılar,
- iv) Mineral emilimini (özellikle Ca ve Mg) stimüle eder, biyoyararlanımını artırır ve osteoporoz gelişmesini geciktirir,
- v) Hiperlipidemilere ikincil aterosklerotik kalp hastalığı riskini azaltır,
- vi) Obezite ve Tip 2 diabet riskini azaltır,
- vii) Kolorektal kanser ve enfeksiyöz kolitten korur,
- viii) Konakçının savunma mekanizmalarını güçlendirir (27).

Bazı durumlarda prebiyotiklerle probiyotikler arasında sinbiotik etkiler de görülür. Sinbiotikler, probiyotiklerle prebiyotiklerin karışımı olup konağın GI bölgesinde canlı mikrobiyal besin desteğinin yaşaması ve varlığını sürdürmesini sağlarlar (28). Günümüzde bebek mamalarının büyük bölümünde ve diyet ürünlerde lifler vasıtası ile prebiyotik tüketimi yoğun olarak sağlanmaktadır.

2.1.2 Probiyotiklerin Tarihçesi

Hayat kalitesinin artırılması için m.o.'ların kullanılması çok eskiye dayanmaktadır. Yiyeceklerin m.o.'larla fermente edildiği klasik Roma kültürüne bakıldığında, gastroenterit tedavisinde iyileştirici ajan olarak m.o.'ların kullanıldığı görülmektedir (29). Sağlığı iyileştirici probiyotik içeren fermente süt bilinen en eski fonksiyonel besindir. Bu noktada, fonksiyonel besin diğer besinlerle benzerlik göstererek günlük beslenmenin bir parçası olarak alınır ve fizyolojik yarar göstermekle birlikte temel besin fonksiyonunun ötesinde kronik hastalık riskini de azaltır (12).

Eski Mısır'da (M.Ö. 3000) evlerde doğal olarak üretilen, hayvan sütünden yapılan ve toprak testilerde veya keçi derisinden yapılmış keselerde mayalanması sağlanan fermente süt ürünlerinin (Laban Rayeb ve Laban Khad) tüketildiği bildirilmiştir (30). Sümerler'den kalan duvar resimlerinde de (İ.Ö 2500) fermente süt tasvirleri yer almaktadır (12,31).

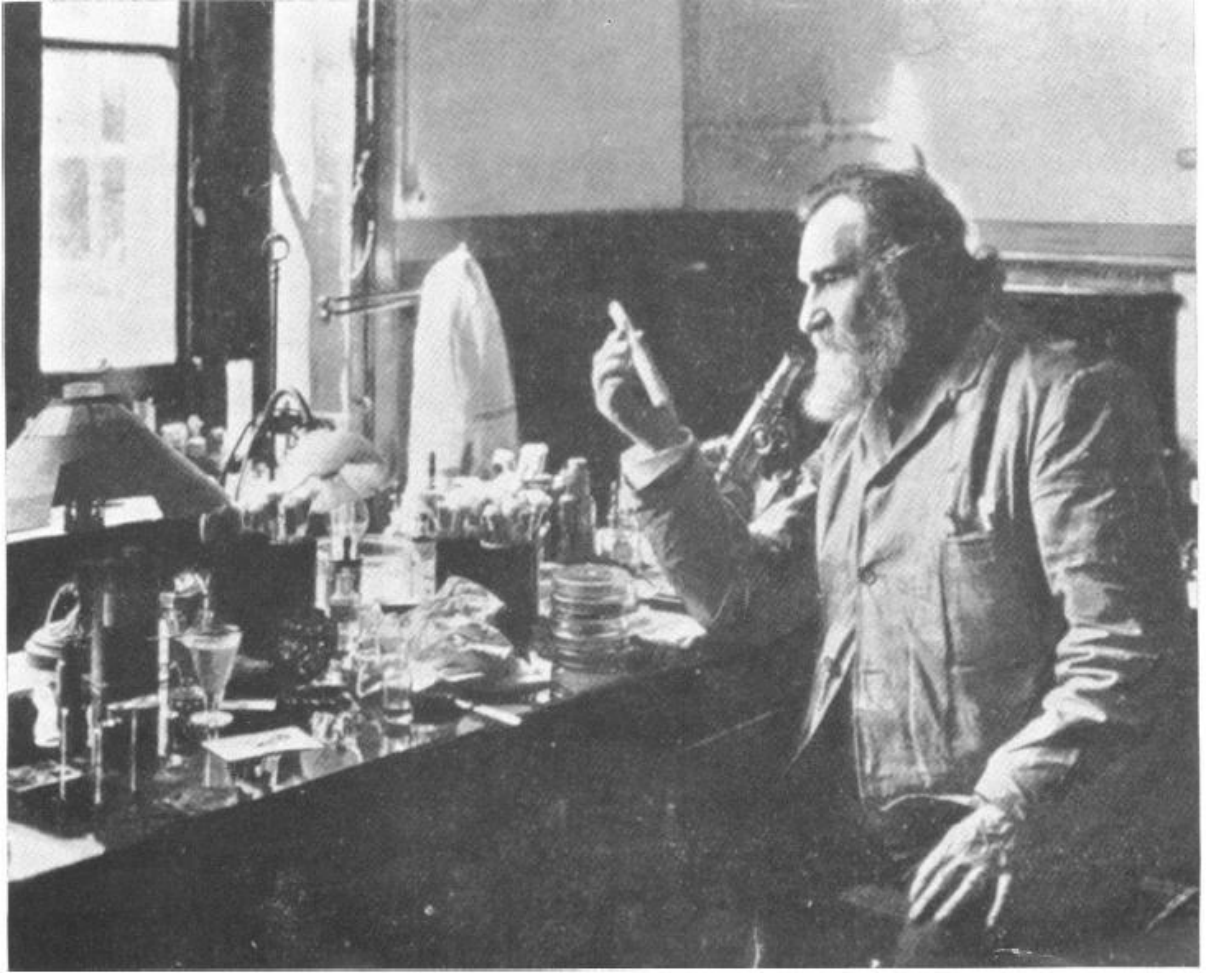
Eski Ahit'te (Genesis 18:8) Hz. İbrahim'in uzun ömrünü ekşi süt tüketimine borçlu olduğu bildirilmiştir (30,32). Fermente süt ürünlerinin tüketim geleneği, Orta ve Uzak Doğu'dan Rusya'ya ve Doğu Avrupa'ya; Hunlar, Tatarlar ve Moğollar tarafından, yapılan savaşlar sırasında getirilmiştir ve süt ürünlerinin kullanımı böylece yaşlı kıtada yaygınlaşmıştır. 19 yy.'da süt ürünlerinin Doğu Avrupa'da ve Balkanlar'da en yaygın kullanım şekli, yoğurt ve kefir (31,33).

Fermente süt ürünlerinin sağlık üzerinde koruyucu etkileri çok eski zamanlarda anlaşılmasına rağmen biliminsanları, 19 yy.'ın sonlarına doğru, geleneksel ekşi süt ürünlerinin sağlık üzerine olumlu etkilerini farketmiş ve araştırmışlardır. Genelde mikrobiyologlardan oluşan birçok biliminsanı, insan mikroflorasına önemli etkilerinin olduğunu bildiren pek çok araştırma yapmışlardır.

Pasteur veoubert 1877'de, şarbon basilinin büyümesi ile yaygın basillerin baskılandığını belirtmişler ve bu durumun, tedavi edici ilaçlar için ümit verdiğini belirtmişlerdir (34). Escherich, 1885'de bağırsak florasında ve insan dışkısında varolan bakterileri araştıran, sindirim sisteminin fizyolojisini açıklayan ve mikrobiyal kaynaklı bağırsak hastalıklarının patolojisini ve tedavisini ilk biliminsanıdır (35).

Ağız yolu ile yararlı bakterilerin verilmesi ile bağırsakta bulunan zararlı bakterilerin baskılanması, böylece mikrobiyal dengenin sağlanarak sağlığın iyileştirilmesi ve ömrün uzatılması fikri yüzyıl önce Carre, Moro, Tissier ve Metchnikoff tarafından ortaya konmuştur (2, 36, 37, 38).

1900'lerde iki biliminsanı, Tissier ve Moro, anne sütü ile beslenen bebeklerin sindirim sistemi üzerine araştırma yapmışlardır. Fransız pediatrist Henry Tissier, anne sütü ile beslenen diyareli bebeklerin dışkılarından aldıkları örneklerde, çok düşük sayıda anaerobik olarak laboratuvar ortamında üreyen, boyanabilen, morfolojik olarak laktobasillere benzeyen fakat Y şeklinde bifukasyon formu gösteren bakteriler izole etmiştir. Tissier belirlenen bu m.o.'ya *Bacillus biīdus* adını vermiştir (39). Buna benzer olarak Moro, annenin memesinden izole edilen ve yeni doğanların oral kavitesinde ve bağırsak sisteminde yerleşen, beklenmedik şekilde aside dirençli bakteriler izole etmiş ve bunlara *Bacillus acidophilus* adını vermiştir (40). Tissier, bifid bakterilerin (daha sonra *biīdobaīterium* olarak adlandırılacaklardır) sağlıklı çocuklarda çok sayıda bulunduğunu ve bu bakterilerin hastalıklı çocuklara verilerek sağlıklı bağırsak florasının sağlanması için kullanılabileceğini söylemiştir (38). Daha sonra Tissier 1908'de biberonla beslenen bebeklerin dışkılarında baskın olan *B.acidophilus*'a karşılık (37) *B. biīdus*'un anne sütü ile beslenen bebeklerin dışkılarında daha baskın olduklarını ve 3 gün boyunca yaşamlarını sürdürebildiklerini bildirmişlerdir (41). Seçilmiş bakterilerin pozitif rollerinin en açık bilimsel gözlemini; Pasteur Enstitüsü'nde yaptığı çalışmalarla Nobel ödülünü alan Ukrayna doğumlu Ilya Metchnikoff yapmıştır (Resim 1).



Resim 1. Elie Metchnikoff, Pasteur Enstitüsündeki laboratuvarında çalışırken

Metchnikoff 1900'lerin başlarında, Bulgar toplumunda her 1000 kişiden 4'ünün, 100 yaşın üzerinde olduğunu bildirmiştir. Bu noktada, Bulgarlar'ın yaşam şekillerindeki en belirgin farklılığın çok fazla fermente süt tüketmeleri olduğunu bildirmiştir (2). Metchnikoff, 1907'de laktik asit üreten *L. Bulgaricus*'un patolojik bağırsak m.o.'ları ile yer değiştirdiğini bildirmiştir (2,28). Metchnikoff, Yaşam Süresinin Uzatılması adlı ünlü kitabında laktobasil içeren yoğurtların tüketimiyle bağırsakta bulunan toksin üreten bakterilerin sayıca azaldığını ve buna bağlı olarak konağın ömrünün uzadığını belirtmiştir (2). Metchnikoff'un çalışmasının temelini; Bulgarlar'ın kiselo mleko (ekşi süt veya yoğurt) adını verdikleri süt ürününün üretilmesinde kullanılan, Grigoroff tarafından izole edilen *L. bulgaricus* oluşturmaktadır. Grigoroff, bu işlemde görev alan ve aynı zamanda patojen özellikler gösteren *Streptococcus thermophilus*'tan da bahsetmiştir (42).

Alfred Nissle, 1. Dünya Savaşı sırasında askerler üzerinde yaptığı klinik araştırmalarında, silah arkadaşlarında şiddetli diyare şikayeti varken, sağlıklı olan askerlerin dışkılarında bakteriler izole etmiştir. 1917 yılında Nissle, kronik aktif ülseratif koliti olan 20 yaşındaki bir kadında bu izolatlardan birini (*Escherichia coli*) tedavi amacıyla uygulamış ve başarılı olmuştur (43). Rettger ve Horton 1914'te (44), Rettger ve Cheplin 1920'de (45,46); insan veya sıçanların, süt veya laktoz ile beslenmesi sonucunda bağırsak mikroflorasında *B. acidophilus* ve *B. biīdus* tipi bakterilerin baskın hale geldiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, *B. acidophilus* tarafından fermente edilen süt ürünlerinin üretilmesine ilgiyi arttırmıştır (47). İlk endüstriyel yoğurt üretimi; Metchnikoff'un bu fikrine dayanılarak, çocuklarda görülen ishali tedavi amacıyla üretilmiş ve eczanelerde satılmıştır (28). Bununla birlikte, aponya'da 1930 yılında Minoru Shirota araştırmalarıyla koruyucu hekimliğin ve GI mikroflora dengesinin önemini belirtmiş ve 1930'da GI sistemden geçebilen ve canlılığını koruyabilen bir laktobasil suşu izole etmiştir. Bu laktobasil suşuna *Lactobacillus casei* Shirota ismini vermiş ve fermente süt ürünü üretiminde kullanmıştır. Bu ürün 1953'te Yakult adı altında tüketiciye sunulmuştur (48). 1930 ve 1950'li yıllar arasında savaşlar ve ekonomik bunalımlar nedeniyle bu konudaki araştırmaların sayısı azalmıştır. 1940'lı yıllarda, antibiyotiklerin ortaya çıkması ile bazı hafif şiddetli hastalıkların tedavisi veya destekleyici tedavi dışında; probiyotiklerin kullanıldığı bakteriyoterapi veya bakteriyoprofilaksi uygulamaları çok fazla uygulanmamıştır (49).

Probiyotik kelimesi, Yunanca pro ve biotos kelimelerinden türetilmiş ve hayat için anlamına gelmektedir (50). Bu terim ilk kez Kollath tarafından 1953 yılında, farklı organik ve inorganik maddelerle beslenme yetersizliğine bağlı oluşan hastalıkların tedavisinin tanımlanmasında kullanılmıştır (51).

Vergin, 1954 yılında (52), antibiyotik tedavisi sonrasında vücudun mikrobiyal dengesindeki bozulmanın probiyotikten zengin beslenme ile tedavi edilebileceğini bildirmiştir. Vergin'in yaptığı probiyotik tanımı, bugüne kadar yapılan probiyotik tanımlamaları için önemli bir referans oluşturmuştur. Kolb, 1955 yılında antibiyotik tedavisinin zararlı etkilerinden bahsetmiş ve probiyotiklerin kullanımını önermiştir (53).

1965'te Lilly ve Stillwell, probiyotikleri diğer m.o.'ların büyümesini teşvik eden ve m.o.'lar tarafından üretilen yapılar olarak tanımlamışlardır. Birkaç protozoa türünün logaritmik büyüme fazındayken ürettikleri yapıların diğer türlerin de artmasına neden olduklarını göstermişlerdir. Ancak bu etki antibiyotiklerin büyüme engelleyici etkisi kadar etkili bulunmamıştır (54).

Sperti 1971’de (55), Fujii ve Cook ise 1973’de (56) bu çalışmaya benzer bir yaklaşımla probiyotikleri; konak dokuda enfeksiyona karşı direnç geliştiren fakat in vitro şartlarda m.o.’ların büyümesini engellemeyen bileşikler olarak tanımlamışlardır.

1974’te Parker, probiyotikleri hayvanlar için destekleyici bir besin olarak tanımlamış ve bağırsak florasını dengeleyen organizmalar ve yapılar olarak tanımlamıştır (57). Bu noktada Parker, probiyotik tanımını yaparken probiyotiklerin yaşayan hücreler olduklarının önemini ilk kez belirtmiştir.

Fuller 1989’da probiyotikleri konak hayvanın bağırsak florasını dengeleyerek yararlı etki sağlayan canlı mikrobiyal besin desteği olarak ifade etmiştir (5,58).

Günümüzde geçerli olan probiyotik tanımlaması Dünya Sağlık Örgütü (WHO)/Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından yapılmış ve Yeterli miktarlarda verildiğinde konağın sağlığına katkıda bulunan canlı m.o. olarak tanımlanmıştır (59).

Bu açıklamayla probiyotik kelimesi, yaşayan m.o.’ları içeren ürünleri kapsamaktadır ve istenen etkilerin sağlanabilmesi için yeterli dozda probiyotik bakterinin konak dokuya verilmesine dikkat çekmektedir. Günümüze kadar yapılan probiyotik tanımları ve yazarları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Probiyotiklerin tanımı ve tarihçesi (31)

YIL	TANIM	YAZAR
1953	Probiyotikler, sebzelerin içerisindeki vitaminlerde, aromatik yapılarda, enzimlerde ve yaşamsal işlemlerde görev alan yapılarda yaygın şekilde bulunurlar.	Kollath (51)
1954	Probiyotikler antibiyotiklerin karşıtlarıdır.	Vergin(52)
1955	Antibiyotiklerin yıkıcı etkileri probiyotik tedavi ile önenebilir.	Kolb(53)
1965	Bir m.o. tarafından salgılanan ve diğer bir m.o.'nın büyümesini stimüle eden yapılardır.	Lilly ve Stillwell (54)
1971	Mikrobiyal gelişmeyi uyaran doku salgısıdır.	Sperti (55)
1973	Konak dokuda enfeksiyona karşı direnç geliştiren fakat in vitro şartlarda m.o.'ların büyümesini engellemeyen bileşiklerdir.	Fujii ve Cook (56)
1974	Bağırsak mikrobiyal dengesini düzenleyen organizmalar veya maddelerdir.	Parker (57)
1992	Konak hayvanda mikrobiyal dengeyi iyileştirerek yararlı etkiler gösteren canlı mikrobiyal besin desteğidir.	Fuller (60)
1992	İnsan veya hayvanlarda kullanıldıklarında bağırsak mikroflorası üzerinde iyileştirici özellikleri ile konak üzerinde yararlı etkiler gösteren canlı tek veya karışık m.o. kültürüdür.	Havenaar ve Huis int'Veld (61)
1996	Konak canlıının beslenmesi ve sağlığı üzerinde yararlı etkiler gösteren canlı mikrobiyal kültürü veya kültürize edilmiş süt ürünüdür.	Salminen (62)
1996	Belli miktarda alındığında, doğal temel beslenmenin ötesinde, sağlık için yarar etkiler gösteren canlı m.o.'lardır.	Schaafsma (63)
1999	Konak canlıının sağlığı üzerinde iyileşme sağlayan veya yararlı etkiler gösteren mikrobiyal hücre içerikleri veya ürünleridir.	Salminen ve ark. (64)
1999	Sindirim sisteminde besinsel ve mikrobiyal dengeyi arttırarak mukozal ve sistemik bağışıklığı düzenleyen ve böylece konak fizyolojisi üzerine yararlı etkiler sağlayan mikrobiyal besin desteğidir.	Naidu ve ark. (65)
2001	Konak canlıda (ekim veya kolonizasyon yoluyla) mikroflorayı değiştirerek konak canlıının sağlığı üzerinde yararlı etkiler gösteren, belirli sayıda ve belirlenmiş tipte canlı m.o.'a içeren ürün veya hazırlanmış preparatlardır.	Schrezenmeir ve DeVrese (66)
2002	Yeterli miktarda verildiğinde konak canlıının sağlığı üzerinde yararlı etkiler gösteren canlı m.o.'lardır.	FAO/WHO(59)

2.1.3 Probiyotiklerin Sınıflandırılması

Her bir probiyotik bakterinin belirlenmiş sağlık etkileri vardır. Bunlar türe özgü olduğundan bir türden elde edilen etkinin diğer türlere genellenmesi doğru değildir. Probiyotik olarak kullanılan m.o.'ların çoğu laktik asit bakterileri grubundan olmakla beraber diğer türlerden m.o.'lar da probiyotik olarak kullanılmaktadır. Süt ürünlerinde eskiden beri yaygın olarak kullanıldıklarından; probiyotik olarak, laktik asit bakterileri daha çok kullanılmaktadırlar.

Probiyotik olarak sınıflanabilecek çok sayıda değişik m.o. bulunmaktadır (Tablo 2). En genel probiyotik aileleri laktobasiller ve bifidobakterlerdir. Laktobasil ailesi içinde *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri* ve *L. reuteri* bulunmaktadır. Bifidobakter ailesi içerisinde ise *B. bifidum*, *B. longum* ve *B. infantis* bulunmaktadır (67).

Tablo-2. Probiyotiklerin Sınıflandırılması

Cins	Laktobasiller	Bifidobakterler	Diğer m.o. lar
Tür	<i>L.acidophilus</i> L□□□	<i>B. adolescentis</i>	<i>Bacillus sereus</i>
	<i>L. acidophilus</i> LB	<i>B. animalis</i> (<i>B. animalis</i> ssp. <i>lactis</i> BB□12)	<i>Basilus sereus</i> „toyoi“ sporları
	<i>L. acidophilus</i> □00□2	<i>B.biīdum</i> □N 17□010	□lostiridium <i>butiricum</i>
	<i>L. acidophilus</i> SB□□ 20□21	<i>B. biīdum</i> (□□ 20□□)	<i>E.coli</i> 10 (<i>E. coli</i> „Nissle 1917“)
	<i>L. acidophilus</i> L□□□□ L10	<i>B. breve</i>	<i>E. faesium</i> 10
	<i>L. acidophilus</i> N□□□	<i>B. in□antis</i>	<i>E. fecalis</i>
	<i>L. acidophilus</i> La	<i>B. lactis</i> □N019 (□□10)	□ropionibacteria
	<i>L. acidophilus</i> L□1	<i>B. lactis</i> L□□□□B9□	<i>Sacharomices bolardi</i> 11
	<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. lactis</i> □□W□□□Bl	<i>Sporolactobac. mulinus</i> 10
	<i>L. casei</i>	<i>B. longum</i> (BB□□)	<i>Streptococcus termophilus</i>
	<i>L. casei</i> Shirota	<i>B. longum</i> (S□ 07□)	□eilonella <i>cibari</i>
	<i>L. crispatus</i> (<i>L. acidophilus</i> „Gilliland“)	<i>B. longum</i> SB□□292□1	
	<i>L. delbruecīi</i> ssp. <i>bulgaricus</i> Lb12		
	<i>L. gasseri</i> (□□ 1□□)		
	<i>L. johnsonii</i> La1		
	<i>Lactococcus lactis</i> L1□		
	<i>L. paracasei</i> □□L□□1		
	<i>L. paracasei</i> Lpc		
	<i>L. paracasei</i> L□□□□ L2□		
	<i>L. paracasei</i> □19		
	<i>L. plantarum</i> (299 ve 299v)		
	<i>L. rhamnosus</i> □0011		
	<i>L. rhamnosus</i> GG1		
	<i>L. rhamnosus</i> LB21		
	<i>L. rhamnosus</i> 271		
	<i>L. rhamnosus</i> □N001 (□□20)		
	<i>L. reuteri</i> S□2112		
	<i>L. salivarius</i> □□□11□		

2.1.4 Probiyotiklerin Genel Özellikleri

Probiyotiklerin belirlenmesindeki en önemli kriterler; seçilen bakteri türünün konak üzerinde yararlı etki gösterebilmesi için güvenli, canlı ve metabolik olarak aktif olmalarıdır (61). Probiyotiklerin belirli bir etkinliğe ulaşabilmeleri için bazı özelliklerinin olması gerekir. Bunlara ek özellikler bulunması hastalığa özgü etki elde edilmesi istendiğinde gerekebilir.

Probiyotiklerin genel özelliklerini incelersek (1,59,68):

- i) Canlı olmalı, uygun koşullar sağlandığında canlılığını korumaya devam etmeli ,
- ii) Patojenik ve toksik etkileri olmamalı ,
- iii) Normal mikroflorayı bozmadan patojen bakterileri etkilemeli,
- iv) Antimikrobiyal maddeler üretebilmeli,
- v) Konak sağlığını olumlu şekilde etkileyecek mukozal ve sistemik immün yanıtı uyatabilmeli ,
- vi) Kullanılacağı konak kaynaklı olmalı,
- vii) Non-invaziv olmalı (istilacı olmayan),
- viii) Karsinojen olmamalı,
- ix) Asit pH ve safra tuzlarına dirençli olmalı (Ağız yoluyla alınacak probiyotiklerde canlılığın sağlanması için önemlidir. Parenteral yollarla alınacak probiyotikler için geçerli değildir),
- x) Yeterli sayıda canlı m.o., oral-GI yolculuğunu tamamlama kapasitesine sahip olarak, kalın bağırsaklara ulaşabilmeli,
- xi) Mukoza yüzeyine tutunabilmeli (Bu özelliğin immün sistemin düzenlenmesi, patojenlerin yarışma yoluyla uzaklaştırılması, patojenlerin tutunmasının önlenmesi ve geçici kolonizasyonun sağlanması için gerekli olduğu düşünülmektedir fakat tutunma özelliği zayıf fakat işlevsel probiyotikler bulunmaktadır),

Bununla birlikte probiyotikler tek veya birden fazla türde bakteri içerecek suşlar halinde hazırlanabilir. Monostrain probiyotikler belirgin türde tek bir probiyotik bakteri içeren suşlar iken, multistrain probiyotikler aynı cinse ait birden fazla bakteri içeren suşlar olarak tanımlanmaktadır. Kullanım amacına bağlı olarak multistrain probiyotikler bir veya daha fazla cinste probiyotik bakteri içerebilir(69). Monostrain (tek bakteri suşu içeren) probiyotiklerin konak doku ve endojen mikroflora tarafından oluşturulan engelleri tek bir suş olarak aşması gerekmektedir. Multistrain (birden fazla bakteri suşu içeren) probiyotikler ise

monostrain probiyotik suşlarına göre etki mekanizmaları açısından daha büyük farklılıklara sahiptirler. Endojen mikrofloranın antagonistik etkisinin azaltılmasında, uygun pH ortamının sağlanmasında, konak dokuya adezyonun arttırılmasında ve probiyotik bakterilerin canlılıklarını uzun süre devam ettirmesi konusunda gelişmiş özelliklere sahiptirler (69,70,71).

Multistrain probiyotikler, genelde antibiyotik bağlantılı diyarenin görüldüğü çocuklarda kullanılmaktadır. Multistrain probiyotiklerin oluşturulmasında genellikle sinerjik etki gösteren uyumlu bakteriler tercih edilir (69).

2.1.5 Probiyotiklerin Kullanım Alanları

Yapılan araştırmalar ve klinik çalışmalar ışığında birçok hastalığın tedavisi veya önlenmesi amacıyla probiyotikler kullanılabilir. Probiyotiklerin kullanım alanlarına bakıldığında:

- i) Ağız ve diş sağlığının geliştirilmesinde (19,72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90),
- ii) Antibiyotik bağlantılı bağırsak yan etkilerini ve diyarenin önlenmesinde (91),
- iii) Yiyecek alerjisi ve atopik egzemanın önlenmesinde (92,93),
- iv) *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının tedavisi ve önlenmesinde (94),
- v) Kandida ve bakteriyel vajinozis tedavisi ve önlenmesinde (95, 96, 97),
- vi) Yolculuk diyaresinin önlenmesinde (98, 99, 100, 101, 102),
- vii) Crohn hastalığı ve ülseratif kolit tedavisinde (103),
- viii) Astım ve benzeri allerjik hastalıkların önlenmesinde (104),
- ix) Kistik fibroz tedavisinde (bağırsak semptomlar ve solunum episodları) (105),
- x) Akut rotavirüs ve buna bağlı diyare ve gastroenteritten korunma ve tedavisinde (106),
- xi) İrritabl bağırsak sendromunun tedavisinde (107),
- xii) Yoğun bakım ünitelerinde potansiyel patojenlerin kolonizasyonunun önlenmesinde (108,109),
- xiii) *H. pylori* enfeksiyonlarının tedavisinde (110),
- xiv) Kolon kanserinin önlenmesinde (111),
- xv) Romatoid artrit tedavisinde (112),

- xvi) Cinsel yolla geçen hastalıkların ve HIV'in önlenmesinde (113),
- xvii) Karaciğer kanserinin önlenmesinde (114),
- xviii) Kanser riskinin azaltılmasında (111),
- xix) Üropatojenlerin koagregasyonunun önlenmesinde (115),
- xx) Yüksek kan basıncının düşürülmesi ve kardiyovasküler sistem hastalıklarının tedavisinde (116,117),
- xxi) Karaciğer yetmezliği ve transplantasyonu yapılmış hastalarda profilaksi amaçlı olarak (59),
- xxii) Yoğun bakımdaki yetişkin hastalarda immün destekleme amaçlı tedavisinde (59),
- xxiii) Yeni doğan ünitelerinde, doğan bebeklerin immün sistemini desteklemek amacıyla kullanılmaktadır (118, 119, 120).

2.1.6 Probiyotikler ve Günlük Ürünler

Son yıllarda probiyotiklerle yapılan çalışmalarda; probiyotik bakterilerin en önemli etkilerinin bağırsak florası üzerine ve konak sağlığının korunması üzerine olduğu vurgulanmıştır (121). Günümüzde dünya genelinde pek çok probiyotik bakteri içeren ürün bulunmaktadır (Tablo 3). Laktobasiller ve bifidobakterler fermente süt ürünlerinde ve diğer günlük ürünlerde probiyotik olarak en çok kullanılan bakteri türleridir. Günlük olarak 10^6 - 10^{10} canlı hücrenin sindirilmesi insanda yararlı etkinin görülmesi için yeterli olmaktadır. (122). Ürünün yeterli miktarda m.o. içerdiğinden emin olmak için bakteri hücreleri dondurulma işlemine dayanabilmeli ve soğuk ortamda saklama koşullarında yaşayabilmelidir. Yapılan araştırmalarda m.o'ların daha düşük sıcaklıklarda yaşama oranının daha fazla olduğu ve saklama süresinin artması ile bakterilerin ölüm oranının arttığı bildirilmiştir. (123, 124, 125, 126)

Tablo 3. Günümüzde dünya marketlerinde yer alan probiyotik ürünler (79)

Dünyadaki başlıca probiyotik ürünleri	
<i>B. bifidum</i>	Bebek maması, dondurma (Türkiye)
<i>B. breve</i>	İçecek (aponya)
<i>B. lactis</i>	Bebek maması (İsrail) İçecek (Güney Afrika, Şili)
<i>B. lactis</i> □N019	Araştırma halinde (Yeni Zelanda)
<i>B. longum</i>	Bebek maması (Türkiye)
<i>B. longum</i> SB□□292□	Süt (aponya)
<i>B. longum</i> BB□□□	Süt (aponya)
<i>B. sp</i>	İçecek (İngiltere)
<i>L. acidophilus</i>	İçecek (İngiltere) Yoğurt (ABD, Şili) Yoğurt, içecek (Avusturya)
<i>L. acidophilus</i> □	Yoğurt (İngiltere)
<i>L. acidophilus</i> 7	İçecek (Avusturya)
<i>L. acidophilus</i> Lat 11□□□	Araştırma halinde (Rusya)
<i>L. acidophilus</i> N□□B 17□□	Yoğurt (Danimarka)
<i>L. acidophilus</i> SB□□20□2	Süt (aponya)
<i>L. bulgaricus</i>	İçecek (Avusturya ,Fransa)
<i>L. casei</i> □N□11□001	İçecek (Avusturya, Fransa)
<i>L. casei</i> Shirota	İçecek (ABD,Almanya, Arjantin, Avustralya, Belçika, Brezilya, Brunei Sultanlığı, Çin, Endonezya, Fransa, Filipinler, Hollanda, HongKong, İngiltere, aponya, Kore, Lüksemburg, Meksika, Singapur, Tayland, Tayvan, Uruguay)
<i>L. casei</i>	İçecek (ABD) Kefir (Illinois/ABD, Avusturya) Yoğurt (Arizona, Colorado/ABD)
<i>L. helveticus</i>	Süt, içecek (Finlandiya) İçecek (İzlanda)
<i>L. Johnsonii</i> La1	Yoğurt (Almanya, Avusturya, İsviçre, Japonya)
<i>L. lactis</i> L1□	Yoğurt (İsveç)
<i>L. plantarum</i>	Kefir (Illinois/ABD)
<i>L. plantarum</i> 299v	Destekleyici içecek (İsveç) Dondurma (İsveç) Meyve suyu (İsveç)
<i>L. plantarum</i> □□□1	Araştırma halinde (İsveç)
<i>L. reuteri</i>	Bebek maması (İsrail) Damla(İsveç, Türkiye) Dondurma (Finlandiya) Meyve Suyu (Finlandiya) Peynir (Finlandiya, İspanya, Portekiz)

	Süt (aponya, Finlandiya) Yoğurt (ABD, Finlandiya) Yoğurt, İçecek (İngiltere)
<i>L. rhamnosus</i> □□□□□10□(LGG)	İçecek (Estonya, Finlandiya, İsveç, İsviçre) Kefir (Letonya) Meyve suyu (Finlandiya) Meyvalı yoğurt (Finlandiya, İsveç) Peynir (Finlandiya) Peynir altı suyu bazlı içecek (Finlandiya) Süt (BAE, İsrail, İtalya) Sütün içerisinde (Almanya, Estonya, Grönland, Güney Kore, İrlanda, İspanya, İsrail, İzlanda, aponya, Portekiz) Yoğurt (Avustralya, Bosna-Hersek, Ekvador, Endonezya, Estonya, Finlandiya, Güney Kore, Hırvatistan, Hollanda, İsrail, İsviçre, İtalya, aponya, Letonya, Norveç, Papau Yeni Gine, Slovenya) Yoğurt, içecek (Avustralya, Bosna-Hersek, Ekvador, Finlandiya, Hırvatistan, Hollanda, İsveç, Norveç, Slovenya, Uruguay, Tayvan)
<i>L. rhamnosus</i>	İçecek (Finlandiya, Güney Afrika, İsveç, Şili)
<i>L. rhamnosus</i> LB21	Yoğurt (İsveç)
<i>L. rhamnosus</i> 271	İçecek (İsveç)
<i>L. salivarius</i> □ □ □ 11 □	Araştırma halinde (İrlanda)
<i>L. rhamnosus</i> □□□E□97□00	Araştırma halinde (Finlandiya)
<i>S. salivarius</i> □12	Lozanj (Yeni Zelanda)
<i>S. thermophilus</i>	Bebek maması (Türkiye) İçecek (Avusturya, Fransa) Yoğurt, içecek (Avusturya)
<i>E. faecium</i>	Yoğurt (Danimarka)
<i>E. faecium</i> □argo □□□	Araştırma halinde (ABD)

2.1.7 Probiyotiklerin Güvenliği

Probiyotikler genel olarak tüketildiklerinde insan sağlığı üzerinde yararlı etki gösteren m.o.'lar olarak tanımlanırlar (127). Laktobasiller, bifidobakterler, laktokoklar genel olarak güvenli kabul edilirler. Bununla birlikte probiyotiklerin güvenliği ile ilgili kaygıları 2 teorik başlık altında toplayabiliriz.(128, 129, 130, 131, 132, 133, 134)

i) Bakteriyemi veya endokardit gibi hastalıkların görülme riski:

Laktik asit bakterileri ile birlikte bifidobakterlerin de bakteriyemide izole edildiğini ve buna ek olarak endokardit nedeni olabileceği bilinmektedir (132, 135, 136, 137, 138). Endokardit veya bakteriyemi ile bağlantılı organizmaların listesinde *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. salivarius* bulunmaktadır.

ii) Gastrointestinal sistem üzerinde toksik veya metabolik etkilerin görülme riski:

Hücrelerin kaynak yerlerinden çıkarak başka dokulara geçmesine transmigrasyon adı verilir. Burada bakterilerin bağırsak epitelini geçebilmesi ifade edilmektedir. Probiyotikler, transmigrasyon potansiyelleri ve kolonize olabilme özellikleri nedeniyle GI sistemin fizyolojisi ve fonksiyonu üzerinde olumsuz etki gösterebilmektedir. Bununla birlikte metabolik ve fizyolojik yan etkiler de meydana getirebilmektedirler (132, 133, 139). Transmigrasyona bağlı olarak toksisite potansiyellerine karşın probiyotiklerin bu tip yan etkiler gösterdiğine dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır (59, 140). Hayvan modelleri üzerinde yapılan birçok çalışmada probiyotik terapisi sonucu diğer bakterilerin seviyesinde herhangi bir artış görülmemiştir (141). Buna ek olarak probiyotikler, tüketildiği süre içerisinde patojenlerin transmigrasyonunda azalma meydana getirmişlerdir (142). İnsanlar üzerine yapılan birkaç klinik çalışmada, probiyotik tüketen hastalarda; probiyotik tüketmeyen hastalara göre daha az transmigrasyon görülmektedir (142). Hayvan deneyleri sonucu elde edilen kanıtlar, probiyotik bakterilerin kan dolaşımına transmigrasyonunun tam tersine diğer bakterilerin translokasyonunda belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda probiyotik tüketimine bağlı endokardit veya bakteriyemi riski ile ilgili herhangi bir kanıt bulunamamıştır (143). Buna ek olarak hem hayvanlar hem de insanlar üzerine yapılan çalışmalarda bağırsak proteinlerinin geçirgenliği üzerinde herhangi olumsuz bir etki görülmemiştir (144).

Genel olarak güvenli kategorisinde sınıflandırılan organizmalar laktobasiller, laktokoklar, bifidobakterler ve mayalardır (59). Enterokoklar, basiller ve streptokoklar gibi spor oluşturan diğer bakteriler genel olarak güvenli kabul edilmeseler de probiyotik olarak kullanılmaktadırlar (127).

Ishihara ve ark. (1985) laktik asit bakterilerinin toksisitesini araştırdığı çalışmalarında, farelerde 50 letal dozu araştırmış ve hiçbir akut toksisite bulgusuna rastlamamıştır (145). Probiyotik tüketiminin artışı bu türlerin konak üzerinde konsantrasyonlarını da arttırmaktadır. Bu noktada laktobasil bakteriyemisine nadir olarak rastlanmaktadır ve bu konudaki klinik

bilgiler son 30 yıldır rapor edilen 180 vakadan elde edilmiştir (146). Laktobasil bakteriyemisinin klinik özellikleri çok fazla değişkenlik göstermekle birlikte; asemptomatik vakalardan septik şok benzeri semptomlara kadar bulgular gözlenmiştir (147).

Her canlı m.o. bakteriyemiye neden olabilir ve özellikle yetersiz bağışıklık sistemi olan veya altta yatan başka ciddi bir sistemik hastalığı olan bireylerde görülmektedir. Laktobasil bakteriyemisi hakkında yayınlanan birçok raporda hastalara organ transplantasyonu, diabet, kardiyovasküler hastalıklar, GI bozukluklar, malinite yada başka sistemik hastalıkların eşlik ettiği bildirilmiştir (138, 148). Salminen ve ark. (2002); 1990–2000 yılları arasında Fin toplumundan aldıkları kan örneklerinde; özellikle LGG içeren süt ürünlerinin tüketildiği bu dönemde, Laktobasil bakterisinde artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte Salminen (2006), HIV pozitif olan hastalarda LGG tüketimi sonrasında hiçbir yan etki görülmediğini rapor etmiştir (149). Yapılan hayvan deneylerinde *L.lactis*, *L.casei*, *L.plantarum*, *L.helveticus* ve rekombinan *L.plantarum* intranazal yolla yayılan *S. pneumoniae* antiijenlerine ve tetanoz toksinlerine karşı sistemik ve mukozal savunma cevabı oluşturmaktadır (150, 151).

Probiyotiklerin kullanımına bağlı bakteriyemi veya fungemi vakaları nadir olmasına karşın araştırmalar, probiyotik kullanımı sonucunda m.o. popülasyonunda artışın olabileceği riskini göstermektedir. Buna rağmen kontrollü birçok klinik çalışma, probiyotik kullanımının güvenli olduğunu göstermiştir (152).

2.2 Probiyotiklerin Genel Sağlıkta Rolü

Probiyotikler pek çok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde önemli rol oynarlar (5, 153). Probiyotiklerin vücut sistemine olan etkileri aşağıda ayrıntılı olarak incelenmiştir.

2.2.1 Probiyotiklerin Gastrointestinal Sisteme Etkileri

Probiyotikler; GI sistem üzerinde etkinliğini, mukozal direnci arttırarak ve bağırsak mikrobiyotasını koruyarak, bağırsak patojenlerine karşı kolonizasyon direnci geliştirmektedir (154). GI sistem; besinlerin sindirilip metabolize edildiği, mikrobiyal patojenlere ve bu patojen m.o.'ların konağa zararlı ürünlerine karşı vücut savunmasının geliştiği bir sistemdir. Bağırsaklar, vücudun en büyük immünolojik organı olmakla birlikte

patojen m.o.'lara karşı savunmanın geliştiği ilk yerdir (155). Bağırsak mikroflorasının yapısı, bireyi korumakta veya hastalığa eğilimli hale getirmektedir. Kısacası, bağırsak bakterileri genel sağlığın gelişmesinde çok önemlidir. Bebeklerde normal bağırsak mikroflorası immün sistemin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (156). Erken çocukluk döneminde savunma sisteminin gelişmesinde farklı bakteri türleri arasında denge olması çok önemlidir ve çocuğu alerjik reaksiyonlara karşı korur (157). Probiyotiklerin tedavi ve koruma amacıyla kullanıldığı durumlar 2.1.5'te ayrıntılı olarak bildirilmiştir.

2.2.2 Probiyotiklerin İmmün Sisteme Etkileri

Probiyotikler alerjik belirtilerin ve immünolojik patoloji görülen hastalıkların azaltılmasında kullanılmaktadırlar (5). İmmünolojik reaksiyonların başlangıç yeri olarak GI sistem kabul edilmektedir. İmmünolojik reaksiyonlar; özelliklerine ve reaksiyon hızlarına bağlı olarak doğumsal veya edinsel cevap olarak ikiye ayrılırlar (158).

Probiyotikler, bağırsak mikroflorası üzerine etki ederek doğumsal ve edinsel kazanılan immünolojik cevabın oluşmasında rol oynarlar (155). Probiyotikler, spesifik olmayan immüniteyi uyararak veya humoral ve hücrel immünite geliştirerek enfeksiyonların görülme sıklığına etki edebilir (159). Birçok çalışmada probiyotiklerin, anaokuluna giden çocuklarda ve yetişkinlerde immüniteyi arttırarak sık görülen enfeksiyonların önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (155, 160, 161, 162).

Yakın dönemde yapılan randomize kontrollü çalışmalar; patojen olmayan bağırsak bakterilerinin, özellikle laktobasiller ve bifidobakterlerin, oral kavite içerisinde karyojenik streptokokları ve kandidaları inhibe ederek yararlı etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (84, 85).

2.2.3 Probiyotiklerin Ürogenital Sisteme Etkileri

Laktobasillerin vaginal kullanım konsepti 1929'a uzanmaktadır (163). Günümüzde hem oral (164) hem de vajinal (165) uygulama metodları kullanılmaktadır. Genç ve yetişkin bayanlarda bakteriyel vajinitis (BV) en sık karşılaşılan ürogenital hastalıktır. Probiyotik tedavilerinde hedef olarak BV'nin önlenmesi (166), BV'nin tedavisi (167, 168, 169, 170, 171, 172), sık tekrarlayan BV'nin önlenmesi (172), üriner yolların enfeksiyonu (UTI)'nun

önlenmesi (173,174) ve tedavisi hedeflenmiştir. Probiyotiklerin BV tedavilerinde yardımcı tedavi olarak etkili olduğu bildirilmiştir (175,176). Buna ek olarak erken doğumun engellenmesi amacıyla vajinal probiyotik uygulanımı tavsiye edilebilmektedir (177).

2.2.4 Probiyotiklerin Orofarengeal Sisteme Etkileri

Orofarenks; yukarıda yumuşak damak, önde dil kökü ve aşağıda epiglotun üst kenarı hizasına kadar olan, ağız içi muayenede görülebilen farenks bölgesidir. Orofarenks; solunan havanın soluk borusuna geçişini, nazofarenksten gelen salgının özofagusu geçişini ve alınan besinlerin özofagusu geçişini sağlamaktadır. Aynı zamanda orofarenks nazofarenks ve orofarenksteki lenfoid yapılarla savunma ve immünitelerde rol oynamaktadır.

Orofarenks muköz yapıda bir membran ile kaplıdır. Doğum öncesinde oral kavite sterildir ve doğumla birlikte kontaminasyon yolu ile muköz membranda bakteriyel kolonizasyon meydana gelir. Doğumdan sonraki 2. günde fakültatif aerop bakteriler hızla kolonize olmaya başlarlar ve ilk süt dişleri sürene kadar baskındırlar (178, 179). Muköz membranda kolonizasyon, farklı m.o.'lar arasında yarışmacı etkileşimle meydana gelir (180).

S. pyogenes oral mukozada sporlar aracılığı ile yayılarak enfeksiyona neden olabilen m.o.'lardan başlıcalarıdır. Normal olarak yetişkinlerin oral kavitelerinde kolonize olmazlar. Özellikle okul çağı çocuklarında, farinks ve oral bölgede taşınabilirler. *S. pyogenes*, faringotonsilit enfeksiyonları ile yakından ilişkilidir. Bu hastalığın akut devresinde *S. pyogenes* yetişkinlerden alınan tükürük örneklerinde saptanabilmektedir (90).

Akut *S. pyogenes* enfeksiyonlarında, kommensal streptokokların verilmesiyle yer değiştirme terapisi, streptokok kontrolünde antibiyotik kullanımına karşı ekolojik olarak etkili bir alternatif sunmaktadır (181). Diğer yandan *S. pyogenes*'e bağlı oral mukoza enfeksiyonları az görülür (90).

Ses protezleri, malign laringeal tümör nedeniyle laringektomi tedavisi görmüş olan hastalarda konuşma terapisi ve trakeostomi sonrasında hastanın nefes alabilmesi için kullanılan ajanlardır (73). Ses protezlerinin en büyük dezavantajı kullanımdan birkaç hafta sonra mantarların ve bakterilerin kolonize olduğu kalın bir biyofilm tabakası oluşturmalarıdır. Bu biyofilm, yemek ve sıvıların sızıntı yapmasına ve valflerin tıkanmasına ve nefes alınmasında zorluğa neden olmaktadır (182). Bu durum 3–4 ayda bir, ses protezinin

yenilenmesine gereksinim oluşturmaktadır. Uzun süreli antifungal ajanların kullanılması direnç gelişme riskine karşılık pek tercih edilmemektedir (183).

Probiyotik bakterilerin antimikrobiyal ve antiadeziv olarak protezin yüzeyine sürülmesi, ses protezlerinin kullanım ömrünü uzatmaktadır. Böylece farklı m.o.'ların proteze tutunmasını engellemekle birlikte hava geçişi de düzenli olarak sağlanmaktadır (184).

2.2.5 Akut Otitis Media ve Probiyotikler

Akut otitis media (AOM) çocuklarda, genellikle *S. pneumoniae* ile birlikte gelişen en yaygın bakteriyel enfeksiyondur (185). *emophilus influenzae* ve daha az sıklıkla *oracella catarrhalis* ve *S. pyogenes* ile birlikte görülürler. Hastalığa neden olan bakteri tipik olarak nazofarinksten orta kulağa öztaki borusu yolu ile ulaşmaktadır (186). Pek çok çocuk Rekürrent Otitis Media'ya yatkınlık göstermekte ve tekrarlayan enfeksiyondan korunma stratejilerinde antibiyotik profilaksisi ve timpanostomi tüpü uygulanması seçilmektedir. Timpanostomi tüpünün yerleştirilmesi etkili olmakla birlikte pahalı bir yöntemdir. Buna ek olarak genel anestezi ve cerrahi riskleri içermektedir. Antibiyotiklere dirençli m.o.'ların sayıca artışı, antibiyotik profilaksisi ile ilgili soruları arttırmaktadır (187). Bununla birlikte uygulanacak profilaksi nazofarengeal mikrofloranın dengesine de etki ederek ve patojen m.o.'ların kolonizasyonunu arttırabilmektedir (188).

Probiyotik kullanımı, immün sistemi kuvvetlendirmekte ve enfeksiyona yatkın olan kişilerde enfeksiyon direncini geliştirmektedir (84). Probiyotik tedavileri mikrobiyal dengenin tekrar sağlanması ve enfeksiyonların engellenmesi için etkili seçenek sunmaktadırlar. Probiyotik mekanizması; patojenlerle probiyotik bakterilerin ortamda bulunan besin için yarışmaya girmeleri ve epitel yüzeye yapışmaları, bakteriosin ve diğer inhibitör ürünlerin oluşturulması ve mukozal/sistemik immünitinin arttırılmasından oluşmaktadır (189).

2.2.6 Probiyotiklerin Oral Ekosistem Üzerine Etkileri

Halitosis (ağız kokusu)'in, normal olarak kommensal mikroflora dengesindeki bozukluğa bağlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (190). Uçucu kükürt bileşikleri (VSC), 90 oranında hidrojen sülfid (H₂S) ve metil merkaptan (CH₃SH) içermekte ve genel olarak halitosisin belirtisi olarak kabul edilmektedir (191). Bu bileşiklerin, *□ nucleatum*, *□ gingivalis*, *□ intermedia*, ve *□ denticola* gibi Gram (-) anaerob bakteriler tarafından üretildiği bildirilmektedir (192, 193).

Kang ve ark., probiyotik bakteri olarak kabul edilen *W. cibaria*'nın ağız yolu ile alımı sonrasında *□ nucleatum* tarafından üretilen VSC üzerinde kesin inhibitör etki gözlemlenmiştir. VSC'nin azaltılmasındaki olası mekanizmanın *W. cibaria* tarafından üretilen hidrojen peroksitin (H₂O₂) *□ nucleatum* proliferasyonunu inhibe etmesi olduğu bildirilmiştir (190). Buna ek olarak *S. salivarius*'un, oral probiyotik adayları arasında olup kolonizasyon alanlarına yerleşebilen türlerle yarışa girerek VSC'nin azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (14).

Burton ve ark. (14,194,195) *S. salivarius* suşu olan K12'nin 2 adet lantibiyotik (lantionin içeren peptid antibiyotikler) bakteriosini oluşturduğunu ve bu bakteriosinlerin halitoziste etkili birçok Gram () bakteri suşu üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiklerini bildirmişlerdir. Lantibiyotikler; Streptokok ve streptomisinler gibi çok sayıda Gram () bakteriler tarafından diğer Gram () bakterileri yok etmesi amacıyla üretilirler ve bakteriosinlerin bir üyesi olarak kabul edilirler.

Probiyotiklerin mantarlar üzerine etkilerini incelediğimizde, *□andida albicans* oral kavitede en sık görülen enfeksiyöz m.o.'dan birisidir. Mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığı ileri yaştaki bireylerde bağışıklık sistemindeki yetersizliğe bağlı olarak artmaktadır. *L. acidophilus* ve *L. fermentum* bakterilerinin kolonizasyonu inceledikleri çalışmalarında Elahi ve ark.(2005); farelere probiyotik ürünlerin verilmesinden sonra *□. albicans* sayısında hızlı bir düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Probiyotiklerin düzenli kullanımı ile uygulama sonrası koruyucu etki devam etmekte ve mantar sayısı tespit edilemeyecek seviyelere kadar düşebilmektedir (196).

Bu noktada Elahi ve ark. (2005) interlökin-4 sekresyonu ile *□.albicans*'ların tamamen yok edilmesi arasında bir korelasyon gözlemlenmiştir. Yaşlılarda *L. rhamnosus GG* ve

Lactobacillus reuteri ssp. *shermanii* içeren probiyotik peynirlerin tüketiminden sonra *C. albicans* görülme sıklığındaki düşüş; Hattaka ve ark. tarafından 2007 yılında randomize plasebo-kontrol şeklinde yapılan çalışmalar sonucunda gözlenmiştir (84).

2.3 Probiyotikler ve Ağız-Diş Sağlığı

Diş çürüklerinin önlenmesi ve oral hijyenin sağlanması; geleneksel olarak mekanik veya spesifik olmayan dental plak kontrolüne dayanmaktadır (59). Konağa özgü cevap ve eşlik eden diğer faktörler hastalığın başlamasına ve ilerlemesine etki etmektedir. Antimikrobiyal ajanların kullanıldığı tedavi yaklaşımları, mekanik plak kontrolünü tamamlamaktadır. İdeal olarak tedavi stratejileri, oral kavitede her 1 ml tükürükte veya 1 mg dental plakta bulunan 10^8 - 10^9 sayıdaki, 1000'den fazla bakteri türünün oluşturduğu oral mikrofloranın biyolojik dengesini bozmadan plak oluşumunun engellemesi şeklindedir (197).

Diş çürüğü, bakteri plağında bulunan asidojen m.o.'ların diyetle alınan karbonhidratları plak içinde metabolize ederek asit üretmesi sonucu dişin sert doku elementlerinin zaman içinde çözünmesi ile ilerleyen multifaktöriyel bir hastalıktır (198, 199). Bakteri plağının oluşumu, dişler temizlendikten sonra glikoprotein yapıdaki matriksin diş yüzeyine çökmesiyle başlar. Birkaç saat içinde ağız florasında bulunan özellikle kok şeklindeki m.o.'lar matriks üzerine tutunur ve zamanla m.o.'ların hücre yüzeyleri ile matriksle kaplı diş yüzeyi arasındaki etkileşimler sonucu plak mikroflorasının yoğunluğu gittikçe artar (198, 199, 200).

Plak içindeki m.o.'lar kendi gereksinimleri için ortamdaki substratları kullanarak üremeye devam ederler. Karbonhidratlar içinde bir disakkarit olan sukroz; tüm bakteriler için önemli besin kaynağıdır ve hemen hemen tüm bakterilerin hücre duvarından geçerek asite indirgenebilir. Bu nedenle en önemli çürük etkenidir (59). Ayrıca m.s.'ları sukrozdan bir ekstrasellüler polisakkarit olan glukon sentezlerler. Glukon, suda çözünmediğinden ve bakterilerin sert yüzeye yapışmasını kolaylaştırdığından diş çürüğü oluşumunda çok önemlidir.

Ağız florasında çok sayıda ve değişik tipte m.o. bulunur. Bu m.o.'lardan *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* ve laktobasiller asidojenik yani kendileri asit üretebilen m.o.'lar olup; diş çürüğünde asıl rolü oynarlar ve bu yüzden karyojen m.o.'lar olarak da adlandırılırlar (201). Oral yolla probiyotik alımının diş çürüklerine etkisi üzerine farklı test

suşları ile yapılan birkaç deneysel çalışma bulunmaktadır. *L. rhamnosus* GG (72, 74, 76) ve *L. casei* (73)'nin, oral streptokokların büyümesi üzerindeki engelleme potansiyelleri kanıtlanmıştır. *L. reuteri* içeren süt ve süt ürünlerinin tüketimi sonrasında m.s.ların sayısında belirgin düşüş gözlenmiştir (78, 81). Probiyotik bifidobakterlerin m.s.'lar üzerine etkileri ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır (19, 80, 88). Günümüze kadar pek çok araştırmacı tarafından oral kavitede kullanılan probiyotik test suşları ve bu çalışmaların sonuçları Tablo-4 de verilmiştir.

Tablo 4. Oral kavitede kullanılan probiyotik test suşları

Araştırmacı ve yılı	Test suşu	Çalışma metodu	Probiyotik a an ve süre	Hasta sayısı N ve yaş grubu	Sonuçlar
Ishihara ve ark., 1985	<i>L. fermentum</i> AD0002, <i>L. salivarius</i> AD0001, <i>S. faecium</i> AD1050, <i>S. equinus</i> AD8005	In vitro	(-)	(-)	LAB'nin hücre salgıları <i>S. mutans</i> 'lar üzerinde inhibisyon etkisi göstermekte ve tükürükte buldukları süre içerisinde bu özelliklerini kaybetmemektedirler.
Silva ve ark., 1987	<i>LGG</i> ATCC 53103	In vitro	(-)	(-)	<i>LGG</i> tarafından salgılanan yapılar, laktobasiller dışında laktik asit üreten bakterileri de içeren G(+) ve G(-) bakteriler üzerinde inhibitör etki göstermektedir.
Meurman ve ark., 1995	<i>LGG</i> ATCC 53103	Kontrol grubu yok	Yoğurt, 1 hafta	N=9, 25 yaş	<i>LGG</i> nin oral streptokoklar üzerindeki inhibitör etkisi zayıftır ve <i>LGG</i> 'nin inhibitör etkisi düşük pH seviyesiyle sınırlıdır.
Busscher ve ark., 1999	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>B. bifidum</i>	In vitro, in vivo, kontrol grubu yok	Yoğurt, 1 hafta	N=14, 17-35 yaş	Kullanılan probiyotik bakteriler m.s.'ler üzerinde inhibisyon etkisi göstermişlerdir
Nase ve ark., 2001	<i>LGG</i> ATCC 53103	Randomize plasebo kontrollü, çift-kör	Süt, 7 ay	N=594, 1-6 yaş	<i>LGG</i> , m.s.'ler üzerinde inhibisyon etkisi göstermiştir.
Hatakka ve ark., 2001	<i>LGG</i> ATCC 53103	Randomize plasebo kontrollü, çift-kör	Süt, 7 ay	N=571, 1-6 yaş	<i>LGG</i> solunum yolu enfeksiyonlarında düşük seviyede azalma meydana getirmiştir.
Ahola ve ark., 2002	<i>LGG</i> ATCC 53103, <i>L. rhamnosus</i> LC-705	Randomize plasebo kontrollü, çift-kör	Peynir, 3 ay	N=74, 18-35 yaş	<i>LGG</i> , <i>L. rhamnosus</i> LC 705 içeren peynirlerin tüketimi tükürükte bulunan karyojenik bakterilerin seviyesinde belirgin azalma sağlamıştır
Comelli ve ark., 2002	<i>S. thermophilus</i> NCC2284, NCC1971, NCC2008, NCC2038, NCC2130, NCC2145, NCC2172, NCC1529, NCC1536, NCC1554, NCC1561, NCC1587, <i>S. macedonicus</i> NCC2419, <i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> NCC92, NCC1932, <i>L. lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i> NCC1970, NCC2057, NCC2225, NCC2272, <i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> NCC2224, NCC2228, NCC2484, <i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> NCC2211, <i>S. sobrinus</i> OMZ176, <i>S. oralis</i> OMZ607, <i>S. naeslundii</i> OMZ745, <i>S. dispar</i> OMZ493, <i>S. nucleatum</i> OMZ596	In vitro	(-)	(-)	Araştırılan m.o.'lar, diş benzeri yapılara yapışma özelliğine sahiptirler ve karyojenik <i>S. sobrinus</i> da içinde bulunduğu oral mikrofloranın düzenlenmesinde etkilidirler.

Araştırmacı ve yılı	Test suşu	Çalışma metodu	Probiyotik a an ve süre	Hasta sayısı N ve yaş grubu	Sonuçlar
Nikawa ve ark., 2004	<i>L. reuteri</i> SD2112 (ATCC55730),	Çift-kör, plasebo kontrollü	Yoğurt, 2 hafta	N=40, 20 yaş	<i>L. reuteri</i> SD2112, diş çürüğü riskinin azaltılmasında etkili olabilir.
Montalto ve ark., 2004	<i>L. sporogens</i> , <i>L. biūidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. termophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i>	Randomize kontrollü, çift-kör	Sıvı/kapsül, 45 gün	N=35, 23-37 yaş	Çürük oluşumunda etkili bakterilerin tükürükteki seviyelerinin azaltılmasında ve çürük riskinin azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir.
Kang ve ark., 2005	<i>W. cibaria</i> CMU, CMS2 ve CMS3	In vitro		N=460, 4-7 yaş	<i>W. cibaria</i> , \square <i>nucleatum</i> 'la birleşip epitel hücrelere etkili şekilde yapışabilmekte ve S-proteinleri yapışmayı pozitif yönde etkilemektedir
Çağlar ve ark., 2005	<i>B. biūidum</i> DN-173 010	In vivo, çift-kör, randomize, cross-over	Yoğurt, 2 hafta	N=26, 21-24 yaş	Çürük yapıcı patojenlerin miktarında azalma gözlenmiştir.
Lima ve ark., 2005	<i>L. casei</i> Shirota, <i>L. acidophilus</i>	In vitro			Test suşlarına bağlı farklı yapışma yolları bildirilmiştir.
Çağlar ve ark., 2006	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730	In vivo randomize plasebo-kontrollü	Pipet, 3 hafta	N=120, 21-24 yaş	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730, m.s.'lerin inhibisyonunda etkili olduğu fakat laktobasillerin seviyesinde anlamlı bir azalmanın olmadığı bildirilmiştir
Krasse ve ark., 2006	<i>L. reuteri</i> LR-1 ve LR-2	Çift-kör, plasebo kontrollü, randomize	Sakız, 14 gün	N=59	<i>L. reuteri</i> 'nin gingivitis tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir
Kang ve ark., 2006	<i>W. cibaria</i>	In vivo	Gargara	N=46, 20-30 yaş	VSC üretiminin inhibisyonu görülmüştür.
Burton ve ark., 2006	<i>S. salivarius</i> K12	In vivo	Pastil, 28 gün	N=14	VSC seviyelerinde düşüş görülmüştür.
Yli-Knuuttila ve ark., 2006	<i>LGG</i> ATCC 53103	In vivo	Meyve suyu, 2 hafta	N=56, yaş 25.8 10.5	Oral kavitede sadece geçici kolonizasyon meydana gelmiştir.

Araştırmacı ve yılı	Test suşu	Çalışma metodu	Probiyotik a an ve süre	Hasta sayısı N ve yaş grubu	Sonuçlar
Haukioja ve ark., 2006	<i>LGG</i> ATCC 53103, <i>L. rhamnosus</i> 5.3a, <i>L. paracasei</i> 8.12a, <i>L. rhamnosus</i> 11.4a, <i>L. paracasei</i> 8.16b, <i>L. rhamnosus</i> 5.1a, <i>L. delb sp. bulgaricus</i> □□□ <i>L. acidophilus</i> NFCM, <i>L. reuteri</i> SD 2112, <i>L. plantarum</i> 299V, <i>L. casei</i> 921, <i>L. rhamnosus</i> LC 705, <i>L. paracasei</i> F19, <i>B. breve</i> H-1-10, <i>B. breve</i> H-1-3, <i>B. lactis</i> Bb12, <i>B. longum</i> 2C, <i>B. longum</i> 46, <i>B. adplescentis</i> A 16, <i>L. rhamnosus</i> 5.5a, <i>L. ohnsonii</i> LA1, <i>L. casei</i> Shirota, <i>L. paracasei</i> 12.11a, <i>B. ināntis</i> A3	In vitro	(-)	(-)	Oral yüzeylere yeterli düzeyde yapışmanın olmadığı, bifidobakterlerin tükürük kaplı yüzeylere iyi yapışamadığı fakat □ <i>nucleatum</i> ile kaplı HA yüzeylere daha iyi bağlanma sağladığını bildirilmiştir.
Hatakka ve ark.,2007	<i>LGG</i> ATCC 53103, <i>L. rhamnosus</i> LC705, □ <i>Reudenreichii ssp shermanii</i> LS	In vivo çift-kör, plasebo kontrollü randomize	Peynir, 16 hafta	N=276, 70-100 yaş	Yüksek mantar sayısında azalma tespit edilmiştir.
Çağlar ve ark., 2007	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730, <i>L. reuteri</i> ATCC PTA 5289	İn vivo, randomize, plasebo kontrollü	Sakız, 3 hafta	N=80, 21-24 yaş	M.s.'ların inhibisyonunda etkili olduğu bildirilmiştir.
Çağlar ve ark., 2008	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730, <i>L. reuteri</i> ATCC PTA 5289	Randomize kontrol, çift-kör	Pastil ve emzik, 10 gün	N=20, 20 yaş	Tükürükte bulunan m.s. seviyesinde azalma görülmüştür.
Haukioja ve ark., 2008	<i>LGG</i> ATCC 53103, <i>L. casei</i> Shirota, <i>L. reuteri</i> ATCC 55730, <i>B. lactis</i> Bb12	In vitro		N=4, 26-40 yaş	M.s.'ların tükürük peliküllerine yapışmasını engellediği bildirilmiştir.
Köll-Klais ve ark., 2008	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. rhamnosus</i>	İn vitro	(-)	(-)	□ <i>a</i> , □ <i>gingivalis</i> , □ <i>intermedia</i> ve m.s. baskılanmasında etkili olduğu, yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve çevresel streslere yüksek tolerans old. bildirilmiştir.
Haukioja ve ark.,2008	<i>Bifidobacterium sp.</i> 1100, <i>B. lactis</i> Bb12, <i>B. longum</i> 913, <i>Bifidobac. sp.</i> 420, <i>L. acidophilus</i> NFCM, <i>L. casei</i> 921, <i>L. casei</i> Shirota, <i>L. delbruecīi sp. bulgaricus</i> 365, <i>L. ohnsonii</i> LA1, <i>L. paracasei</i> F19, <i>L. plantarum</i> 299V, <i>L. reuteri</i> SD2112, <i>LGG</i> , <i>L. rhamnosus</i> LC 705	In vitro	(-)	(-)	10 laktobasil suşundan 6'sında, sorbitol ve ksilitol ile birlikte kullanım sonrasında pH seviyesinde düşüş görülmüştür. Bifidobakter suşlarından hiçbirisinde seker alkollerile tüketim sonrasında pH seviyesinde düşüş gözlenmemiştir.

Araştırmacı ve yılı	Test suşu	Çalışma metodu	Probiyotik a an ve süre	Hasta sayısı N ve yaş grubu	Sonuçlar
Çıldır ve ark.,2009	<i>Biñdobacterium animalis subsp. lactis</i> DN-173010	Randomize kontrol, çift-kör	4 hafta, yoğurt	N=24, 12-16 yaş	Ortodontik tedavi gören hastalarda m.s. ve laktobasil seviyesinde azalma olduğu bildirilmiştir.
Çağlar ve ark.,2009	<i>L.reuteri</i> ATCC 55730	Randomize kontrol, çift-kör	Tablet, 6 hafta	N= 25, 21-22 yaş	<i>L. reuteri</i> 'nin ağızda sürekli kolonizasyon için 2 hafta boyunca tüketilmesi yeterli olmamaktadır.
Stamatova ve ark., 2009	<i>L. delbruecīi subsp. bulgaricus</i> LBL-23, LBL-12, LBL-3, LBL-22, LBL-9, LBL-11, LBL-6, LBL-20, LBL-39, LBL-42, LBL-43, LBL-10, LBL-81, LBL-13, LBL-83, LGG ATCC 53103	İn vitro			Sadece <i>L. delbruecīi subsp.bulgaricus</i> tükürük ile kaplı yüzeylere iyi yapışma göstermiştir.
Mayanagi ve ark., 2009	<i>L. salivarius</i> WB21	İn vivo, randomize, çift- kör, plasebo kontrollü	Tablet, 8 hafta	N=66, 32-61 yaş	□a, □intermedia, □gingivalis, □denticola ve □örsythia seviyesinde azalma ve periodontal sağlığa olumlu etki görülmüştür.
Staab ve ark.,2009	<i>L. casei</i> Shirota	İn vivo paralel, kör olmayan	Süt, 8 hafta	N=50	Probiyotik süt tüketimi, dişeti enflamasyonu üzerinde yararlı etkiler göstermektedir

2.4 Probiyotiklerin Ağız İçi Etki Mekanizmaları

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 (73, 74, 84, 202, 203, 204), *L. casei* (73, 203), *L reuteri* □□□□ □□7□0 (81, 83, 85, 88, 203), *L. acidophilus* (73, 205), *L. casei* Shirota (205, 206), *L. salivarius* WB21 (207), *W.cibaria* (208), *B. biñdum* DN-173 010 (19, 88)'un karyojenik bakterilerin kolonizasyonunu engelleme potansiyelinin varolduğu ve böylece diş çürüğü oluşumunu önlenebileceği bildirilmiştir. Ayrıca 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 (209). Oral bölgede probiyotiklerin, diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların tedavisinde ve önlenmesindeki etki mekanizmaları; GI sistem üzerine yapılan çalışmalarla açıklanabilir (5). Bu etkileşimler aşağıda açıklanmıştır:

i) Dental plakla direkt etkileşim:

Süt ve sürekli dişlerin çevresinde gelişen biyofilm tabakasının oluşumunu takiben gelişen dental plakla direkt etkileşim; konak dokuya bağlanma veya bakteri-bakteri tutunmasında araya girme şeklinde olmaktadır. Oral m.o.'ların substratları ile yarışarak metabolizma substratlarına kaynaşma ve ortak besinler için yarışma probiyotiklerin direkt etki mekanizmalarından bir diğeridir.

Laktik asit bakterilerinin; organik asit, hidrojen peroksit, düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal bileşikler üretmesi, bakteriosinler ve adhezyon inhibitörleri içeren antimikrobiyal ajanlarını oluşturulması oral bakterilerin inhibisyonunda belirgin bir mekanizmadır (210, 211).

ii) Dental plakla indirekt etkileşim:

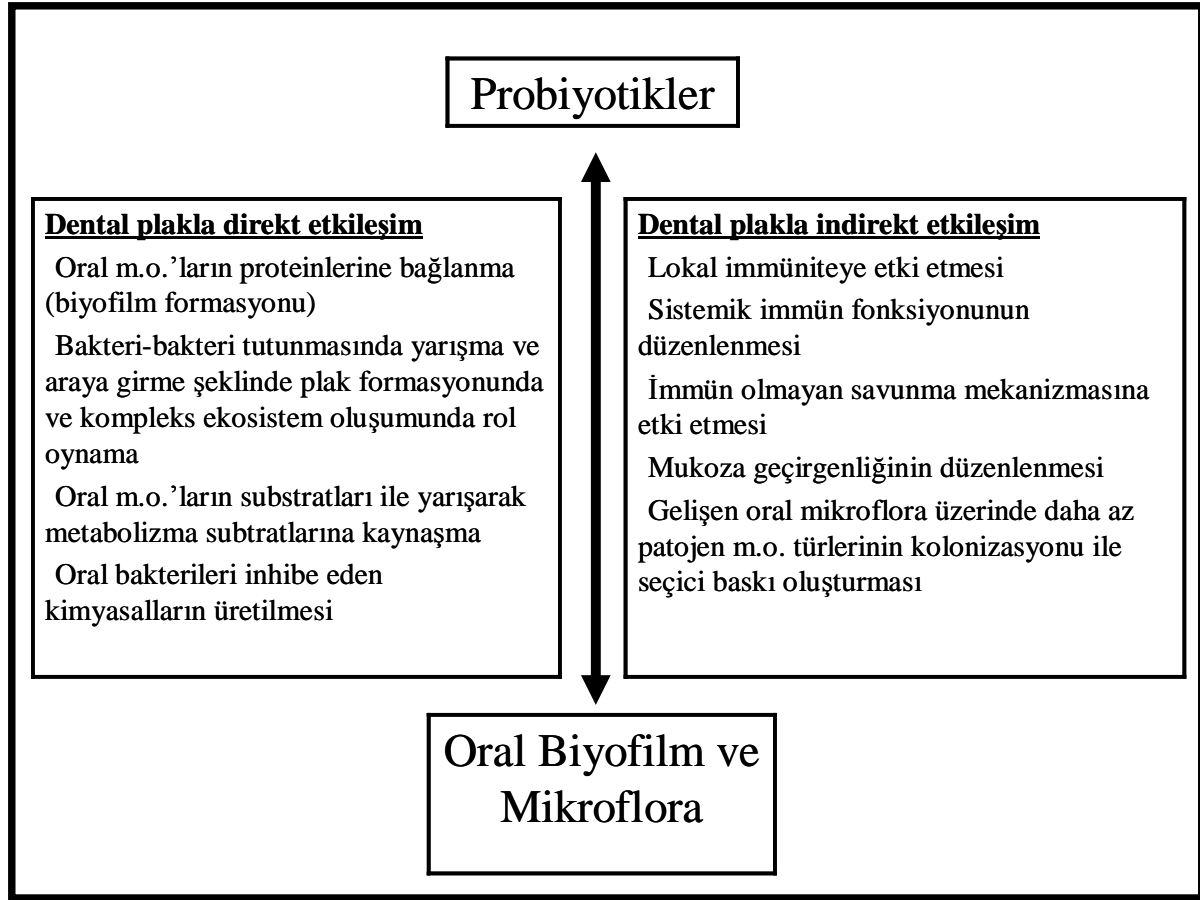
Probiyotikler, oral kavitede doğal ve spesifik immün fonksiyon değişiklikleri meydana getirerek indirekt etki gösterebilirler. Lokal ve sistemik immün fonksiyonlarının düzenlenmesi ile birlikte mukoza geçirgenliğinin düzenlenmesi gibi immün olmayan savunma mekanizmalarının varlığı probiyotiklerin indirekt etkisinde önemli rol oynamaktadır.

Probiyotikler gelişen oral mikroflora üzerinde daha az patojen m.o. türlerinin kolonizasyonu ile seçici baskı oluşturulabilmektedir (212, 213).

Bununla birlikte probiyotik aktivitenin çürük önleyici etkilerinin, günlük ürünlerin tüketimi sonrasında nasıl devam ettiği ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Kolonizasyon

özelliğinin genel olarak konağa bağlı faktörlere bağlı olduğu muhtemeldir. Bu duruma, Brigidi ve ark., 2003 yılında yaptıkları araştırmaları ile dikkat çekmişlerdir (214).

Brigidi ve ark., bifidobakter and *S. thermophilus* suşlarının bağırsaktaki kolonizasyonunu polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile izlemişlerdir. Çalışmalarında sağlıklı ve iltihabi bağırsak hastalığı olan kişilere yoğurt verilerek bakteriyoterapi uygulanmıştır. Araştırmacılar fekal örneklerde yaptıkları incelemelerde kısa süreli ve geçici kolonizasyon gözlemişlerdir. Bu konuda yapılan sınırlı sayıda ağız içi kolonizasyon çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmalarla ilgili ayrıntılar 2.4.1.3’de probiyotiklerin ağızda kolonizasyonu başlığı altında toplanmıştır. Probiyotiklerin ağız içi etki mekanizmaları Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Probiyotiklerin ağız içi etki mekanizmaları (5)

Probiyotiklerin etki mekanizmaları; kolonizasyon direnci ve immün değişiklikleri ile bağlantılıdır. Bununla birlikte oral kavitedeki probiyotik etkinin nasıl gerçekleştiği hakkında soru işaretleri mevcuttur. Probiyotiklerin ağız içinde kolonizasyonu 2.4.1.3’de ayrıntılı olarak bildirilmiştir.

Meurman, GI sistemle ağızdaki probiyotik etki mekanizmasının aynı olduğuna inanmak için her türlü nedenimiz bulunduğunu bildirmiştir (5). Probiyotiklerin etki mekanizmaları üzerine birçok teori geliştirilmiştir. Probiyotikler bağırsak patojenlerine karşı mukozal bariyeri güçlendirerek ve diyare sonrası normal bağırsak mikroekolojisini koruyarak kolonizasyon direnci geliştirmektedir (154). Eğer bağırsak mikroflorası zayıfsa antijen geçişi artmaktadır. Probiyotikler, artmış olan mukoza geçirgenliğini normalleştirmektedir. Patogenezin ilk basamağını bağlanma oluşturmaktadır ve bakterilerin bağırsak mukozasına veya mukusuna bağlanmasıyla kolonizasyona olanak sağlamaktadır (215, 216, 217). Probiyotikler, patojenlerle bağlanma alanlarına ve substratlara bağlanmak için yarışmaktadırlar (218, 219). Yararlı etkilerin oluşması için mukozaya bağlanma çok önemlidir (217, 220).

2.4.1 Probiyotiklerin Oral Kaviteye Tutunması Adezyonu ve Kolonizasyonu

Son 10 yıl içerisindeki probiyotik uygulamalarında, oral kavite en önemli hedef bölge olarak belirlenmiştir. Probiyotiklerin özellikleri değerlendirilirken, adezyon mekanizması öne çıkmaktadır. Bakteriyel tutunma, sıvı akışının olduğu yüzeylerde kolonizasyonun olabilmesi için temel özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. Oral kavite keratinize veya keratinize olmayan epitel, diş sert dokuları ve bu yüzeyleri kaplayan tükürüğü içermektedir (204). Probiyotiklerin ağız içerisinde etki gösterebilmesi için bu yüzeylere tutunabilmesi, adezyonu ve kolonizasyonu gerekmektedir.

2.4.1.1 Probiyotiklerin Oral Yüzeylere Tutunması

M.o.’ların uzun süreli probiyotik etkileri için oral dokulara tutunma mekanizması çok önemli bir noktadır. Ağız ortamı çok fazla sayıda ve farklı türde Gram (-) ve Gram (+) kok, basil ve spiroket içermektedir. Bu suşlar yüzey özellikleriyle ve buna ek olarak salgıladıkları

inhibitör ürünlerle karakterize olmaktadır. Hem sağlıklı hem de aktif çürük bulunan ağızlardan elde edilen suşlarda bazı yüzey özellikleri ortaktır.

Ağızda m.o.'ların kolonize olmasında biyofilm oluşumu ilk basamaktır. Biyofilm, polisakkarit yapısında ekstraselüler polimer bir matriks ile çevrilmiş, yüzeye bağlı m.o. topluluğu olarak tanımlanmaktadır. Dental biyofilm oluşumunda 5 evre bulunmaktadır. 1. evrede ilk tutunma gerçekleşir. 2. ve 3. evrelerde geri dönüşümsüz tutunma söz konusudur. 4. evre olgunlaşma evresidir. 5. evrede ise yayılım gerçekleşir (221).

Dişler sürüp, oral kaviteye açıldıktan hemen sonra diş yüzeyleri kazanılmış mine pelikılı ile kaplanmaktadır (221). Mine pelikılında hücresiz bazal bir tabaka bulunmaktadır. Bu tabaka tükürükte bulunan bazı proteinler yoluyla (statherin, prolinden zengin proteinler ve musinöz proteinler) hidroksiapatite bağlanmaya yatkındır.

Kazanılmış mine pelikılı yeni sürmüş dişlerde ve diş fırçasıyla temizlik veya profesyonel temizlik sonrasında tükürüğe maruz kalan diş yüzeylerinde oluşmaktadır. Hücresiz kazanılmış mine pelikılı, ileride oluşacak dental plağın gelişimi için temel sağlamaktadır. Tükürükten türeyen, erken kolonize olan bakteriler pasif bir şekilde bu pelikıla yapışırlar. Pelikılın gelişmesi ile oluşan başlangıç plağı, diş yüzeyinden kolay ayrılabilir niteliktedir. Bu noktada streptokokların diş yüzeyine dik olarak çoğalması, *Actinomyces* ve *Veillonella* türlerinden sonra çomaklar, koklar ve filamentöz bakterilerin de eklenmesi ile plak miktarında artış yaşandığı ve zamanla plağın diş yüzeyinden uzaklaştırılmasının zorlaştığı bilinmektedir. Bu olayda bakterilerin adezin adı verilen saçak (fimbriae) ve tüycük (pilus) proteinleri ile diş yüzeyindeki reseptörler arasında hücre duvarındaki yapışkan proteoglikanlar yoluyla oluşturulan güçlü bağlantının rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Pelikıl, biyofilm oluşumunu başlatacak bakteri adezyonu için substrat görevi görür ve oral doku dehidratasyonunu engeller. Diş plağındaki bakterilerin, kimyasal sinyaller göndererek birbirleri ile iletişim kurdukları ve bu kimyasal sinyallerin de bakteriyi uyararak, zararlı protein ve enzim üretilmesini sağladıkları bilinmektedir. Mikrobik hücre yüzeyinde bulunan saçakların, kamçı şeklinde oluşumların (flagella), tüycüklerin veya glikoz havuzcuklarının (glikokaliks) ise biyofilmin tutuculuğunu arttıran faktörler arasında sayılabilecekleri bildirilmiştir. (221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231)

Statherin ve proteinden zengin glikoproteinler, mikrobiyal organizmaların yüzeye sıkıca bağlanmasına izin verecek olan reseptörlerdir. Bu sıkı bağlanma elektrostatik, hidrofobik, iyonik ve van der Waals kuvvetlerinin etkisiyle olur. Diş yüzeyine yapışma etkisi pelikülün kalınlığıyla ilgilidir ve oluşan pelikülün kalınlığı 10 ile 20 nm arasında ise elektrostatik kuvvetlerin, 50 nm'den fazla ise Van der Waals bağlarının etkisi ile gerçekleşir. Dental biyofilmin olgunlaşmasıyla erken ve geç kolonize olan bakteriler birlikte toplanırlar ve birbirlerine yapışırlar. Sürekli yeni bakterilerin eklenmesi sonucu plağın bulunduğu yüzeyin pH ve oksijen basıncı değişir. Vibriolar, fusiform bakteriler, spiroketler gibi anaerob bakteriler de plağa yerleşirler. Bu aşama, dental plakta aerobik, fakültatif aerobik ve anaerobik organizmaların birlikte var olduğu bakteriyel çeşitliliğe izin verir. Sonuçta olgun diş plağının 1 gramında 10^{11} kadar bakteri bulunmaktadır.

Biyofilm, pelikül ve dental plak oluşumu ve etki mekanizması ile daha ayrıntılı bilgi 2.5.2 no'lu bölümde verilmiştir.

2.4.1.2 Probiyotiklerin Oral Yüzeyle Adezyonu

Adezyon, iki farklı maddenin molekülleri arasındaki çekim kuvvetine verilen isimdir. Her bir probiyotik suş diş yüzeyine değişik adezyon gösterebilmektedir. Adezyon, muköz membrana veya yüzeylere m.o'ların tutunabilmesi için ilk basamaktır. İlk yaklaşma iki yüzey için de spesifik olmayan etkileşimdir. Daha sonra spesifik mediatörlerin rol oynadığı etkileşimler ile tutunma meydana gelir. Adezyon üzerine birçok yayın ve çalışma bulunmaktadır (232). Bunlardan bazıları tahmini özellikler bildirmekle beraber bazı in vitro araştırmalar, in vivo şartlarda yapılan deneylerle de desteklenmektedirler. Genel olarak iki adezyon modeli temel alınmaktadır. Bunlardan en çok kullanılan model, tükürük ile kaplı hidroksiapatit (HA) modeli veya tamponlayıcı ürünler, proteinler ve diğer maddeler ile kaplı HA modelidir (233).

Probiyotik bir biyoyoğurdun (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B.bifidum*), in vitro ortamda tükürük yapısındaki film tabakası ile kaplı olan ve olmayan mine yüzeyine adezyonunun ve in vivo olarak diş yüzeyine kolonizasyonunun incelenmesi sonucunda; *L. acidophilus*'un *L. casei*'ye oranla daha güçlü adezyon gösterdiği bildirilmiştir. Oral kavitelelerinde (hem tükürük hem de interproksimal yüzeylerde) laktobasil gözlenmeyen deneklerin günde 200 ml biyoyoğurt tükettiği bu çalışmada; 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 (73).

2.4.1.3 Probiyotiklerin Oral Kavitede Kolonizasyonu

Bir probiyotik bakterinin oral bölgede etkili olabilmesi için, m.o.'nın oral kavitede bağlanabilme ve kolonize olabilme yeteneklerini gösterebilmesi gerekmektedir.

Paster ve ark. subgingival plakta bulunan bakteriyel çeşitliliği açıklamak için yaptıkları çalışmada; oral kavite içerisinde 500–600 farklı tür m.o. tespit etmişlerdir. (75). Kazor ve ark. bu sayıyı daha da arttırarak dilin dorsumunda bunlara ek olarak 200 farklı tür daha tespit etmiştir ve ağızdaki m.o. tür sayısını 700'e çıkarmışlardır (77).

Laktobasiller oral mikrofloranın yaklaşık olarak 1'ini oluşturmaktadır (234). Teanpaisan ve Dahlen (2006), yaptıkları çalışmada tükürükten alınan örneklerde en sık görülen laktobasil türleri olarak *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. acidophilus* and *L. plantarum* u tespit etmişlerdir (82).

Oral laktobasil florasında benzer çeşitlilik, sağlıklı insan ağızında bulunan predominant tür olan *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. salivarius* and *L. rhamnosus* 'u ayırtıran Collaca ve ark. tarafından gözlenmiştir (235). Bu bulgular ışığında laktobasillerin oral mikroflorada yerleşik olarak bulunduğu ve oral kavitenin mikroekolojik dengesinde önemli rol oynayabileceği söylenebilir. Bu çalışmalar probiyotik özelliği olan laktobasil suşlarının oral kavite içinde bulunabileceğini de göstermiştir. Halen günlük ürünlerin düzenli tüketimi sonrasında bu laktobasil suşlarının geçici olarak mı, yoksa daimi olarak mı ağız ortamının bir parçası oldukları konusunda bir kanıt yoktur. Bu sorulara cevap verilebilmesi için uzun süreli takip çalışmaları henüz gerçekleştirilmemiştir.

Meurman ve ark. 1994'te yaptıkları çalışmalarında; *LGG* suşunun ağızda kolonize olabildiğini bildirmişlerdir (72). Yli-Knuuttila ve ark.(202), *LGG*'nin sağlıklı bireylerin oral kaviteğinde kolonizasyonunu incelemişlerdir. 14 günlük tüketim süreci ardından *LGG*'nin oral kavitedeki seviyesinin azaldığını fakat kolonizasyonun devam ettiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışma *LGG*'nin oral kavitede kolayca kolonize olduğunu desteklememekte ve kolonizasyonun geçici olduğunu bildirmektedir. Bu nedenle kolonizasyon için düzenli probiyotik alımına ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (202). Yapılan bu çalışmada ayrıca probiyotik ürünlerin çocukluk çağından itibaren kullanım sonucunda daimi kolonizasyonun oluşabileceğini bildirilmiştir (202).

Kang ve ark., 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada, tüm dünyada insanlarda ve hayvanlarda doğal olarak görülebilen ve fermente yiyeceklerde bulunan; potansiyel bir probiyotik aday olan *W. cibaria*'nın *□ nucleatum*'a bağlanma ve epitel hücrelerine ataçman kabiliyetlerini incelemişlerdir. Kang ve ark., çalışma sonucunda *W. cibaria*'nın, *□ nucleatum* ile etkili şekilde bağlanabildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucu açıkça göstermiştir ki bakteri hücre duvarındaki S tabakası, *W. cibaria*'nın epitel hücrelerine tutunmasında önemli rol oynamaktadır (208). *□ nucleatum* un diğer bakterilerin kolonizasyonunda yardımcı bağlayıcı olarak önemli kilit organizma görevi gördüğü belirlenmiştir (236).

Birçok araştırmacı, laktobasil türlerinin yardımcı bağlanma yeteneklerinin, patojenik bakterilerin kolonizasyonunu önlemek için bariyer görevi görebileceğini bildirmişlerdir (237, 238). Bu patojenler, oluşturdukları mikro çevreye bağlı olarak laktobasil türleri tarafından oluşturulan yapıları engellenmektedir.

Laktobasillerin oral yüzeylerde ve tükürükteki varlığını belirgin şekilde açıklayan Haukioja ve ark. (203); yaptıkları bir in vitro çalışmada, günlük olarak tüketilen ve marketlerde sunulan laktobasil ve bifidobakter içeren probiyotik ürünlerin kolonizasyon potansiyellerini test etmiştir. Sonuçlar, oral kavitedeki kolonizasyon mekanizması üzerinde birçok noktayı açığa çıkarmıştır. Tüm test suşları, gönüllülerden toplamış tükürük havuzunda 24 saat varlıklarını sürdürebilmiş fakat en büyük değişiklikler tükürükle kaplı yüzeylere bağlanma kapasitelerinde görülmüştür. Laktobasiller, bifidobakterlere göre daha iyi bağlanma göstermişlerdir. Bu noktada laktobasiller, tükürükle kaplı HA yüzeyine bağlanırken, *□ nucleatum* ile aynı bağlanma alanı için yarışmaktadırlar. Laktobasiller ve *□ nucleatum* arasındaki yüzeye bağlanma yarışı, laktobasillerin düşük kolonizasyon kapasitesinin nedenini açıklayabilir. Probiyotiklerin oral biyofilmin oluşmasında etkilerini ve mikrofloranın modifikasyonundaki etkisini açıklayabilmektedir. Haukioja ve ark. (203) laktobasil ve *B. lactis Bb12*'nin hidroksiapatit üzerindeki tükürük pelikülünün yapısına etkisini *S. mutans*'ların yapışmasını inhibe etmesi üzerine farklı bir mekanizma tanımlamışlardır.

Çağlar ve ark.(81) 2006 yılında yaptıkları çalışmada; 3 hafta boyunca günde 1 kez *L. reuteri* ATCC 55730 içeren tablet çiğnenmesi sonucunda ağızdaki karyojenik mikroflora gelişiminin belirgin şekilde engellendiğini ve bu etkinin oral biyofilm tabakası ile tabletin direkt teması sonucu olabileceğini bildirmişlerdir. Ağızda probiyotik etkinin görülebilmesi için bakteriler oral dokulara yapışmalı ve biyofilm tabakasının bir parçası olmalıdırlar. Haukioja ve ark.(203) farklı laktobasil suşlarının hidroksiapatit ve tükürükle kaplı microtitre wells'e bağlanmalarının test ettikleri çalışmalarında, *L. reuteri* SD 2112 (ATCC 55730)'nin ,

tükürükle kaplı microtitre wells'lerine, HA boncuklarına ve BSA kaplı HA boncuklarına bağlanmalarını daha zayıf bulmuşlardır. Diğer taraftan tükürükte yaşama sürelerini 24 saatlik inkübasyondan sonra cfu/ml bazında hiç düşüş göstermeyecek kadar yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çağlar ve ark.'nın 2009 yılında yaptıkları çalışmada, *L. reuteri* □□□ 55730'nin düzenli olarak tüketimi sonrasında geçici kolonizasyonun oluşabileceğini bildirilmiştir (89). Probiyotik ürünlerle tedavinin amacı patojen bakterilerin uzaklaştırılıp konağın sağlıklı hale gelmesi bulunmaktadır. Bu nedenle, patojen bakterilerin ortamdan uzaklaştırılmasında probiyotik bakterilerin kolonize olması çok önemlidir.

2.4.2 Probiyotikler ve Diş Çürükleri Üzerine Araştırmalar

Dental plağa bağlı olarak gelişen hastalıklar, çocuklarda en sık görülen kronik çocukluk çağı hastalıklarıdır (198). Diş çürükleri, diş sert dokusunun yıkımı sonucu ortaya çıkan ve eğer kontrol edilmezse canlı pulpa dokusunda iltihaba neden olabilen ve dişin periapikal dokularına yayılarak enfeksiyona neden olabilmektedir (239). Bununla birlikte diş çürükleri; *S. mutans*, *S. sobrinus* ve laktobasiller gibi asidojenik plak bakteriler ile yumuşak ve sert dokuyu da içerebilen periodontal hastalıklar ile birlikte görülebilirler (213, 240).

2.4.2.1 Probiyotiklerin Oral Kaviteye Uygulanması

Günlük probiyotik ürünlerin oral yolla alımı ve beslenme sistemine eklenmesi spesifik bir işlemdir. Oral hastalıklardan korunma ve bu hastalıkların tedavisi amacıyla hedefe yönelik uygulamalar, formüller, aygıtlar veya yavaş salınım yapan taşıyıcılara ihtiyaç vardır. Bu ihtiyaçların karşılanması, endüstriyel yatırım ve teknolojik gelişmelerle ile mümkündür.

Probiyotik ajanların uygulanımında bugüne kadar 4 farklı yolla uygulanmaktadır (19):

- i) İçecek veya yiyecekler içerisinde konsantre bakteri kültürünün eklenmesi (meyva suları gibi),
- ii) Prebiyotik liflerin içerisine inoküle edilmesi,
- iii) Süt ve süt ürünleri içerisine inoküle edilmesi (günlük süt ve süt ürünleri, yoğurt, ayran, peynir, kefir, biyoıçecekler, dondurma gibi),

iv) Konsantre ve dondurulmuş hücreler halinde, paketlenmiş besin maddeleri yoluyla (günlük olmayan emzik, kapsül, jelatin tablet, pipet ve toz gibi) uygulanabilmektedir. Belirtilen bu yollara ait ürünlere örnekler Tablo-3 de belirtilmiştir (CAG 2005-1)

2.5 Oral Mikroflora ve Konakları

Oral flora; çok çeşitli ve değişik sayılarda virüs, mantar ve bakteri içermektedir. Bu çeşitlilik, ağız ortamında değişik besinlerle farklı sayıda besi yerlerinin oluşmasına bağlıdır (241). Oral florayı oluşturan m.o. bir kısmı ağızda az ya da yüksek sayıda sürekli bulunurken bir kısmı da alınan yiyeceklerle veya farklı yollardan ağız ortamına girmektedir.

Normal şartlarda bu m.o. ağızda çoğalmazlar ve kısa süre içerisinde ortamdan uzaklaşırlar; fakat bazı durumlarda, kısa süre içerisinde müköz membran üzerinde kalarak çoğalırlar. Bu tip m.o. dental plakta baskın olmadığı durumlarda; periapikal, perikuronal ve periodontal apselerde yüksek oranda izole edilebilirler. Günümüzde sadece dental plaktan 200'ün üzerinde değişik tür bakteri izole edilmiştir (242). Oral kavite, bir bütün olarak düşünülse de; dişler, dil, ağız mukozası, alveolar mukoza ve dişeti cebi gibi farklı ve m.o.'ların yerleşimine olanak sağlayan çeşitli dokular içermektedir. Ağız boşluğunu oluşturan bu dokuların her biri farklı floranın yerleşimine olanak sağlamaktadır (243). Çok ve çeşitli besin alımı, nem, 35–36 C dolaylarında ısı, değişik oksijen basıncı gibi faktörlere sahip olan ağız boşluğu; aerop, fakültatif ve anaerop m.o.'ların üremesi için elverişli koşulların sağlandığı iyi bir etüv görevi görmektedir (243, 244).

2.5.1 Tükürük ve Tükürük Mikroflorası

Tükürük, büyük oranda su ve oral kavitede homeostasis için gerekli olan biyolojik fonksiyonların meydana gelmesinde görev alan organik ve inorganik yapılarda oluşmaktadır. Tükürük çok farklı prolinden zengin proteinler, lizozim, laktoferrin, peroksidaz ve IgA gibi enzimler içermektedir. Tükürük sekresyonu, otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilmektedir.

Sekresyon miktarı, uyarının yoğunluğu ve tipine göre değişmektedir. Tükürük salınımı yemeklerden önce, yemek sırasında ve sonrasında artmakta; uyku sırasında azalmaktadır. Yeterli miktarda ve yoğunlukta tükürük akışı, ağız içerisindeki yumuşak ve sert dokuların lubrikasyonu ve korunması için önemlidir. Ağız kuruluğunun ve ülserasyonların önlenmesi, musin ve antiproteazlarla potansiyel karsinojenlerin eliminasyonu sonucunda yumuşak dokuların korunması sağlanır.

Tükürüğün asıl koruyucu fonksiyonu; temizleme, agregasyon ve direkt antimikrobiyal aktivite ile oral kavitede ekolojik dengenin devamlılığını sağlamasıdır. Tükürük içerdiği mineraller ve bileşiklerle tamponlayıcı görevi görerek oral bölgede pH dengesini sağlamaktadır. Tükürük aynı zamanda mekanik temizlik ve remineralizasyonda da görevlidir. Bu nedenlerden dolayı tükürük yapısındaki ve akışındaki bozukluklar sonucunda yemek yenmesinde ve yutkunmada zorluklarla birlikte mukozal enfeksiyonlar ve diş çürüklerinin artışı görülür. (245, 246, 247)

İnsanlarda oral floranın oluşumu doğumdan itibaren bakteri kolonizasyonu ile başlayıp hayat boyunca 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 oral flora kompleks bir hal almaya başlar ve *Veillonella*, *Prevotella* (bakterioides) gibi anaerobik bakteriler ortama katılırlar. Dişlerin sürmesi ile birlikte m.o.'ların üreyebileceği yeni yüzeyler oluşur ve *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguinis* ve *Actinomyces* türleri ağız ortamına yerleşirler (243, 244).

Caufield ve ark. (248) 1993 yılında yaptıkları çalışmada çocuğun ağız içi dokularında, Enfeksiyon Penceresi olarak tanımlanan ilk olarak 19.-31. aylar arasında m.s.ların kolonize olduğunu göstermişlerdir. Tükürükteki mikrobiyal hücre sayısının en az 10^5 cfu/ml olması durumunda, m.s. ile kolonize olma olasılığı yükselir.

Straetemans ve ark. (249) 1998 yılında yaptıkları çalışmalarında m.s. kolonizasyonunun enfeksiyon penceresi olarak tanımlanan zaman aralığından sonra da mümkün olabileceğini ancak bu geç kolonizasyonun daha sonraki yaşlarda süt ve sürekli dişlerde çürük görülme olasılığını azaltabileceğini göstermişlerdir.

Karn ve ark. (250) çalışmalarında, biberon kullanmakta olan 8-15 aylık bebeklerde yaş ve m.s. yerleşimi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Araştırmacılar en erken 10 aylık bebeklerde m.s. kolonizasyonu olduğunu, 12 aylık bebeklerin %25'inin, 15 aylık bebeklerin ise %60'ının m.s.'lar ile enfekte olduğunu saptamışlardır.

Oral flora genç yetişkin döneminde daha kompleks ve yerleşik bir hal almaktadır.

2.5.2 Biyofilm

Vücutumuzda m.o.'ların; diş minesi, kalp kapakçığı, akciğer ve orta kulak gibi canlı yüzeylere yapışıp, orada büyüyerek yaşadıkları bilinmektedir. Yapışarak büyüyen hücrelerin oluşturduğu bu yapı, genel olarak biyofilm olarak isimlendirilmektedir. Biyofilm, polisakarit yapısında ekstraselüler polimer bir matriks ile çevrilmiş, yüzeye bağlı m.o. topluluğu olarak tanımlanmaktadır (246). Dental biyofilm, bakteriyel çoğalma ve büyümeyle birlikte asit üretiminin medyana geldiği bir alandır (251). Ayrıca bu alan, diş ve tükürük arasında Ca^{+2} iyon değişiminin olduğu bir rezervuar görevi de görür. Proteinden zengin bir tabaka olan tükürük pelikülü, diş yüzeyi, tükürük ve asit erozyonu arasındaki reaksiyonu düzenler. Tükürük, biyofilm ile etkileşir ve fermente edilebilen karbonhidratların tüketimi sonrasında asit üretebilen ve dişin demineralizasyonuna neden olan asidojenik bakterilerin azaltılmasında önemli rol oynar (251).

Diş çürüğünün oluşumunda, dental biyofilmin rolü ilk kez 1890'da Miller tarafından açıklanmıştır (252). Miller, ağız içinde bulunan bakterilerin fermente karbonhidratların ortamda bulunması sonucunda asit ürettiklerini ve sonrasında diş yüzeyinde HA'nin çözüldüğünü ve bunun sonucu olarak Ca ve PO_4^{-3} serbestleştirdiğini bildirmiştir (252).

Stephan 1940'ta, dental plak birikimine bağlı olarak glikozun bulunduğu ortamda asit üretimine bağlı olarak pH ın düştüğünü bildirmiştir (253, 254). Çok ince bir plağın varlığında dahi, karbonhidratlı besinlerin alınması sonucunda belirgin bir asit üretimi ortaya çıkmaktadır. pH'ın düşmesi ve bunun uzun süre devam etmesi, tükürük ve tükürüğün içerdiği tamponlayıcı mineraller sayesinde dengelenir (253, 254, 255, 256). Biyofilm içerisindeki bakteriler, asidojenik karakterde ise fermente olabilen karbonhidratların alımından sonra diş yüzeyini demineralize edebilme yeteneğine sahiptirler. Biyofilmin kısa süre içerisinde olgunlaşmasına izin verilirse bu asit oluşumunu devam ettirme yeteneğine sahip olurlar (246).

2.5.3 Pelikül

Diş çürüklerinin oluşabilmesi için, dental plak oluşumu ve bu oluşum için patojen bakterilerin ağız içi dokulara tutunması gerekmektedir. Hücresiz kazanılmış mine pelikülü genellikle 0,1-1,0 m kalınlığında olan ve sialik asit, sülfat veya PO_4^{-3} içeren tükürük

proteinleri ve glikoproteinlerden meydana gelen matriks bir yapıdır (257). Dişler sürüp, oral kaviteye açıldıktan hemen sonra diş yüzeyleri kazanılmış mine pelikılı ile kaplanmaktadır. Dişler temizlendikten birkaç dakika sonra oluşmaya başlar ve formasyonu yaklaşık olarak 60–90 dk. sonra maksimum seviyeye ulaşır. Bu ince, hücresiz ve bakterisiz biyofilm, tüm diş yüzeyini kaplayarak pit, fissür ve mine defektlerini doldurur (258). Bakterilerin pelikıl oluşumunda rol oynamadığı (259), fakat oluşur oluşmaz pelikıla kolonize oldukları bildirilmiştir. Bu nedenle pelikılın, dental plak formasyonunun başlamasında gerekli olan bakteriyel ataşman için bir alt yapı oluşturduğu düşünülmektedir (260).

2.5.4 Dental Plak

Tükürükten türeyen, erken kolonize olan bakteriler pasif bir şekilde hücresiz kazanılmış mine pelikılına yapışır ve bu yapıya dental plak adı verilmektedir (234). İlk kez Black (261) tarafından dişlerin üzerindeki mikrobiyal birikintileri tanımlamak amacıyla jelatinöz mikrobiyal plak olarak isimlendirilmiştir. Dental plak, bakteri ve tükürük orjinli polimer matriksi içerisinde bulunan çeşitli ve oldukça yoğun bakteri topluluğundan oluşmaktadır (262). Plak, konak-parazit ilişkisini bozarak dişeti ve periodontal hastalıkların başlamasına ve diş çürüğü oluşumuna neden olur (234).

Plağın gelişmesi ve olgunlaşması, plak içerisindeki m.o.'ların çoğalmasıyla ve intermikrobiyal matrikse tükürük glikoproteinlerinin katılması ile gerçekleşir. Dental plak tamamıyla Gram () koklar, kısa çomaklar, *Neisseria* ve *Nocardia*'dan oluşur (263). Diş plağı üzerine ilk tutunan bakteriler *Streptococcus* grubu (en çok izole edilen tür *S. sanguis*) ve *Actinomyces* grubu bakterilerdir. Veillonella türleri de erken kolonize olan bakteriler arasında sıralanmaktadır. M.o. yoğunluğu zaman ilerledikçe artar. Plak gelişmeye devam ettikçe, erken dönem plak mikroflorasında 80–90 oranında bulunan Gram () koklar ve kısa çomaklar artarak plağın daha olgun ve kompleks bir hale dönüşmesine neden olurlar ve böylece plak diş yüzeyinin büyük bir bölümünü kaplar (264). Bu noktada dişeti kanamaya eğilimlidir ve gingivitis oluşumu gözlenmektedir (264). Plak oluşum hızı, bireyler arasında farklılık göstermekle birlikte; eğer formasyon herhangi bir şekilde engellenmezse plak zamanla tüm diş yüzeyini kaplar (257).

2.5.5 Mutans Streptokoklar

Diş çürükleri, dental plak ve dental plağa tutunmuş bakterilerin olmadığı ortamda gelişmemektedir. Bu, diş çürüklerinin dental plağa bağlı olarak geliştiğini bize göstermektedir. Diş çürüklerinin gelişiminde hangi bakteri veya bakterilerin etkili olduğu pek çok çalışmada araştırılmış ve sonuç olarak diş çürüğünün etyolojisinde *S. mutans*'ın etkili olduğu fakat çürük gelişiminde birden fazla m.o'nun etkili olduğu bildirilmiştir (265).

2.5.5.1 *Streptococcus mutans*

Diş çürüklerinin oluşumunda m.o.'ların etkinliğinin araştırıldığı pek çok çalışmada m.s.'ler ve özellikle *S. mutans* üzerinde durulmuştur. Mutans streptokok terimi; 7 farklı türden (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. criteus*, *S. ferus*, *S. rattus*, *S. macacae* ve *S. doanei*) ve 8 serotipten (a-h) oluşan bir grubu ifade etmektedir. *S. mutans* ve *S. sobrinus* insanda en çok izole edilen m.s. türleridir (265).

S. mutans ilk defa çürük insan dişinden 1924'te Clark tarafından izole edilmiş ve daha sonra bir bakteriyel endokardit vakasında görülmüştür. 1960'lara kadar bu türe araştırma bazında fazla ilgi duyulmamış, daha sonra m.s. suşları ile enfekte edilen hayvanlarda çürük meydana geldiği gösterilmiştir (234).

S. mutans'ların diş çürüklerinin oluşumunda rol oynadığı ile ilgili kanıtlar en belirgin fissür çürüklerinde görülmektedir. *S. mutans* diğer m.s.'lerden daha fazla patojenik özelliklere sahiptir ve direkt temasla kolayca yayılabilmektedir (265).

2.5.5.2 *Streptococcus sobrinus*

İnsanlarda diş çürüğünden en sık izole edilen ikinci m.s. suşu, *S. sobrinus*'tur. D,g,h karbonhidrat antijenleri içeren *S. sobrinus*, dental plaktan sıklıkla izole edilir ve diş çürüğünün etyolojisi ile yakından ilişkilidir (241, 266, 267).

De Soet ve ark.(268)'nın 1991 yılında ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, *S. sobrinus*'un *S. mutans*'a göre daha karyojenik olduğunu göstermişlerdir. Bunun nedeninin

glikolitik özelliklerinin farklılığından gelebileceğini belirtmişlerdir. *S. sobrinus*, ön dişlerden çok arka dişlerde daha sık izole edilmektedir. *S. sobrinus* yüzey çökmeden önce mine ve dentine nüfuz edebilme özelliğine sahiptir (241,269).

2.5.5.3 *Streptococcus crisetus*

S. crisetus (serotip a) hamsterlarda ve laboratuvar ratlarında bulunurlar. Nadir olarak diş plağından izole edilebilirler. Hayvan modellerindeki *S. crisetus* karyojeniktir (266).

2.5.5.4 *Streptococcus ferus*

Serotip c vahşi ratlardan izole edilmiş ancak insanlardan izole edilmemiştir. *S. mutans* ile diğer m.s.'lara genetik açıdan benzemediği için *S. ferus* olarak isimlendirilmiştir. *S. ferus* haricinde bütün m.s.lar hayvan modellerinde karyojeniktir (266).

2.5.5.5 *Streptococcus rattus*

S. rattus (serotip b) hamsterlarda ve laboratuvar ratlarında bulunurlar. Nadir olarak diş plağından da izole edilebilirler. Afrika'da yaşayan insanlardan izole edilen *S. rattus* hayvan modellerinde karyojeniktir (242, 266).

2.5.5.6 *Streptococcus macacae*

Maymunlardan elde edilen serotip c'ler, guanin ve sitosin içerir. Fenotipik özelliklerinden dolayı *S. mutans*'lardan farklı karakterdedir. Bu nedenle *S. macacae* olarak isimlendirilmişlerdir (266).

2.5.6 Laktobasiller

Oral bölgeden alınan örneklerde en sık *L. casei* ve *L. fermentum* izole edilmektedir. Uzun yıllar boyunca çürüklerin oluşumunda laktobasillerin etken olduğu düşünülmekteydi. Karyojenik bir m.o.'ya ait çok önemli özelliklere sahip olmasına karşın diş yüzeyine bağlanabilmesi, sağlıklı veya başlangıç diş çürüklerinde kolonize olabilmesi diğer karyojenik bakterilere göre daha zayıftır. Günümüzde çürük oluşumu ile ilgili olarak laktobasillerin, çürüklerin başlangıç aşamasında görev almadığı, fakat çürüğün ilerleyen safhalarında derin kavitelere baskın m.o. olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir in vivo çalışmada tükürükte bulunan laktobasil seviyesinin çürük aktivitesi ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (265).

Lactobacillus rhamnosus, asitlere ve safra suyuna dayanabilme özelliğine sahiptir ve sağlıklı insandan izole edilebilmektedir. Bu suş, yoğurt ve tereyağı üretiminde kullanılmakta ve eritromisin kullanımına bağlı olarak meydana gelen GI yan etkilerin görülmesini engellemektedir (270). Aynı zamanda bu suş, çocuklarda rotavirüs diyaresinin süresini kısaltmaktadır (229). Buna ek olarak turist diyaresinin önlenmesinde de kullanılmaktadır (271).

Lactobacillus rhamnosus, streptokokları da içeren bakteri türleri üzerinde yaygın inhibitör etki gösteren bir yapı oluşturmaktadır (210). Konak tarafından üretilen bağırsak laktik asit bakterilerinin genel sağlık için güvenli ve yararlı olduğu belirlendikten sonra laktobasiller tarafından oluşturulan türler arası büyüme inhibisyonu, oral yüzeylerde kolonizasyonun düzenlenmesi için yeni bir yaklaşım şekli sunmaktadır (272).

Laktobasil suşları diş çürüklerinin patogeneğinde gerekli olan sü krozu fermente etmedikleri için (sükroz fermentasyonu yapmadıkları için), sü krozu fermente eden bakterilere göre dişler için daha güvenli olduğu söylenebilir(72). Laktik asit bakterileri, m.s.ların farklı suşları üzerinde büyüme inhibisyon etkisi göstermektedirler (145).

2.5.6.1 Zorunlu Homofermenterler (Homolaktik fermenterler)

Hekzосу laktik aside çevirirler. *L. acidophilus*, *L. salivarius* bu grubun içerisinde yer alır.

2.5.6.2 Zorunlu Heterofermenterler (Heterolaktik fermenterler)

Karbondioksit, asetik asit ve laktik asit üretirler. *L. fermentum*, *L. brevis* bu grubun içerisinde yer alır.

2.5.6.3 Fakültatif Heterofermenterler

Laktik asit, asetik asit, formik asit ve etanol üretirler. *L. casei*, *L. plantarum* bu grubun içerisinde yer alır (242, 273).

2.6 H ve Tükürük Tam onlama Ka asitesi

Organik maddeler vücutta ya oksijenli (aerobik) ya da oksijensiz (anaerobik) koşullarda yanarlar. Her iki koşulda da H^+ iyonları oluşur. H^+ iyonları, vücutta, anyon ve katyonlara göre milyonlarca defa daha az bulunur. Buna karşılık önemi büyüktür. Vücut içindeki konsantrasyonu çok az olduğundan, anlatımı kolaylaştırmak için H^+ iyonu konsantrasyonunu gösteren negatif üs, pozitif hale getirilmiş ve pH adı verilmiştir.

pH, H^+ iyonu konsantrasyonunun negatif logaritmasıdır. pH tayini için Sorenson'un 1909'da önerdiği skala kullanılmaktadır. pH skalası ile çok düşük konsantrasyondaki H^+ iyonunu ifade etmek mümkün olmaktadır. Ortamdaki H^+ ve OH^- iyonlarına bağlı olarak değişebilen pH değişikliklerine karşı direncin gücüne de Tamponlama Kapasitesi (TK) denir (274).

2.6.1. Ağız Ortamında H^+ 'ın Önemi

Tükürüğün diş çürüklerinden korunmada en önemli fonksiyonlarından biri de ağız içinde oluşan organik asitlerin nötralize edilmesi ve tamponlanmasıdır. Tükürüğün pH'sı 6,5-7,5 arasında değişmektedir. Ağız yolu ile alınan fermente edilebilen karbohidratlar karyojenik m.o.'lar tarafından asitlere dönüştürülerek bakteri plağının pH'sı 4,5-5 hatta daha da aşağı düşürmektedir. İşte bu sırada tampon komponentleri asitleri tamponlamaya çalışmaktadır (275).

Kan gibi vücut sıvılarında olduğu kadar tükürük ve dental plaktaki pH değişiklikleri ve TK çok önemlidir (274). Tükürük tamponlama fonksiyonu da vücut gibi, karbonik asit, bikarbonat, fosfat ve protein tamponlama sistemine dayanmaktadır. Uyarılmış tükürükte en önemli tampon komponenti inorganik fosfatken, uyarılmamış tükürükte ise karbonik asit-karbonat sistemidir (274,276).

Tükürük pH'ı ilk salgılandığında hafif asidiktir. Tükürük uyarıldığında TK artmaktadır (277). Artan tükürük akış hızı ile birlikte HCO_3^- miktarı da artacağından pH yükselir (5.75-7.05). Bu nötral ağız pH'sının, plak pH'sının ve özofagus pH'sının sürdürülmesi tükürük sayesinde olmaktadır (274).

Tükürüğün azalan pH'nın yükseltilmesinde en önemli tamponu HCO_3^- dür. Bunun dışında inorganik fosfatlar, $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ (sekonder fosfat/primer fosfat) şeklinde tamponlamaya katılırlar. Etkileri inorganik bileşikler kadar olmasa da, bazı inorganik bileşiklerin de tamponlayıcı gücü bulunmaktadır. Ağız ortamındaki kritik pH'yı tayin eden HA'nin çözünürlüğü, $(\text{Ca}^{+2})(\text{HPO}_4^{2-})$ iyonlarının çarpımına bağlıdır. Buna göre kritik pH; diş yüzeyindeki sıvının, HA'e göre doymamış olduğu ve mineden Ca ve P in ayrılmasına izin veren pH'dır. Bu genellikle 5,5 ve bunun altındaki pH'lardır. Kritik pH'nın altında diş minesinden çözünme (demineralizasyon) başlar. Bu da diş çürüklerinin başlaması için önemli bir faktördür (274). Oral kavitede tükürüğü normal pH'sından (6,5-7,5) uzaklaştıran çeşitli komponentlerle sıklıkla karşılaşmaktadır. Bu komponentler dişlerde ve mukozal yüzeylerde hasara neden olabilir. Bu noktada pH'da çürük aktivitesi açısından dikkate alınması gereken bir parametredir (278).

2.6.2 pH Tayini

Tükürüğün tamponlama kapasitesi ve pH değeri, diş çürüğü ve dental erozyon riskinin belirlenmesinde kullanılan göstergelerdendir (279,280). pH tayini farklı yöntemlerle yapılabilir.

i) İndikatör ile pH Tayini

pH tayini için en basit yöntemdir. İndikatörler iyonize halde zayıf asit ya da baz yapıdadır. İyonize olmamış halde renk farkı gösterirler. Örneğin fenol ftalein; anyon şeklinde kırmızı, dissosiyasyon olmamış halde renksizdir. pH'a bağlı olarak renk değişir. İndikatör kullanımının sakıncası 10^{-6} 'dan daha az olan değişimin gözle saptanamamasıdır (274).

ii) Elektriksel Yol ile pH Tayini

Bu yolla yapılan tayinlerde kullanılan alete pH metre denir. Doğruluk derecesi indikatöre göre daha fazladır. Bir cam elektrodu bulunur. İçinde 1 M HCL emdirilmiş platin elektrod vardır. İnce duvarlı cam ile kaplanmış uçtaki çıkıntı elektriği ileticek özel bir camdan yapılmıştır. Standart bir kalomel elektrod ile birlikte bir cam elektrod bir hücre oluşturur. Sabit bir derecede, bu hücrenin elektromotiv kuvveti (emf) tamamen cam elektrodun içinde bulunduğu solüsyonun H iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. pH metrede gücü ölçen voltmetre de bulunur (274).

2.7 Tükürükte Mikroorganizma Tes it Y ntemleri

Birçok çalışmada m.s. ve laktobasil sayıları çürük tespitinde ve çürüğün açıklanmasında kullanılmıştır. Ölçümlerde uygulanış kolaylığından dolayı oral kavitede m.o. tespitinde stimüle olmuş tükürük örneklerinden faydalanılmaktadır. Çürüğün değerlendirilmesinde plaktan elde edilen m.s. ve laktobasil miktarlarının daha güvenilir olmadığı gösterilmiştir (281). Diş yüzeyinde kolonize olmuş *S. mutans* miktarları ile tükürükte bulunan m.s. miktarları birbirleri ile ilişkilidir. Bu gerçek, tükürük testlerinin temelini oluşturur (243). Genellikle tükürük ve plak örneklerindeki mikrobiyolojik tetkikler geleneksel yöntemlerle mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılmaktadır. Bu yöntem, örneklerin taşınması ve üretilmesi açısından çeşitli zorluklar içermektedir. Fakat son yıllarda hasta başında uygulanan (chair-side) yöntemler geliştirilerek bu zorluğun önüne geçilmiştir (250). 1975'te dip-slide tekniği denilen çürük aktivite testlerinin dişhekimliği muayenelerinde uygulanabilir şekli geliştirilmiştir. Teknik oldukça basittir. Hastadan alınan tükürüğün bir

çubuk yardımıyla çürük aktivite testine nakledilmesi esasına dayanmaktadır. Sonuçta oluşan basit koloniler çıplak gözle görülebilir büyüklüktedir. Bu kolonilerin sayısından çok yoğunluğu ağız durumunu değerlendirmede kullanılır (273).

2.7.1 Tükürükte Mutans Streptokok Tayini

S. mutans'ın diş çürüklerinin başlangıcında rol oynayan primer patojen olduğu ve oral mukoza yüzey enfeksiyonlarına neden olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (266, 267, 282, 283). Oral floraaya ait 500'den fazla türde bakteri bulunmakla birlikte diş çürükleri, *S. mutans*'ın da içinde olduğu karyojenik patojen m.o. sayısındaki aşırı artış sonucu meydana gelmektedir. Diş çürüklerinin önlenmesi veya azaltılması için kullanılacak yöntemlerden birisi de *S. mutans*'ların kolonizasyonunun engellemesidir (284, 285, 286). Bu noktada m.s.'ların tespit edilmesi önem kazanmaktadır.

2.7.1.1 MSBB Metodu

S. mutans'ın test tüpü duvarlarına yapışma kabiliyetine dayanır. Test tüpünün içinde basitrasın içeren sükrözlu besiyeri mevcuttur (250).

2.7.1.2 Caries Screen SM

MSB agarı içeren Caries Screen SM ile *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. milleri* ve *S. salivarius*'un üremediğini ve böylelikle Caries Screen SM'in seçiciliğini göstermişlerdir. Bütün bu türler MS agar ve kanlı agarda üremiştir. MSB agar m.s. için yarı seçtirici bir besiyeridir.

2.7.1.3 Chair-side Hasta başında uygulanan Metodlar

Chair-side SM yönteminde (287) seçtirici bir buyyon tüpü, plastik strip ve basitrasın diski kullanılmaktadır (250). Günümüzde çeşitli firmaların ürettiği chair-side kitler dişhekimi ve araştırmacıların hizmetine sunulmuştur.

2.7.2 Tükürükte Laktobasil Tayini

Tükürük laktobasil düzeyinin yüksek olması; bireyde sık şeker tüketimi, ağız ortamının asidik olması, azalmış tükürük akış hızı gibi çürüğe eğilimli koşullar olduğunu gösterir (288). Bu noktada laktobasillerin tayin edilmesi ve gerekli önlemlerin alınması için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

2.7.2.1 Snyder Testi

Ağızdaki çürük yatkınlığını gösteren asit üretimi oranını test etmek amacıyla kullanılan kalorimetrik bir testtir. Bu test esas olarak çürük oluşumundan laktobasilin sorumlu olmasını baz alır. Dişler üzerinde biriken laktobasil tarafından üretilen asit nedeniyle oluştuğu düşünülen çürüklerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılır. Tükürük içinde glukoz ve indikatör olarak bromokrezol bulunan asit agara ekilir. Tükürükteki asit üreten m.o (örn. Laktobasil) rengin maviden yeşile veya sarıya dönmesine neden olur. Hızlı bir değişim olması ise yüksek çürük aktivitesini göstermektedir (289).

2.7.2.2 Modifiye Snyder Testi

Snyder testinin basitleştirilmiş halidir. Sadece 0,2 ml kültür belli hacimdeki tükürük ile kalibre edilmiş bir metal halka yardımıyla karıştırılır. Yeni test, 400 tükürük örneği üzerinde Standart Snyder testide uygulanarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Yeni testten elde edilen sonuçlar Standart Snyder testiyle paralellik göstermiştir. Tek fark elde edilen renk değişiminin daha kesin olması ve sonuçların daha kolay değerlendirilmesidir.

2.7.2.3 Cariostat

Çürük durumu (caries state) nun kısaltılmış halidir. 20 sukroz ve pH indikatörlerinin bir karışımını içeren semisentetik bir sıvıdır. Kolorimetrik bir test olan Cariostat(Sankin, Japan), dental plaktaki asit içeren m.o.'ların mevcut sıvının rengini koyu maviden açık mavi, yeşil ve sarıya döndürmesine göre değerlendirilir (290).

2.7.2.4 Chair-side metodlar

Larmas (291), 1975 yılında dip-slide tekniğini geliştirerek normal mikrobiyolojik laboratuvar çalışmalarını basitleştirmiştir. Bu teknik bir yüzeyin tükürük ile kaplanması esasına dayanan basit bir yöntemdir. Yüzeyin üzerinde kalan tükürük miktarı sabittir ve yüzeyin üzerinde üreyerek koloni oluşturan m.o.'lar çıplak gözle bile görülebilirler. Bu yöntem ile 10^5 veya 10^6 cfu/ml.'den yüksek laktobasil seviyesine sahip kişiler, aktif çürüklü olarak kabul edilirler (291, 292, 293).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Etik Kurul Raporu Temini

Çalışmamız için gerekli Etik Kurul Raporu, Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (11.03.2008-No:1) alınmıştır.

3.1.2 G nüllü Çocuk Hastaların Belirlenme Esasları ve Tayini

2008 yılı Eylül ayında; Yeditepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti A.D başvurana 8-10 yaş grubundaki 60 çocuk hasta rastgele seçilmiştir. Gerekli tıbbi ve dental anamnez alındıktan sonra, herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan ve düzenli ilaç kullanmayan hastaların velilerine çalışmayla ilgili gerekli bilgi verildikten sonra yazılı onam formu imzalatılmıştır. Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınan izin sonrasında çalışmaya başlanmıştır. Seçtiğimiz hasta grubu okul çağındaki çocuklardan oluştuğu için çalışma periyodunun başlangıç tarihini yaz tatili sonrası dönem (Eylül – Ekim - Kasım 2008) olarak belirlenmiştir.

Hastaların tedavileri Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Kliniği'nde tamamlanmış ve rutin kontrolleri de aynı klinikte devam etmektedir.

Hasta seçimi yapılırken dikkat edilen hususlar;

- i) Hastanın 8 ile 10 yaşları arasında olması,
- ii) Hastanın karışık dişlenme döneminde olup daimi birinci büyük azı ve daimi santral kesici dişlerinin tam olarak sürmüş olması,
- iii) Hastaya ağız hijyen eğitiminin verilmiş ve düzenli diş fırçalama alışkanlığının kazandırılmış olması,
- iv) Hasta velilerinin çalışmaya tam uyum sağlayabilecek bilinç ve istekte olması,

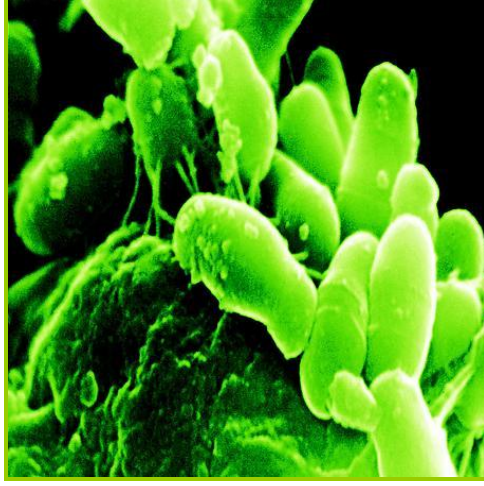
- v) Hasta velilerinin çalışma kurallarına tam uyum sağlamaları için proje yürütücüsü ile düzenli iletişim kurmaları,
- vi) Herhangi bir yan etki görülmesi, hastalık durumu (üst solunum yolu enfeksiyonları (ÜSYE), ateşli hastalıklar vb.), antibiyotik kullanımı veya yoğurt tüketimindeki aksaklıkların derhal hekime bildirilmesi gibi konularda aileyle tam uyum sağlanması,
- vii) Çalışma süresince, çalışma dışı probiyotik ürünlerin tüketilmemesi, ksilitollü sakızların çiğnenmemesi, aileye ve çocuk hastalarımıza bildirilmiştir.

3.1.3 Probiyotik Ajanın Seçimi

B. biūdum DN-173 010 içeren meyveli probiyotik yoğurt (Çilek meyveli probiyotik Danone Activia[®], Danone , Lüleburgaz, Türkiye) ve meyveli yoğurt (Çilekli meyveli Danone[®] yoğurt, Danone, Lüleburgaz, Türkiye) (Resim 2 a,b) seçilmiştir. Bu 2 tip yoğurt arasında tat, koku ve renk farkı bulunmamakla birlikte meyveli yoğurtta probiyotik bakteri bulunmamaktadır. Günlük *B. Biūdum* DN-173 010 (Resim 3) alım sayısı üretici firmanın belirttiği miktar olan yaklaşık 1×10^{10} cfu/ml olarak belirlenmiştir.



Resim 2 a, b. Danone Activia[®] çilek meyveli probiyotik yoğurt ve Danone[®] çilek meyveli yoğurt



Resim 3. *B.bifidum* DN-173 010'un SEM görüntüsü

3.2 Yöntem

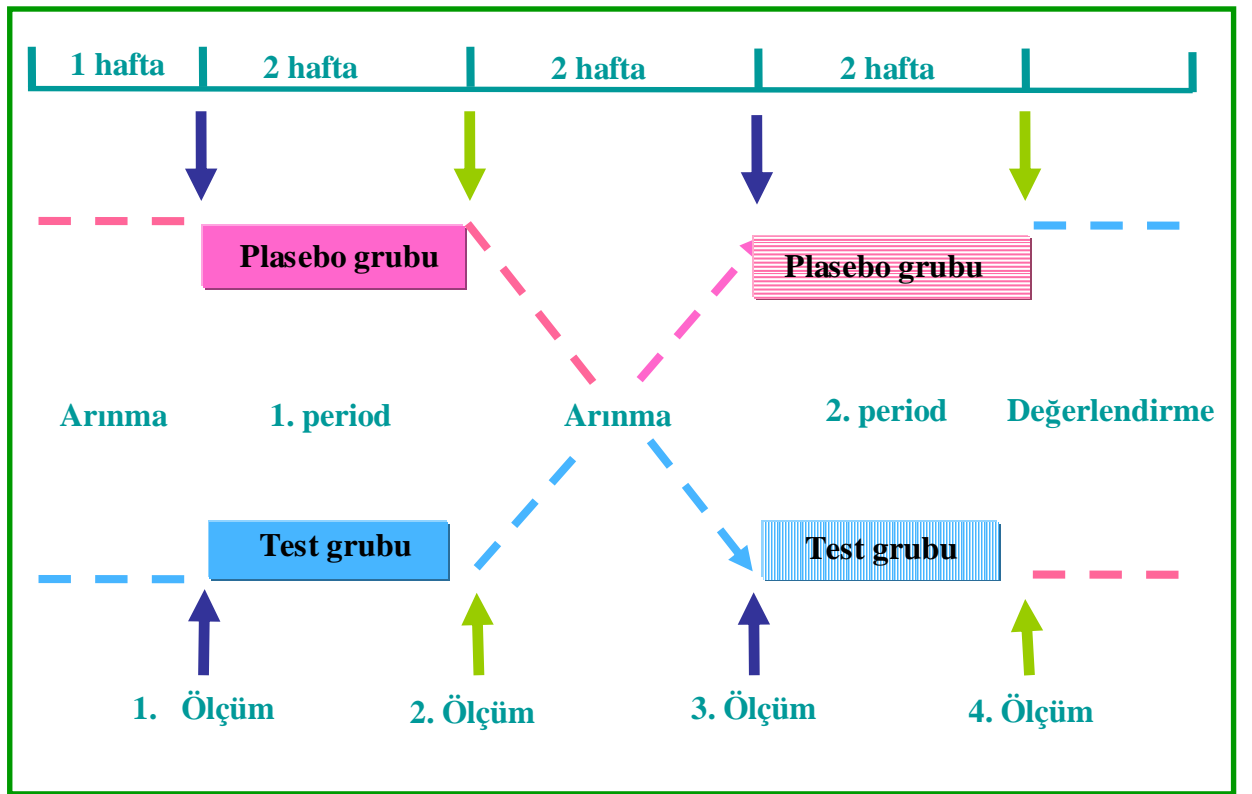
Çalışmamızın yöntemi aşağıdaki sıra ile gerçekleştirilmiştir.

- 1-) Çocuk hastalar rastgele dağılımla iki gruba (test ve plasebo) ayrılmışlardır.
- 2-) Her grubun 1 hafta süt ve süt ürünleri kullanımının kesildiği arınma dönemi (wash-out period) sonrasında plak ve tükürük örnekleri toplanmıştır.
- 3-) Test ve plasebo grupları sırayla 2'şer hafta boyunca plasebo (Çilek meyveli Danone® yoğurt, Danone®, Lüleburgaz, Türkiye) veya *Bifidobacterium bifidum* DN-173 010 içeren test yoğurdu (Danone Activia® çilek meyveli probiyotik yoğurt, Danone®, Lüleburgaz, Türkiye) tüketmişlerdir.
- 4-) Günlük yoğurt tüketim miktarı 1 kup (110g) olarak belirlenmiştir.
- 5-) İki haftalık düzenli meyveli yoğurt tüketimi sonrasında plak ve tükürük örnekleri tekrar toplanmış, m.s ve laktobasil değerleri ölçülmüştür.
- 6-) Bu çalışma, cross-over şekilde her 2 gruba da uygulanmıştır. İki haftalık wash-out periodundan sonra her gruptaki bireyin plak ve tükürük örnekleri tekrar toplanmış ve çocuk hastaların seçilen meyveli yoğurtları saat 10.00'da düzenli olarak tüketmeleri sağlanmıştır.

Günlük tüketim miktarlarında ve verilen probiyotik bakteri sayısında değişiklik yapılmamıştır.

7-) 2'şer haftalık düzenli yoğurt tüketimi sonrasında her çocuk hastadan plak ve tükürük örnekleri tekrar toplanmıştır.

Çalışma düzeni Şekil 2'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. Çalışma metodunun şematik gösterimi

3.2.1 Süreç

Çalışma tarihi olarak, çocuk hastaların yaz tatillerinin bittiği ve okulların açıldığı Eylül-Ekim-Kasım (2008) ayları seçilmiştir. Böylece çocuk hastaların çalışmaya devamlılığı daha kolay kontrol edilebilmiştir. Çocuk hastalar, okulların açılmasıyla birlikte tatil ortamından çıkıp çalışmaya, disipline, düzenli beslenmeye daha iyi motive olmaktadır. Ayrıca çalışmaya başlanılan aylarda iklim şartlarının ılıman olması nedeniyle mevsimsel enfeksiyonlara daha az rastlandığı bilinmektedir. Çalışmanın tamamı aynı dönem içerisinde bitirilmiştir. Böylece yoğurtların yapıldığı bölge olan Lüleburgaz'da çevresel (hava, toprak vb.) koşullar çok fazla değişiklik göstermemiş ve hayvanlardan elde edilen sütün standardı üretici firma tarafından sağlanmıştır.

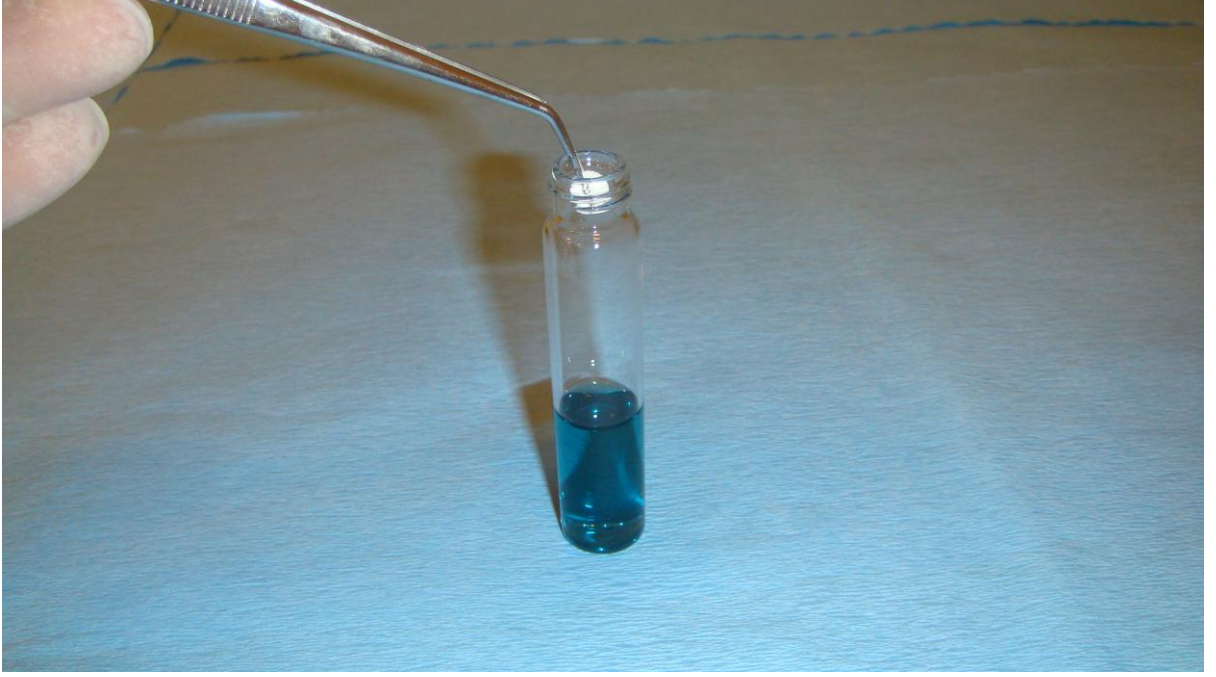
3.2.2 Tükürük ve Plak Örneklerinin Alınması

Çalışmaya katılan çocuk hastalar, Yeditepe Üniversitesi Pedodonti Anabilim Dalı Profilaksi Kliniği'nde standart ünitelerde hasta dik pozisyonda ve reflektör ışığı altında muayene edilmişlerdir. Her çocuk hastadan plak ve tükürük örnekleri alınmıştır. (Resim 4)



Resim 4. Çocuk hastanın ünite alınması ve hazırlıklar

Üretici firmanın direktifleri doğrultusunda, plak ve tükürük örnekleri alınmadan 15 dk. önce, her test tüpüne birer basitrasin tablet atılarak beklenmiştir. (Resim 5)



Resim 5. Test tüplerinin içerisine basitrasin tablet atılması

Çocuk hastalardan uyarılmış tükürük toplanabilmesi amacıyla parafin tabletler 5 dk. boyunca çiğnetilerek tükürük örnekleri steril bir kapta toplanmıştır. (Resim 6,7,8)



Resim 6. Tükürük toplama işlemi için çocuk hastalara parafin tablet çiğnetilmesi



Resim 7. Uyarılmış tükürüğün steril kap içerisinde toplanması



Resim 8. Steril kap içerisinde tükürük örneğinin biriktirilmesi

Tükürükte bulunan m.s.'lerin seviyesinin belirlenmesi amacıyla dil yüzeyinden strip yardımıyla tükürük örnekleri toplanmış ve test tüplerine yerleştirilmiştir. (Resim 9,10)



Resim 9. Oral kavitede bulunan m.s. seviyesinin belirlenmesi amacıyla dil yüzeyinden strip yardımıyla örnek alınması



Resim 10. Stripin test tüpüne yerleştirilmesi

Çocuk hastalarda, probiyotik meyveli yoğurt ve plasebo meyveli yoğurt tüketimi öncesinde ve sonrasında klinik ziyarete gelmeden 1 gün önce diş fırçalanmaması gerektiği bildirilmiştir. Dental plaktaki m.s. seviyesindeki değişimin belirlenmesi amacıyla; 16, 11, 36 ve 31 no.'lu dişlerin bukkal ve vestibül yüzlerinden, her diş için ayrı hazırlanmış steril sondlar yardımıyla 1 günlük dental plak toplanmıştır.(Resim 11,12,14,15,17,19)

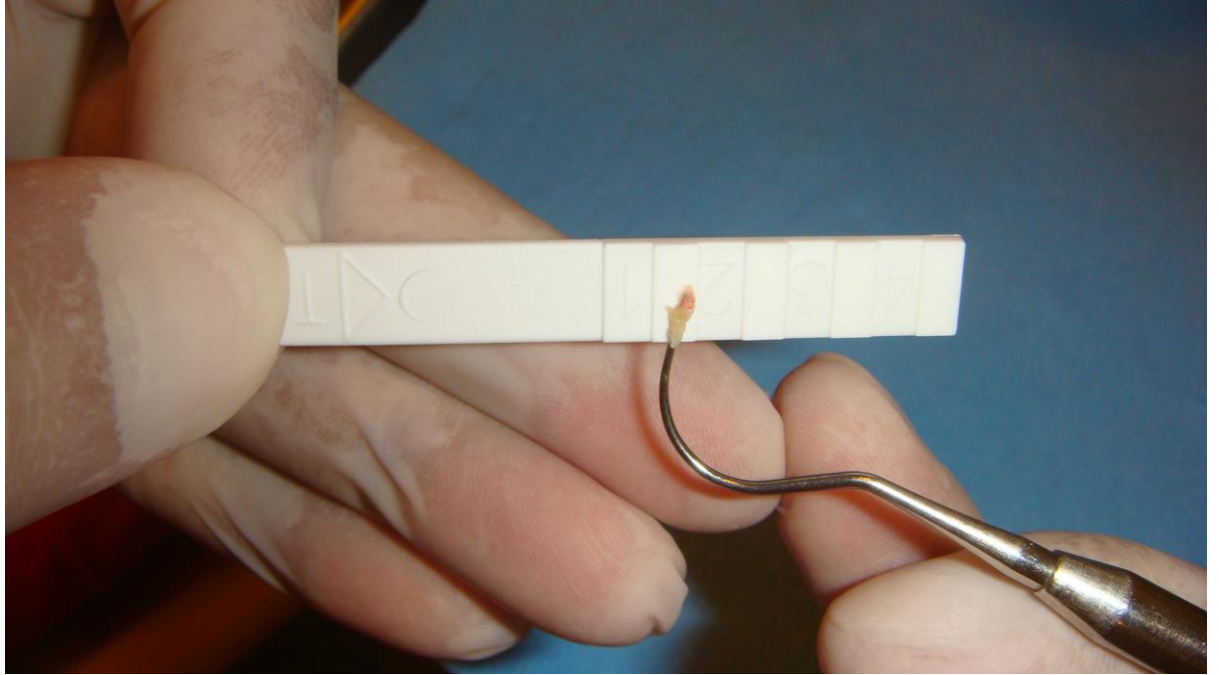


Resim 11. 16 no.'lu diştten dental plak örneğinin alınması



Resim 12. 16 no.'lu dişten alınan dental plak örneği

Belirtilen 4 farklı bölgedeki dişlerden toplanan dental plak örnekleri, üretici firmanın direktifleri doğrultusunda stripler üzerinde bulunan bölümlere yayılmış ve test tüplerine yerleştirilmiştir. (Resim 13,16,18,20,21,22)



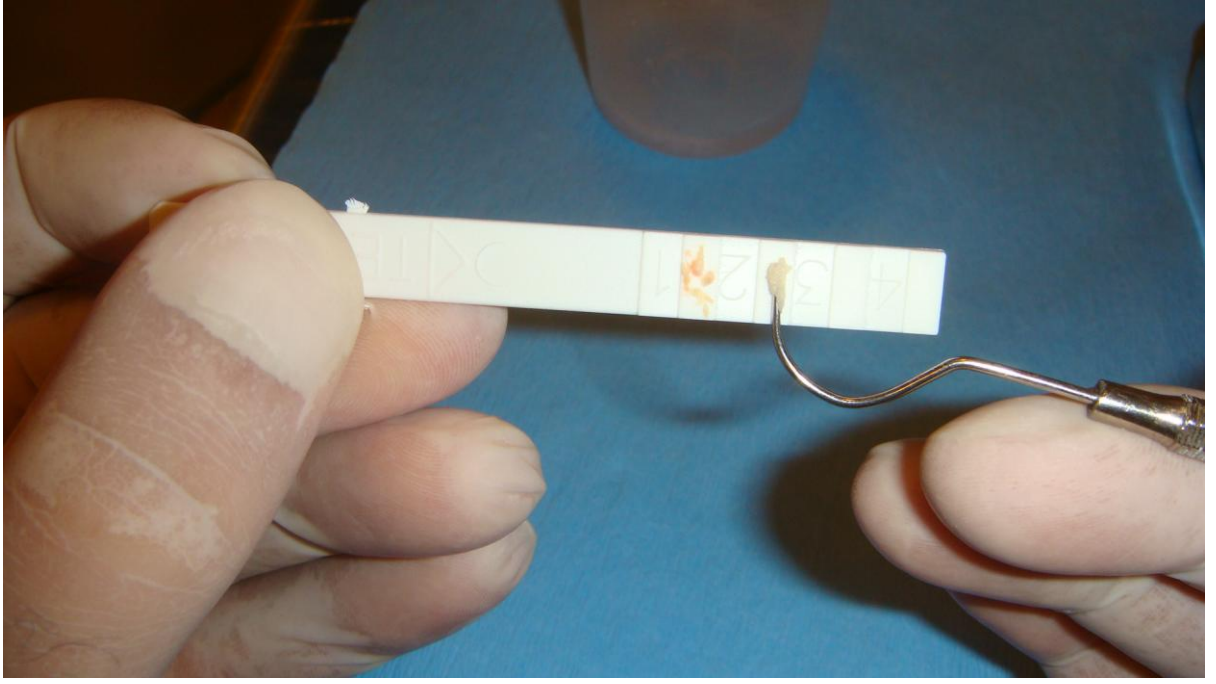
Resim 13. 16 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinin strip üzerine yayılması



Resim 14. 11 no.'lu dişten dental plak 6rneğinin alınması



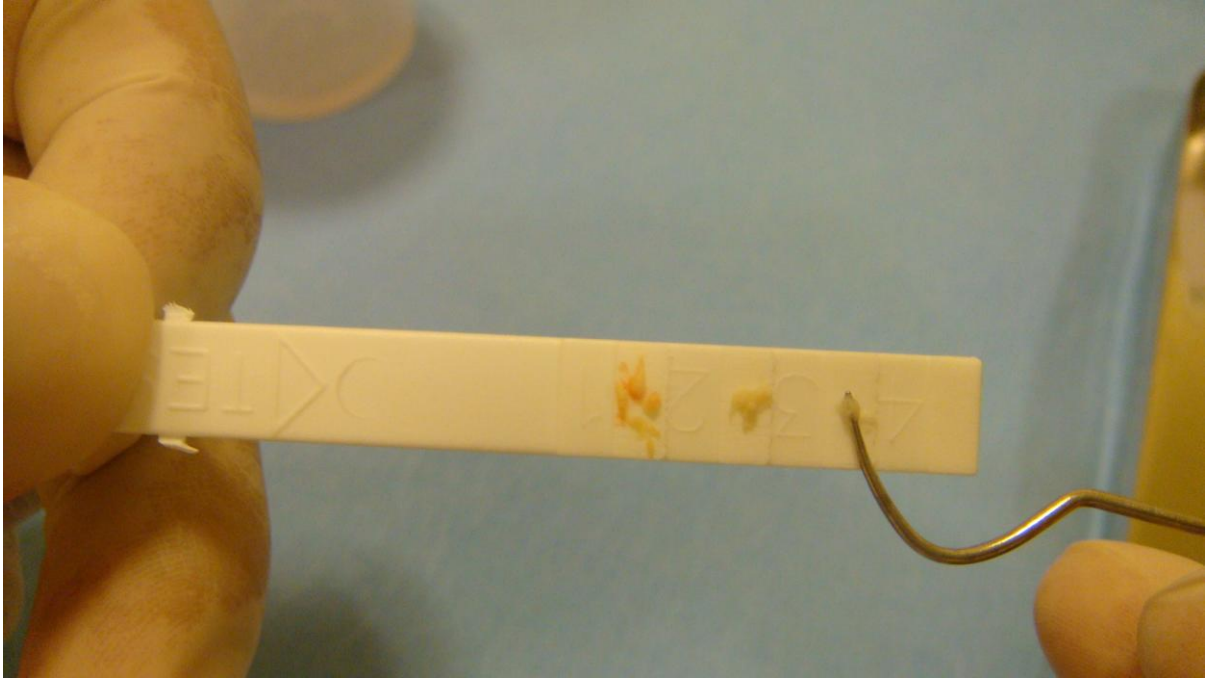
Resim 15. 11 no.'lu dişten alınan dental plak 6rneği



Resim 16. 11 no.'lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması



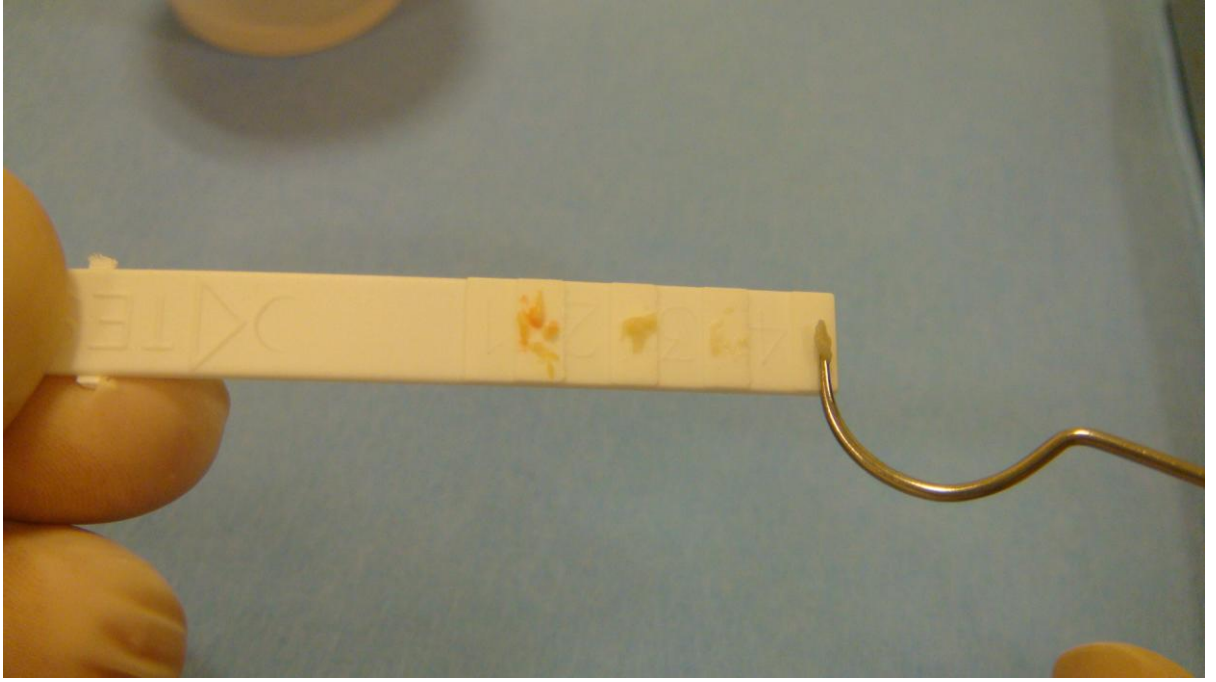
Resim 17. 36 no.'lu dişten dental plak örneğinin alınması



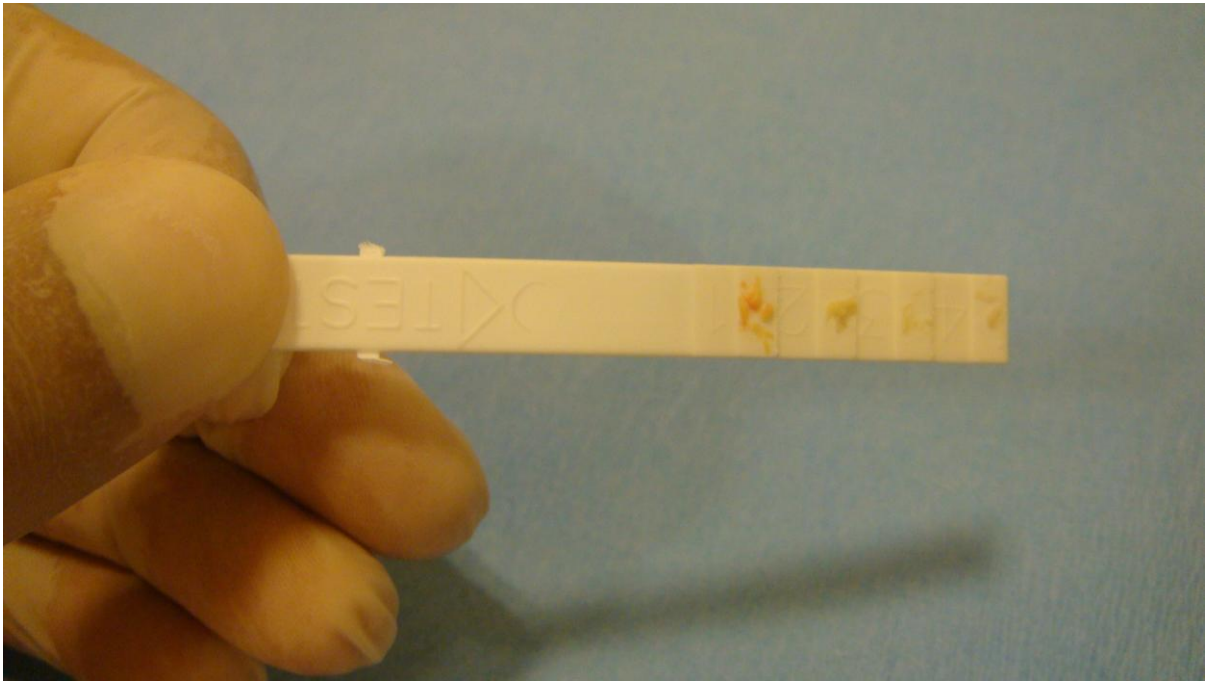
Resim 18. 36 no.'lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması



Resim 19. 31 no.'lu dişten dental plak örneğinin alınması



Resim 20. 31 no.'lu dişten alınan plak örneğinin strip üzerine yayılması



Resim 21. Toplanan dental plak örneklerinin strip üzerine yayılmış görüntüsü



Resim 22. Stripin test tüpüne yerleştirilmesi

Çalışmada dental plaktaki ve tükürükteki m.s. ve laktobasil seviyelerinin belirlenmesi amacıyla Dentocult[®] SM ve Dentocult[®] LB chair-side kitler kullanılmıştır.(Resim 23,24)

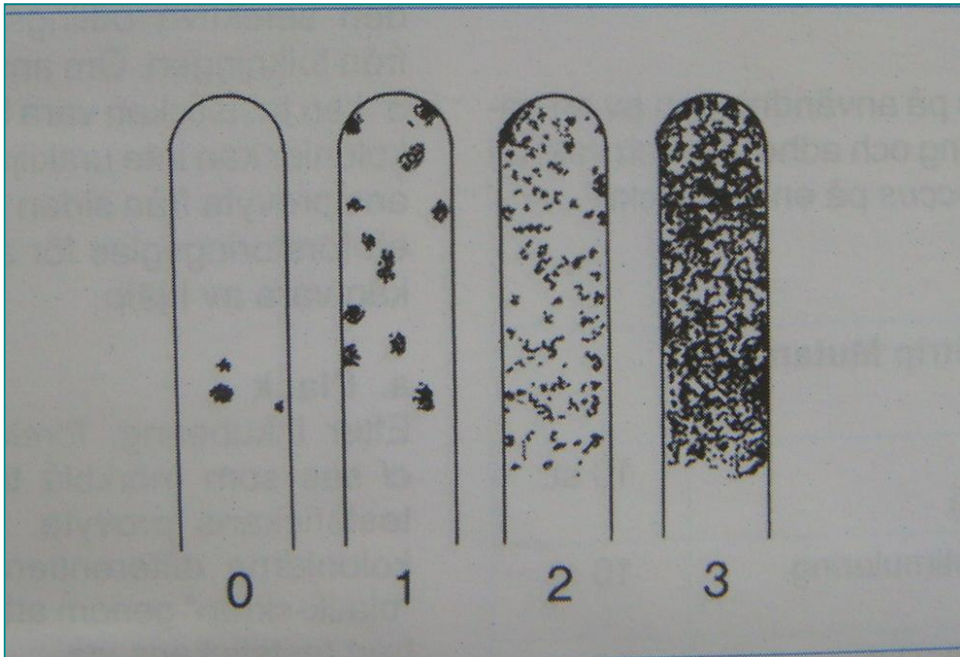


Resim 23. Dentocult[®] SM chair-side kit

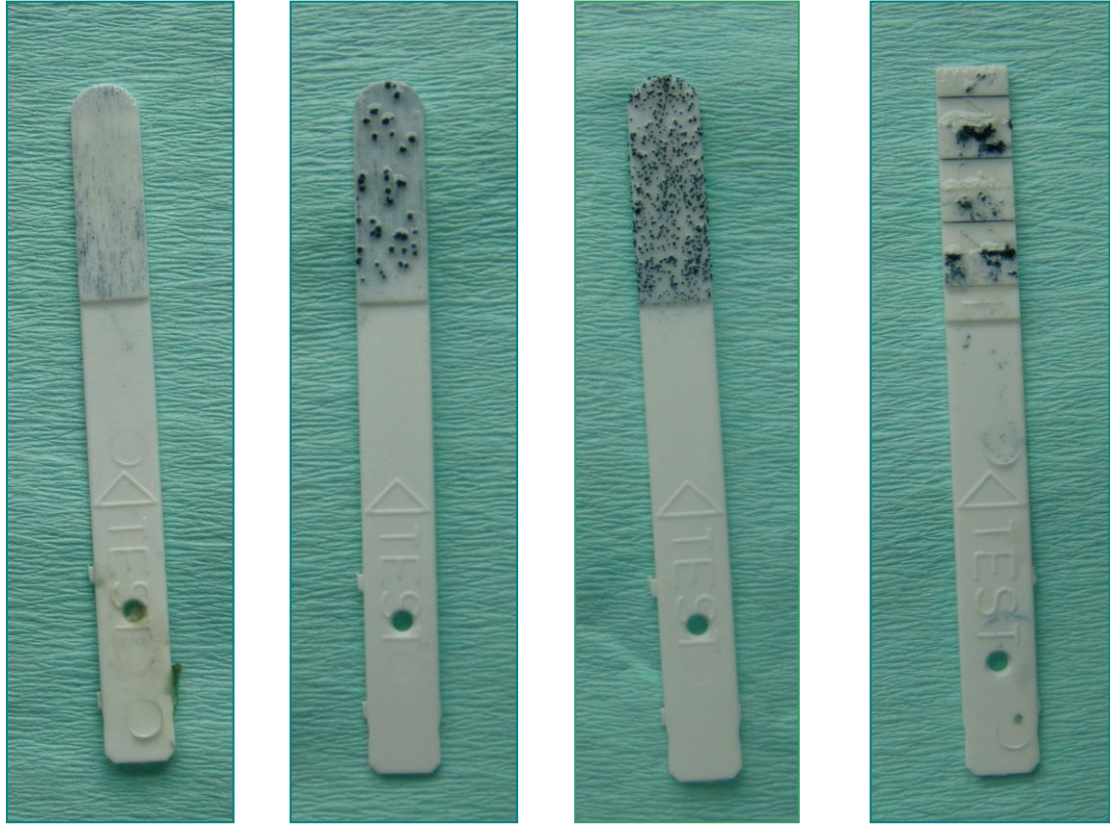


Resim 24. Dentocult® LB chair-side kit

Stripler yardımıyla hastalardan toplanan dental plak ve tükürük örnekleri etüvde 48 ve 96 saat bekletildikten sonra, oluşan m.s. ve laktobasil kolonileri üretici firmanın belirttiği koloni oluşum şemalarıyla karşılaştırılarak skorlar hesaplanmıştır.(Resim 25, 26 a,b,c,d, 27)



Resim 25. Dentocult® SM chair-side kit ile yapılacak deneyler için örnek şema



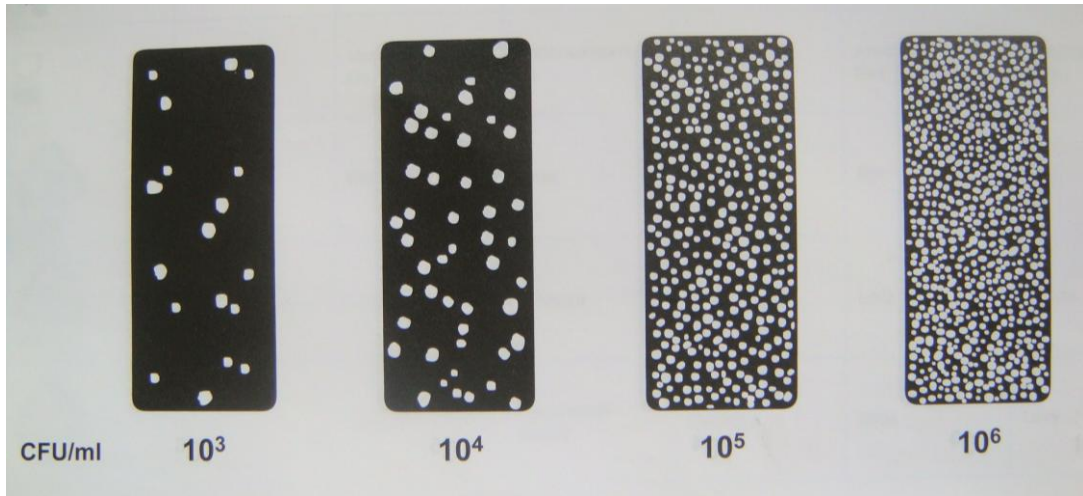
(a)

(b)

(c)

(d)

Resim 26 a, b, c, d Stripler yardımıyla çocuk hastalardan toplanan tükürük (a,b,c) ve dental plak(d) örneklerinin 48 saat etüvde bekletildikten sonra stripler üzerinde oluşan m.s. kolonilerine örnekler



Resim 27. Dentocult® LB chair-side kit ile yapılacak deneyler için örnek şema

Çocuk hastalardan toplanan uyarılmış tükürük örnekleri; laktobasil seviyesinin belirlenmesi amacıyla, üretici firma doğrultusunda, steril pipetler yardımıyla dip-slide üzerine yayılmıştır.(Resim 28) Çocuk hastalardan toplanan plak ve tükürük örnekleri Yeditepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yumuşak Doku Laboratuvarı'nda etüv içerisinde, 37°C'de, 48 ve 96 saat bekletilmiştir (Resim 33, 34) ve koloni oluşum miktarı, morfoloji temel alınarak gözle tipik koloniler incelenmiştir. Koloni oluşum birimi (cfu), üretici firmanın direktifleri doğrultusunda, 4 farklı kategoriye ayrılarak, bir Pedodontist (E. Çağlar)ve bir Pedodonti A.B.D. doktora öğrencisi (O.Serger) tarafından belirlenmiştir. (Resim 25,27) Hekimler daha önceden yaptıkları ön çalımlar ile birbirlerine kör olarak kalibrasyon gerçekleştirmişlerdir.



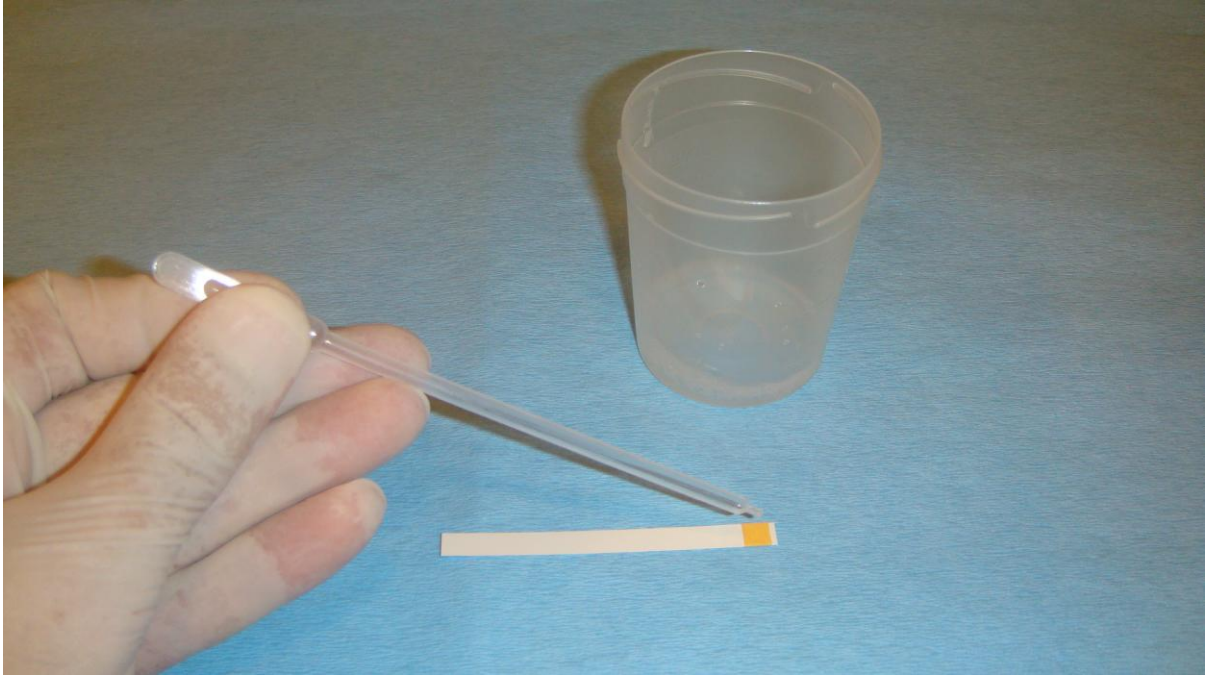
Resim 28. Toplanan tükürük örneğinin Dentocult® LB strip üzerine yayılması

3.2.3 Tükürük Tam onlama Ka asitesi Tayini

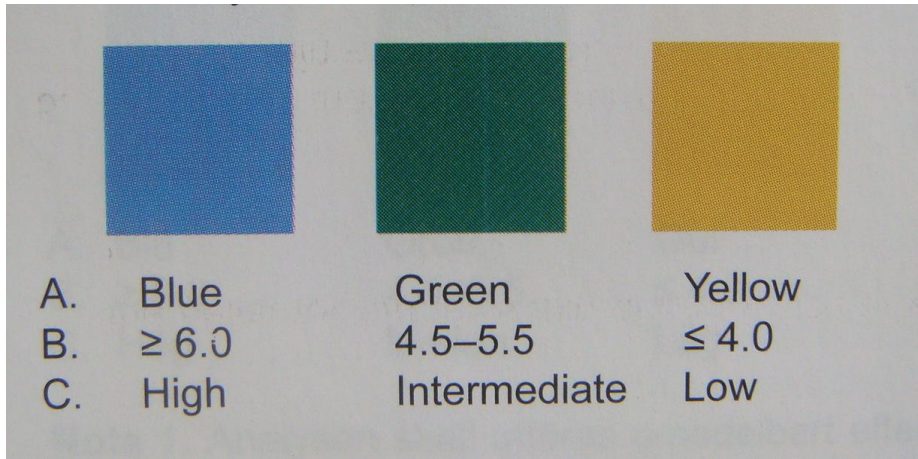
Tükürük tamponlama kapasitesinin belirlenmesi amacıyla Dentobuff® Strip chair-side kitler kullanılmıştır.(Resim 29) Çocuk hastalardan toplanan uyarılmış tükürük örnekleri steril pipet yardımı ile indikatör çubuk üzerine yayılarak 5 dk. beklendikten sonra renk değişimi incelenmiştir.(Resim 30, 31, 32)



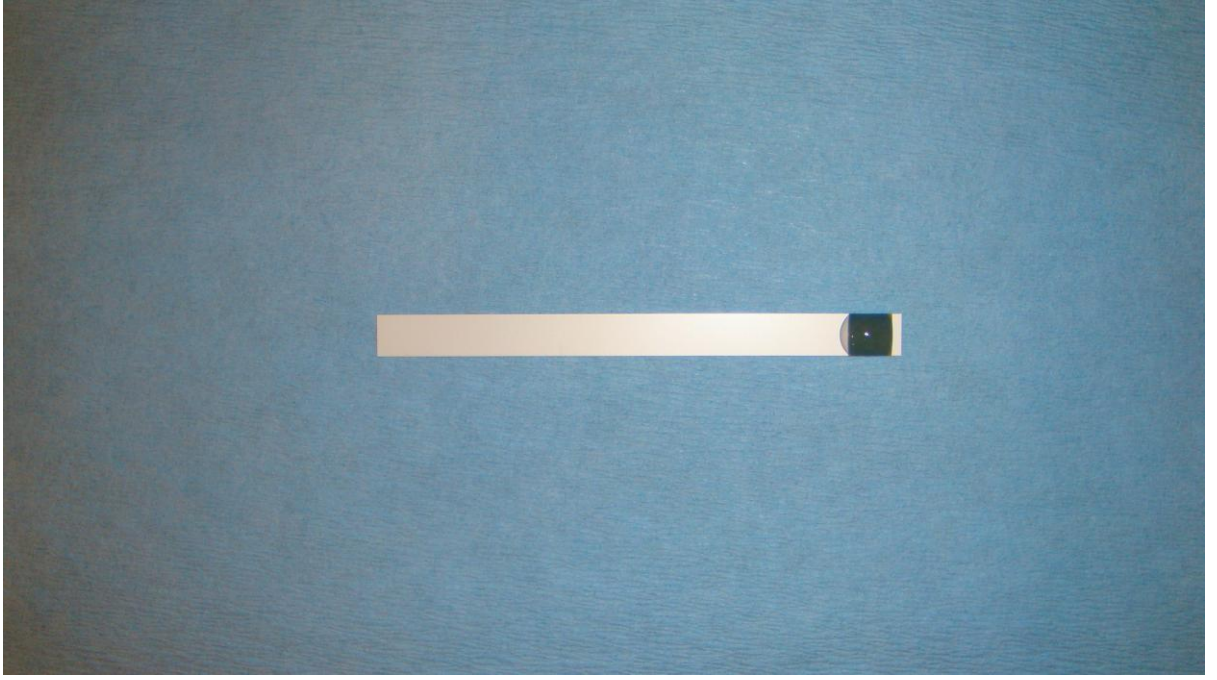
Resim 29. Dentobuff® Strip chair-side kit



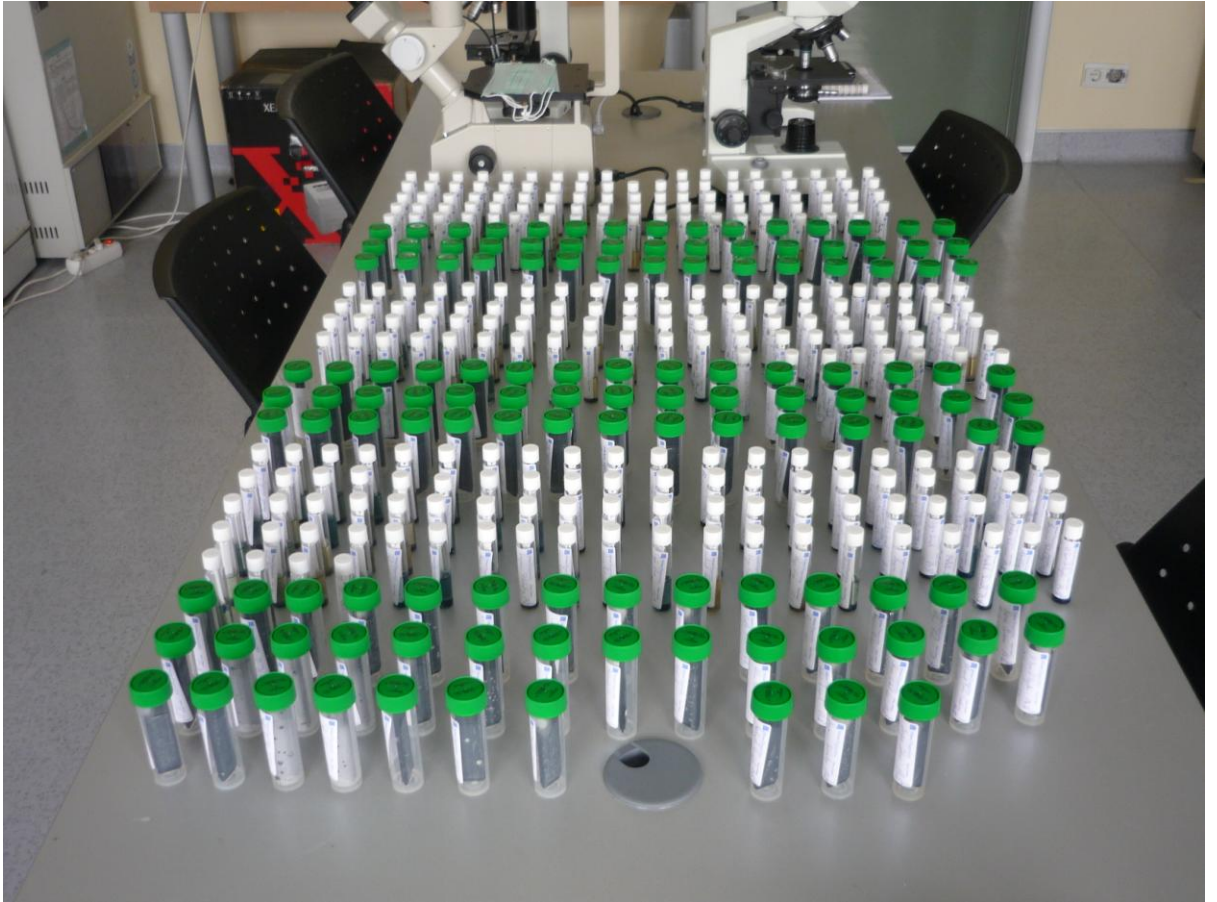
Resim 30. Çocuk hastadan alınan tükürük örneğinin steril pipet yardımıyla pH indikatörü üzerine yayılması



Resim 31. Dentobuff® Strip chair-side kit ile yapılacak deneyler için örnek şema



Resim 32. pH indikatöründe renk değişiminin incelenmesi



Resim 33. Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yumuşak Doku Laboratuvarı'nda muhafaza edilen test tüplerinin genel görüntüsü



Resim 34. Yumuşak Doku Laboratuvarı etüvü

Çocuk hastalarımızdan toplanan tükürük örneklerinde ve dental plakta m.s. ve laktobasil bakterileri seviyesi ve tükürük tamponlama kapasitesinin incelenmesi amaçlanmıştır ve chair side Dentocult[®] SM ve Dentocult[®] LB (Orion Diagnostica[®], Espoo, Finlandiya) kitleri ile tayin edilmiştir. İncelenen örneklerde m.s. ve laktobasil seviyesi, kitlerin içerisindeki indikatör çubuklarla, koloni oluşum birimi(cfu)/ml olarak ölçülmüştür. Örnekler üretici firmanın direktifleri doğrultusunda 10 000 cfu/ml 0 , 100 000 cfu/ml 1 , 100 000-1 000 000 cfu/ml 2 , 1 000 000 cfu/ml 3 olarak sınıflandırılmıştır.

Tükürük örneklerinin tamponlama kapasitesi ise Dentobuff[®] (Orion Diagnostica[®], Espoo, Finlandiya) chair-side kitlerin içerisindeki indikatör çubuklar üzerindeki renk değişikliklerine göre belirlenmiştir. Mavi renk pH seviyesinin 6 (yüksek) olduğunu, yeşil renk pH seviyesinin 4.5-5.5(orta) olduğunu, sarı renk pH seviyesinin 4.0 (düşük) olduğunu belirtmektedir.

3.3 İstatistiksel analiz

Probiyotik ve plasebo yoğurt tüketimi öncesi ve sonrası ölçümlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. İstatistiksel analizler, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Nural Bekiroğlu tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışma gruplarımızdan elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi amacıyla SPSS® (SPSS® Inc., v. 11.5, Chicago, Ill., ABD) ve GraphPad® InStat (GraphPad® Software, Inc., La Jolla, CA, ABD) programları kullanılarak unpaired t-testi ve tamponlama kapasitelerinin değerlendirilmesi amacıyla McNamar testi uygulanmıştır. Gruptaki hastalardan uygulama öncesi ve sonrası alınan plak ve tükürük örneklerinden toplanan değerler, her bir hasta için ayrı ayrı değerlendirilmiş ve karşılaştırılan m.s., laktobasil değerleri ve tamponlama kapasiteleri sunulurken yaygınlık ölçüsü olarak standart sapma kullanılmıştır. Veri değerleri standart sapma olarak belirtilmiş, p değeri 0.05 (çift kuyruk) kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

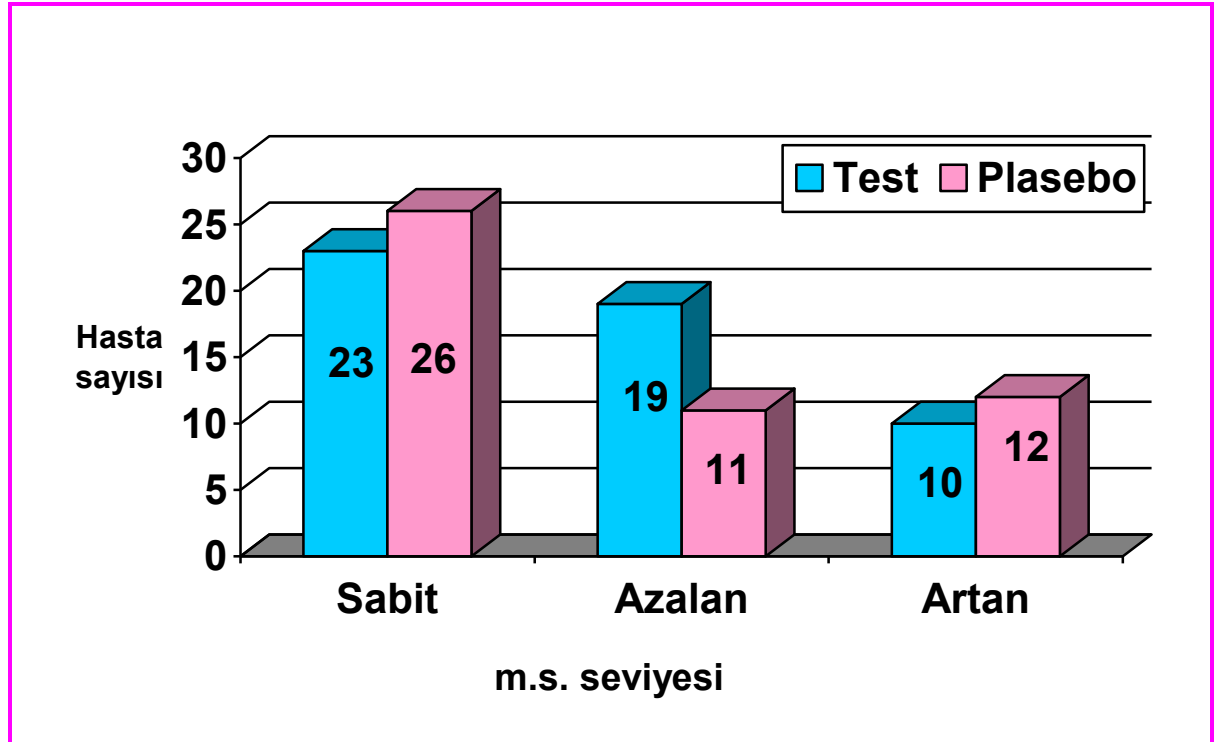
Çalışmaya 60 sağlıklı çocuk hasta ile başlanmıştır. Çeşitli nedenler (sağlık problemleri ve kurallara uymama v.b.) sebebiyle bazı çocuk hastalar değerlendirilmeye alınmamıştır. Çocuk hastalardan 52'si düzenli olarak *B. biīdum* DN-173 010 içeren probiyotik yoğurt tüketmiş ve çalışma sonucunda değerlendirmeye alınmıştır. Aynı çocuk hasta grubundan, randomize- çift kör tekniği ile gerçekleştirilen çalışmamızda, 49 çocuk hasta kendi kendilerinin kontrolü olarak meyveli yoğurdu düzenli şekilde kullanmış ve çalışma sonucunda değerlendirmeye alınmıştır. *B. biīdum* DN-173 010 içeren meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt tüketimi sonrasında alınan değerler istatistiksel olarak incelenmiştir.

Çalışma başlangıcında ve sonunda alınan tükürük örnekleri m.s. seviyesi açısından karşılaştırıldığında; meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın m.s. seviyesi; 23 çocuk hastada sabit kalmış, 19 çocuk hastada başlangıç değerlerine göre azalma göstermiş, 10 çocuk hastada ise artış göstermiştir. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastadan çalışmanın başlangıcında ve sonunda alınan tükürük örnekleri karşılaştırıldığında; 26 çocuk hastada m.s. seviyesi sabit kalırken, 11 çocuk hastada ise azalma, 12 çocuk hastada artış gözlenmiştir. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. ($p:0,2994$) (Tablo 5, Şekil 3)

Tablo 5. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında tükürükten alınan örneklerdeki m.s. seviyesinin değişimi

Zaman	m.s. sayısı cfu/ml			
	< 10 ⁴ cfu/ml	<10 ⁵ cfu/ml	10 ⁵ -10 ⁶ cfu/ml	>10 ⁶ cfu/ml
Meyveli probiyotik yoğurt test grubu)				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	10	13	22	7
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	11	16	23	2
Meyveli yoğurt plasebo grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	13	9	21	6
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	6	17	23	3

p> 0.05, unpaired t-test



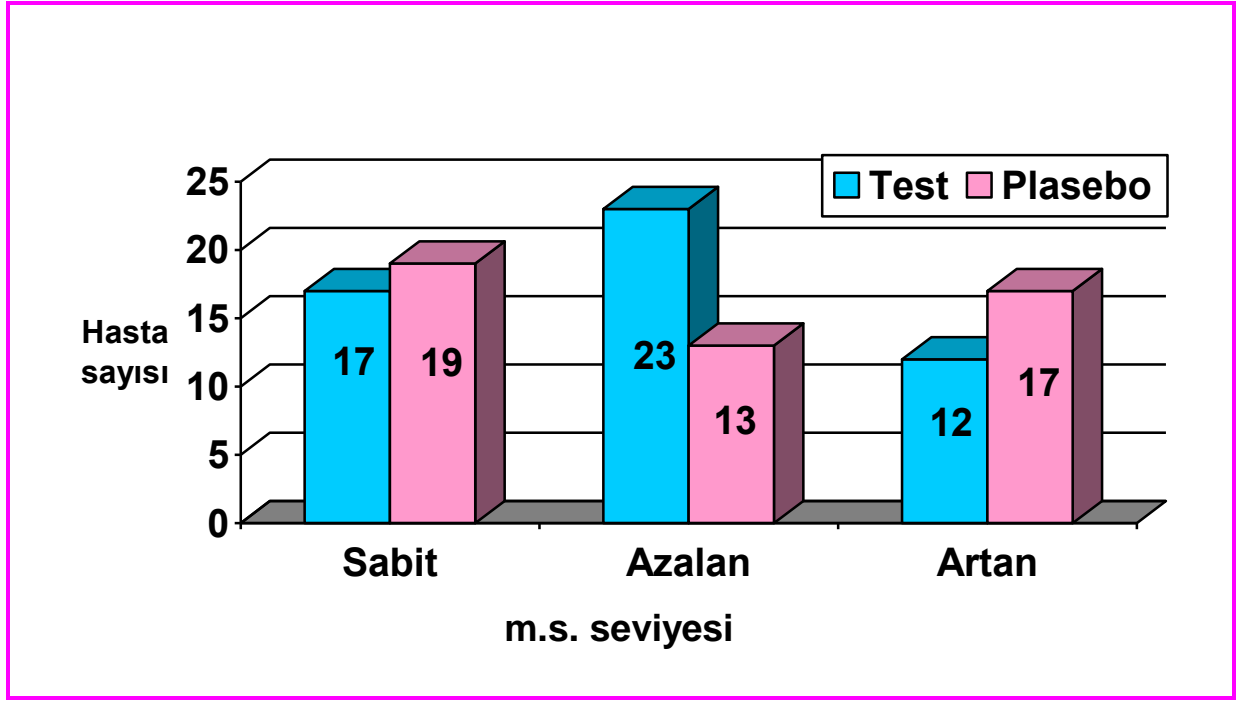
Şekil 3. Tükürükteki m.s. seviyesindeki değişim

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 16 no'lu dişinden alınan dental plak örneklerinde m.s. seviyesi incelendiğinde; 17 çocuk hastada değerler sabit kalırken, 23 çocuk hastada azalma görülmüştür. 12 çocuk hastada ise artış tespit edilmiştir. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastanın 16 no.'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde; 19 çocuk hastada m.s. seviyesi sabit kalırken, 13 çocuk hastada bu değerler azalma göstermiştir. Bununla birlikte 17 çocuk hastada m.s. seviyesinde artış görülmüştür. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. ($p:0,16$)(Tablo 6, Şekil 4)

Tablo 6. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 16 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi

Zaman	m.s. sayısı cfu/ml			
	< 10 ⁴ cfu/ml	<10 ⁵ cfu/ml	10 ⁵ -10 ⁶ cfu/ml	>10 ⁶ cfu/ml
Meyveli probiyotik yoğurt test grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	12	15	18	7
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	9	29	12	2
Meyveli yoğurt plasebo grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	9	21	14	5
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	3	31	11	4

$p > 0.05$, unpaired t-test



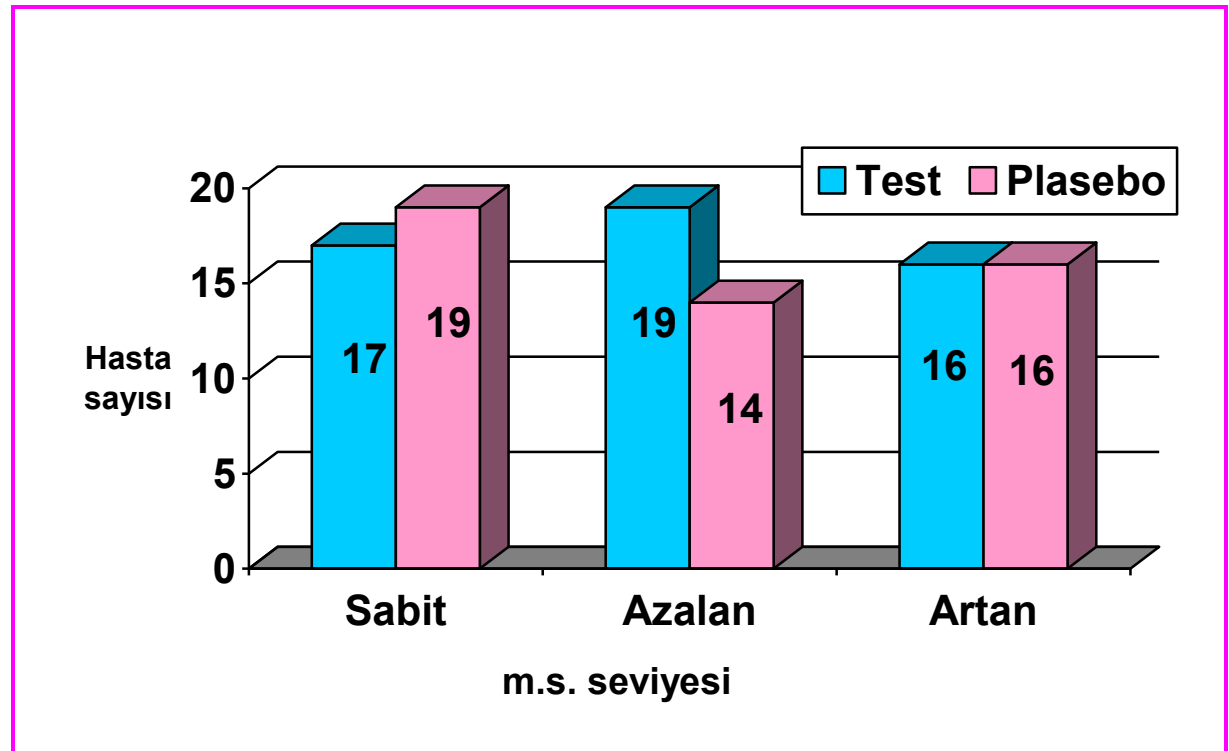
Şekil 4. 16 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 11 no'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde; m.s. seviyesi 17 çocuk hastada sabit kalırken, 19 çocuk hastada azalma, 16 çocuk hastada artış göstermiştir. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastanın 11 no'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde; 19 çocuk hastada m.s. seviyesi sabit kalırken, 14 çocuk hastada azalma ve 16 çocuk hastada artış görülmüştür. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. ($p:0,6770$) (Tablo 7, Şekil 5)

Tablo 7. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 11 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi

Zaman	m.s. sayısı cfu/ml			
	< 10 ⁴ cfu/ml	<10 ⁵ cfu/ml	10 ⁵ -10 ⁶ cfu/ml	>10 ⁶ cfu/ml
Probiyotik yoğurt test grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	7	15	20	10
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	7	17	24	4
Çilek meyveli yoğurt lasebo grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	4	20	20	5
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	4	20	21	4

* p< 0.05, unpaired t-test



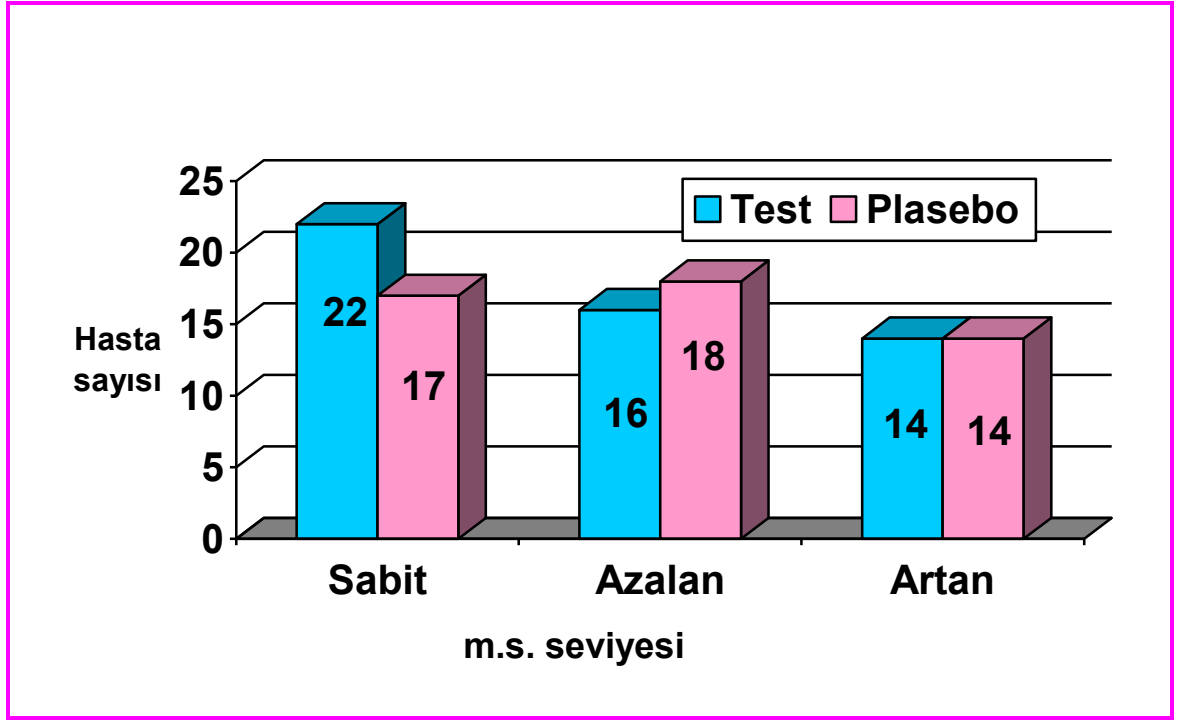
Şekil 5. 11 no.'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 36 no'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde; 22 çocuk hastada m.s. seviyesi sabit kalırken, 16 çocuk hastada azalma, 14 çocuk hastada artış gözlenmiştir. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastanın 36 no.'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde; 17 çocuk hastada m.s. seviyesi sabit kalırken, 18 çocuk hastada azalma ve 14 çocuk hastada artış görülmüştür. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. ($p:0,7153$) (Tablo 8, Şekil 6)

Tablo 8. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 36 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi

m.s. sayısı cfu/ml				
Zaman	< 10 ⁴ cfu/ml	<10 ⁵ cfu/ml	10 ⁵ -10 ⁶ cfu/ml	>10 ⁶ cfu/ml
Meyveli probiyotik yoğurt test grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	10	16	20	6
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	9	22	16	5
Meyveli yoğurt plasebo grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	12	19	11	7
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	9	20	14	6

$p > 0.05$, unpaired t-test



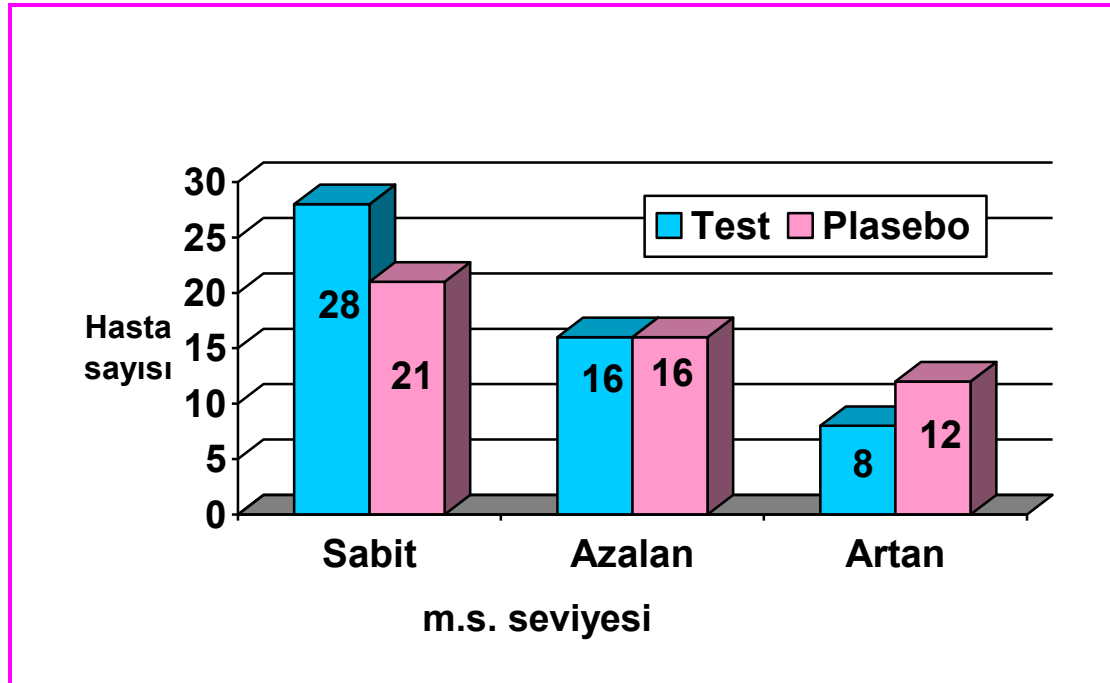
Şekil 6. 36 no.'lu dişte dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 31 no.'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde; 28 çocuk hastada m.s seviyesi sabit kalırken, 16 çocuk hastada azalma, 8 çocuk hastada artış görülmüştür. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastanın 31 no.'lu dişinden alınan dental plak örneklerinde; 21 çocuk hastada değerler sabit kalırken, 16 çocuk hastada azalma ve 12 çocuk hastada artış görülmüştür. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. ($p:0,4248$) (Tablo 9, Şekil 7)

Tablo 9. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında 31 no'lu dişten alınan dental plak örneğinde m.s. seviyesinin değişimi

Zaman	m.s. sayısı cfu/ml			
	< 10 ⁴ cfu/ml	<10 ⁵ cfu/ml	10 ⁵ -10 ⁶ cfu/ml	>10 ⁶ cfu/ml
Meyveli probiyotik yoğurt test grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	22	25	4	1
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	31	16	5	0
Meyveli yoğurt lasebo grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	28	17	3	1
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	33	12	3	1

p> 0.05, unpaired t-test



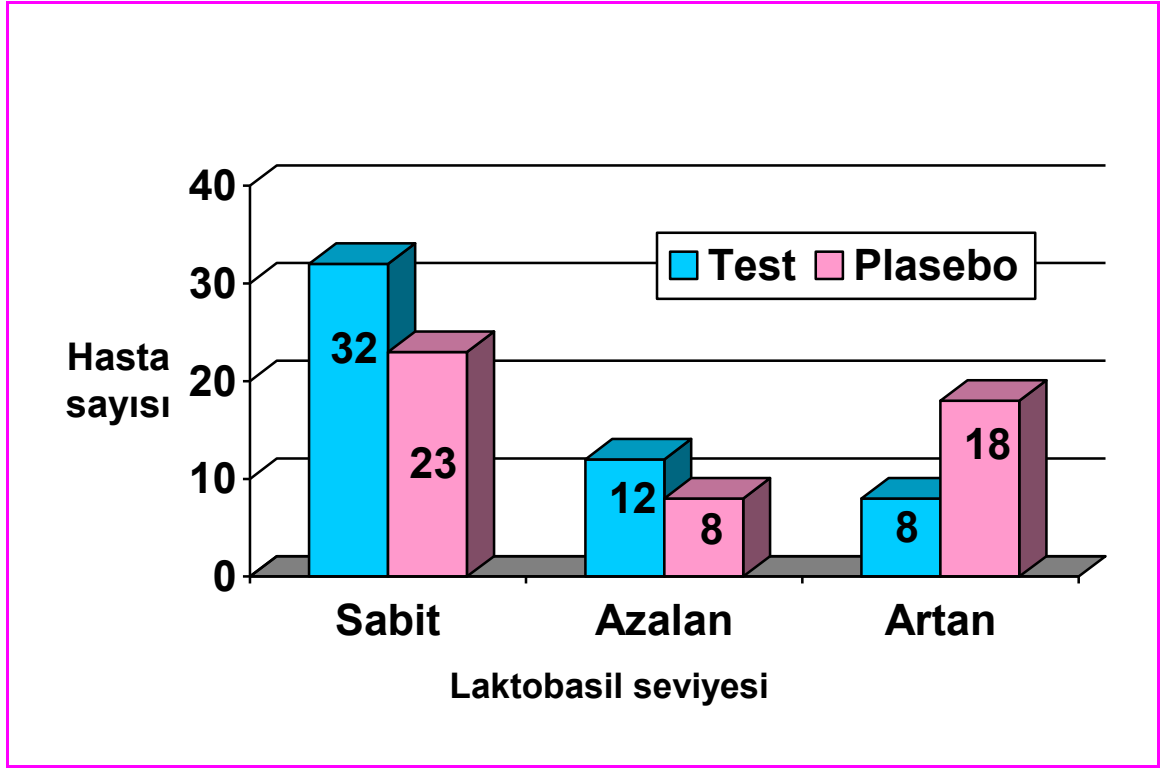
Şekil 7. 31 no.'lu dişte dental plak örneğinde m.s. seviyesindeki değişim

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastadan alınan tükürük örneklerinde laktobasil seviyesindeki değişimler incelendiğinde; 32 çocuk hastada laktobasil seviyesi sabit kalırken, 12 çocuk hastada azalma ve 8 çocuk hastada artış görülmüştür. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastadan alınan tükürük örneklerinde laktobasil seviyesindeki farklılıklar incelendiğinde; 23 çocuk hastada laktobasil seviyesi sabit kalırken, 8 çocuk hastada azalma ve 18 çocuk hastada artış görülmüştür. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından bir fark gözlenmiştir. ($p:0.0489$) (Tablo 10, Şekil 8)

Tablo 10. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında tükürükten alınan örneklerdeki LB seviyesindeki değişim

Lakobasil sayısı cfu ml				
Zaman	$< 10^4$ cfu/ml	$<10^5$ cfu/ml	10^5-10^6 cfu/ml	$>10^6$ cfu/ml
Meyveli probiyotik yoğurt test grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	20	14	15	3
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	23	12	16	1
Meyveli yoğurt plasebo grubu				
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	21	18	9	1
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	17	15	16	1

* $p < 0.05$, unpaired t-test



Şekil 8. Tükürükten alınan örneklerde laktobasil seviyesindeki değişim

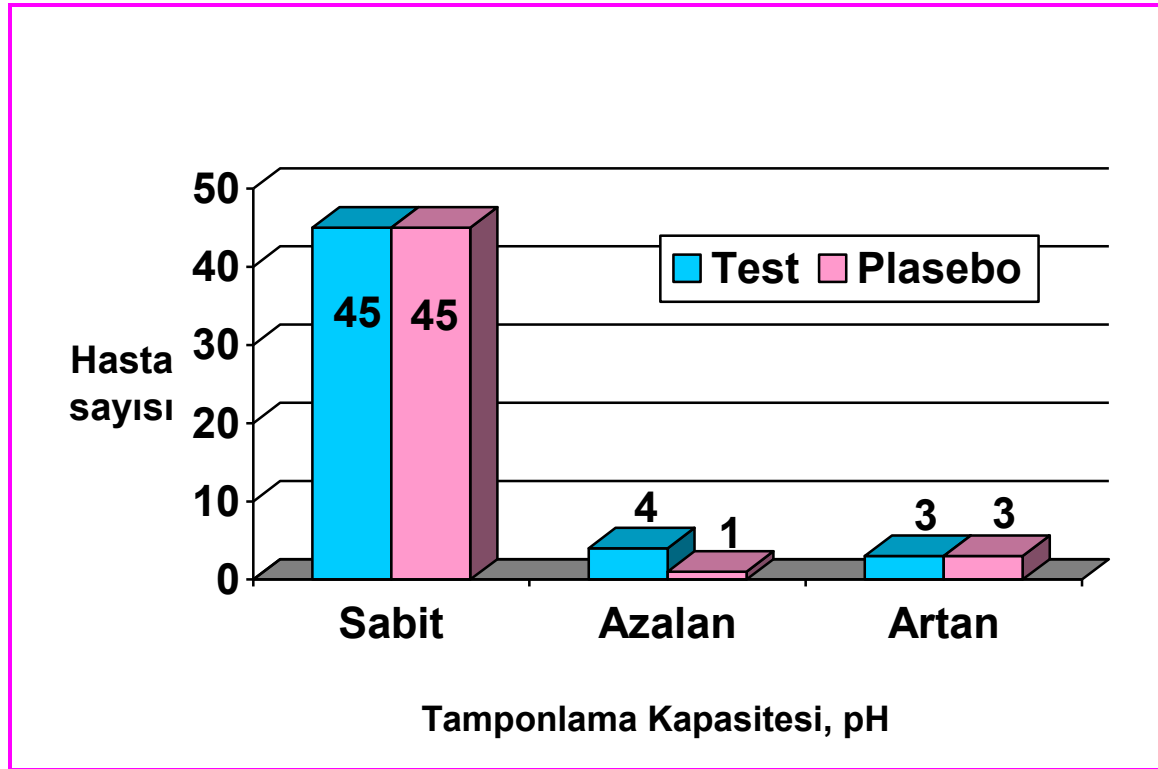
Çocuk hastalardan alınan tükürük örneklerinde tamponlama kapasitesi Dentobuff® kitlerin içerisinde bulunan indikatör çubuklar yardımıyla ölçülmüştür. İndikatör çubuklar üzerine tükürük örnekleri damlatıldıktan sonra indikatör üzerinde renk değişikliklerine bakılmıştır. Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastadan alınan tükürük örnekleri incelendiğinde; 45 çocuk hastada pH seviyesi sabit kalırken, 4 çocuk hastada azalma, 3 çocuk hastada artış görülmüştür. Meyveli yoğurdu düzenli şekilde tüketmiş olan 49 çocuk hastadan alınan tükürük örneklerinde; 45 çocuk hastada pH değerleri sabit kalırken 1 çocuk hastada azalma ve 3 çocuk hastada artış görülmüştür. Test ve plasebo grupları arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. (p:0.9999(test), p:0.625(plasebo)) (Tablo 11, Şekil 9)

Çalışmaya katılan çocuk hastalara ait yaş, cinsiyet dağılımları ve ağız içi hijyen indeksleri aşağıdaki tabloda ayrıntılı şekilde verilmiştir (Tablo 12). Çocuk hastaların meyveli yoğurt ve meyveli probiyotik yoğurt tüketimi öncesi ve sonrasında tükürük ve dental plaktan alınan örneklerdeki m.s., LB seviyeleri ve tükürük tamponlama kapasitesi (TK) değerleri aşağıdaki tablolarda ayrıntılı şekilde verilmiştir (Tablo 13, 14).

Tablo 11. Meyveli probiyotik yoğurt ve meyveli yoğurt kullanımı öncesi ve sonrasında tükürükten alınan örneklerdeki tamponlama kapasitesindeki pH değişimi

Zaman	Tamponlama kapasitesi,pH		
	pH 4.0 (düşük)	pH 4.5-5.5 (orta)	pH 6 (yüksek)
Meyveli probiyotik yoğurt test grubu			
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	3	0	49
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	4	0	48
Meyveli yoğurt lasebo grubu			
Başlangıç (tüketim öncesi) (N)	4	0	45
2 hafta sonra (tüketim sonrası) (N)	2	0	47

p>0.05 McNamar testi



Şekil 9. Tükürükten alınan örneklerde tamponlama kapasitesindeki değişim

Tablo 12. Çocuk hastaların yaş cinsiyet dağılımları ve ağız içi hijyen indeksleri

Hasta No.	Yaş	Cinsiyet	DMFT	DMFS	dft	dfs	PI	DI	OHI	GI
1	8	K	2	2	5	9	0,7	0	0,7	0,4
2	9	E	2	1	3	3	0,83	0	0,83	0,16
3	10	E	2	0	3	3	0,25	0	0,25	0,33
4	10	K	2	0	8	21	0,6	0	0,6	1,2
5	8	E	2	4	6	7	0,83	0,91	1,75	0
6	9	E	2	2	2	4	0	0	0	1
7	8	K	2	0	5	9	0,91	0,16	1,07	0,75
8	8	E	2	0	4	4	0,6	0	0,6	0
9	8	K	2	4	6	12	0,33	0,33	0,66	0
10	9	K	2	4	8	16	2	0	2	0
11	9	E	2	0	5	5	1,6	0	1,6	0
12	10	K	2	8	4	10	0	0	0	0,3
13	8	K	2	0	7	8	1,25	0	1,25	0,16
14	8	E	2	4	8	14	1	0,8	1,8	1,2
15	8	K	2	2	7	12	1	0	1	0
16	8	E	5	15	4	9	0,9	0,54	1,44	0,5
17	8	K	5	6	0	0	0,66	0	0,66	0
18	9	K	4	6	6	11	1	0	1	1,8
19	9	E	11	11	4	3	0,83	0	0,83	0
20	10	E	0	0	3	5	0,5	0	0,5	0
21	8	K	4	4	5	8	0,33	0,33	0,66	0
22	8	E	10	10	12	6	1,25	0	1,25	0,16
23	9	E	4	6	0	0	0,7	0	0,7	0,4
24	10	K	7	4	6	11	1,58	0	1,58	0,08
25	10	K	4	4	4	4	1,33	0	1,33	0
26	10	E	2	2	0	0	1	0	1	0
27	8	K	0	0	5	9	1,3	0	1,3	0
28	9	K	2	2	5	5	2	0	2	0
29	9	E	0	0	3	5	0,5	0	0,5	0
30	10	K	0	0	6	8	0,75	0	0,75	0
31	9	K	5	5	10	26	2	0,083	2,083	1,083
32	8	K	0	0	6	14	1	0	1	1
33	9	E	4	4	6	7	0,6	0	0,6	0,5
34	8	E	3	3	8	25	1	0	1	0
35	10	E	3	7	7	11	0,7	0	0,7	0,45
36	8	K	2	3	4	13	1,41	0	1,41	0,25
37	10	K	1	3	4	4	1,3	0	1,3	0
38	9	K	0	0	7	8	0,83	0	0,83	0
39	8	E	2	5	2	4	1,6	0	1,6	0
40	9	E	0	0	3	5	1,58	0	1,58	0,08
41	9	K	1	1	3	3	1	0	1	0
42	8	E	1	1	4	6	2	0	2	0
43	8	K	2	2	0	0	0	0	0	0,3
44	8	E	1	3	2	2	0,75	0	0,75	0
45	8	E	0	0	2	3	0,5	0	0,5	0
46	10	E	2	2	2	4	0,33	0,33	0,66	0
47	10	K	3	4	5	7	0,9	0,54	1,44	0,5
48	8	E	2	2	3	4	0,6	0	0,6	0,5
49	8	E	3	5	2	3	1,25	0	1,25	0,16
50	9	E	0	0	3	3	0,7	0	0,7	0,45
51	8	E	0	0	4	6	0,6	0	0,6	0,5
52	9	K	0	0	3	5	0,83	0	0,83	0
Ortalama			2,365	2,904	4,5	7,38	0,923269	0,07737	1,000827	0,27332692

Tablo 13. Çocuk hastaların meyveli robiyotik yoğurt tüketimi öncesi ve sonrası tükürük ve dental laktan alınan renklerdeki m.s., LB seviye ve tükürük tam onlama kapasitesi (TK) değerleri

Hasta No.	Tükürük MS		Dental plaktaki MS seviyesi								LB		TK	
	ilk	son	16		11		36		31		ilk	son	ilk	son
1	1	1	1	2	0	1	1	2	0	0	0	0	1	1
2	0	0	2	0	3	1	3	1	3	0	0	0	1	1
3	3	2	1	0	1	1	1	2	0	0	1	1	1	1
4	3	2	1	1	2	2	0	0	1	1	2	2	1	1
5	1	2	0	2	2	2	0	1	0	2	2	2	1	1
6	0	0	3	0	3	2	3	1	2	1	0	0	1	1
7	2	2	2	2	1	2	1	2	0	1	2	2	1	1
8	3	2	3	1	3	0	1	3	0	0	2	3	1	1
9	0	1	1	1	2	2	0	1	1	1	0	1	1	1
10	3	2	2	1	3	2	2	3	2	2	3	2	1	1
11	2	2	1	1	0	1	2	2	0	1	2	2	1	1
12	2	2	0	2	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1
13	2	2	1	3	3	3	2	3	1	2	2	0	1	0
14	1	2	0	1	1	2	1	1	1	0	2	2	1	1
15	1	2	1	1	2	0	2	1	0	0	2	2	1	1
16	2	1	1	1	1	2	1	0	1	0	1	0	1	1
17	1	0	2	1	2	1	2	1	1	0	2	2	1	1
18	1	1	2	2	1	1	2	2	0	0	2	0	1	1
19	1	1	2	1	2	0	1	1	0	0	1	0	1	1
20	2	1	0	2	1	2	1	2	0	1	0	2	1	1
21	3	3	2	2	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1
22	1	1	0	1	0	2	0	0	0	1	2	2	1	1
23	0	0	0	1	0	2	1	1	0	0	1	0	1	0
24	2	2	3	2	2	1	2	2	1	0	0	0	1	1
25	2	2	2	1	2	2	2	1	1	0	0	1	1	1
26	0	0	0	1	2	2	0	0	1	0	0	0	1	1
27	2	1	2	2	2	1	2	2	1	0	2	0	1	1
28	3	2	1	1	3	1	3	2	0	0	3	2	1	1
29	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1
30	2	1	2	1	3	0	1	1	0	0	1	2	1	1
31	2	1	2	1	1	2	1	0	1	0	0	0	1	1
32	2	2	3	1	2	1	2	1	1	1	1	0	1	1
33	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1
34	0	1	0	1	1	2	0	1	1	1	0	0	1	1
35	3	2	2	1	1	2	3	2	1	1	1	2	1	1
36	2	2	2	1	2	1	2	2	1	1	2	2	1	1
37	2	2	3	2	2	2	2	2	0	0	1	1	1	1
38	2	3	2	1	3	3	2	1	2	0	1	1	1	1
39	1	0	1	1	2	1	2	2	1	0	1	0	1	1
40	2	1	3	2	1	0	1	2	0	1	0	0	1	1
41	2	0	2	0	1	0	2	0	1	0	1	1	1	1
42	1	2	2	1	1	2	2	3	0	0	0	0	1	1
43	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0	1	1
44	0	0	1	0	2	2	0	0	1	1	0	0	1	1
45	1	2	2	1	2	1	0	1	1	0	0	1	1	1
46	2	1	0	1	0	2	1	1	0	0	3	2	1	1
47	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	0	0	1	1
48	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	1
49	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
50	2	2	3	3	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1
51	2	1	0	0	2	2	2	1	1	0	0	0	1	1
52	2	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1

Tablo 14. Çocuk hastaların meyveli yoğurt tüketimi öncesi ve sonrası tükürük ve dental plaktan alınan renklerdeki m.s., LB ve tükürük tam onlama kaşitesisi (TK) değerleri

Hasta No.	Tükürük MS		Dental plaktaki MS seviyesi								LB		TK	
	ilk	son	16		11		36		31		ilk	son	ilk	son
1	1	1	1	1	2	0	1	1	0	0	1	1	1	1
2	0	1	1	1	1	1	0	2	0	0	0	0	1	1
3	0	2	1	1	2	2	2	1	0	0	2	2	1	1
4	2	2	2	1	2	2	2	0	1	1	3	2	1	1
5	0	2	1	1	2	1	1	0	0	0	1	2	1	1
6	0	0	2	1	2	1	1	1	0	0	0	1	1	1
7	2	1	2	1	1	0	1	0	0	0	1	2	1	1
8	3	2	2	3	1	2	2	1	1	0	1	1	1	1
9	0	0	1	2	1	2	1	1	1	2	0	1	1	1
10	2	3	2	2	3	3	3	3	3	1	2	2	1	1
11	3	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	1	1
12	2	2	3	1	3	2	1	0	1	0	1	1	1	1
13	3	2	2	1	3	1	1	2	1	0	1	0	1	1
14	1	2	1	1	2	2	1	0	0	0	0	1	1	1
15	1	1	0	1	2	2	3	2	1	1	1	2	1	1
16	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
17	2	2	3	3	3	1	3	1	1	0	2	2	1	1
18	2	2	1	2	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
19	0	1	1	1	1	1	2	1	2	0	0	1	1	1
20	0	0	1	2	1	2	0	2	0	1	2	0	1	1
21	3	2	2	3	2	3	2	3	1	0	0	1	1	1
22	1	1	2	0	2	0	1	0	0	0	1	2	1	1
23	0	0	1	0	2	0	2	1	1	0	0	0	1	1
24	0	1	0	1	2	2	1	1	0	1	0	0	1	1
25	2	2	2	2	1	2	0	3	0	1	0	0	1	1
26	0	0	0	0	1	2	0	2	0	1	1	1	1	1
27	0	2	1	1	2	1	2	3	0	0	1	0	1	1
28	3	2	0	2	2	2	0	3	0	0	2	2	1	1
29	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1
30	1	1	1	1	2	2	0	2	0	0	2	1	1	1
31	2	2	0	1	2	2	1	1	0	1	0	0	1	1
32														
33	2	2	1	1	1	1	1	2	0	0	1	0	1	1
34	1	1	0	1	1	2	0	0	0	0	1	1	1	1
35														
36	2	1	0	1	3	2	1	1	1	0	2	2	0	0
37	2	3	3	1	1	1	3	2	1	0	1	2	0	1
38	2	2	3	2	2	3	3	1	2	0	0	1	1	1
39	2	0	3	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
40	1	1	2	1	1	1	3	1	2	0	0	0	1	1
41	2	3	1	1	0	3	0	3	0	2	2	3	1	1
42	2	1	1	2	1	2	3	2	0	0	0	1	1	1
43	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
44	0	1	2	1	2	2	2	2	1	3	0	0	1	1
45	2	2	2	3	2	1	0	2	0	2	0	2	1	1
46	2	2	1	1	1	2	2	2	1	0	0	2	1	1
47	2	1	1	2	1	2	0	2	0	1	0	0	1	1
48	3	2	1	1	2	1	1	1	0	1	2	2	1	1
49	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
50														
51	2	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
52	2	2	2	2	2	1	2	1	1	0	1	2	1	1

5. TARTIŞMA

5.1 Geçmiş Araştırmalar Işığında Çalışmamızın Amacı

İnsanlarda en sık rastlanan enfeksiyonlar oral enfeksiyonlardır. Diş yapısının korunması amacıyla diş hastalıklarına yol açan mikrobiyal ekolojinin değiştirilmesi olgusu son yıllarda çok önemli kazanmıştır. Modern moleküler teknoloji sayesinde erken mine demineralizasyonunda m.s.'in ve diş çürüğünün gelişiminde laktobasillerin etkili olduğu bildirilmiştir (81, 294). Son yıllarda, oral mikroflorada bulunan patojenik m.o.'lara karşı konağa yararlı probiyotik bakterilerin, ağız hastalıklarının ve diş çürüklerinin önlenmesinde ve tedavisinde kullanılması araştırılmaktadır.

Bakteriyoterapi, enfeksiyonlarla mücadelede konağa yararlı bakterilerin patojenik m.o.'larla yer değiştirmesine dayalı alternatif ve gelecek vadeden bir yöntemdir. Probiyotikler, iyileştirici etkilerinden dolayı çok yaygın olarak kullanılan ajanlardır.

Ishihara ve ark. 1985 yılında yaptıkları çalışmada, insan bağırsağında bulunan laktik asit bakterilerini(LAB) izole ederek , LAB'lerinin *S. mutans*'lar üzerinde inhibisyon etkisini ve diş çürüklerinin önlenmesi amacıyla kullanılmasını araştırmışlardır (145).

Meurman ve ark. 1995 yılında yaptıkları çalışmada, *LGG* kullanmış ve oral kavitede bulunan bakteriler üzerindeki etkilerini incelemişlerdir (72).

Busscher ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada *L. casei*, *L. acidophilus* ve *B.bifidum* probiyotik bakterilerinin ağız mikroflorası üzerine etkilerini ve mineye adezyonunu incelemişlerdir (73).

Nase ve ark. 2001 yılında çocuk hastalarda *LGG* içeren sütlerin diş çürükleri üzerine etkilerini ve çürük oluşturma riskini araştırmışlardır (74).

Ahola ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmalarında, genç erişkinlerde *LGG* ve *L. rhamnosus* L⁻70⁻ içeren peynirlerin kısa süre tüketimi sonrasında oral karyojenik mikroflora üzerine etkilerini incelemişlerdir (76).

Comelli ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmalarında; oral patojen bakterilerden m.s.'larla yer değiştirebilecek, daha az karyojenik özellikleri olan, daha az asit üretimi ve plak oluşturma yeteneğine sahip bakterilerin belirlenmesini amaçlamışlardır (295).

Nikawa ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada, *L.reuteri* içeren yoğurtların m.s.'lar üzerine inhibisyon etkisini araştırmışlardır (78).

Montalto ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada, 7 farklı probiyotik laktobasilin oral yolla alınmasının, tükürükteki laktobasil seviyesi üzerine etkilerini araştırmışlardır (296).

Kang ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada *W. cibaria*'nın oral dokulara adezyonunu incelemişlerdir.(208)

Çağlar ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada *B.biūdum* □N□17□010'un karyojenik bakteriler üzerine etkilerini incelemişlerdir (19).

Lima ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada, *L. casei Shirota* ve *L. acidophilus*'un oral dokulara adezyonunu incelemişlerdir (205).

Çağlar ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada, *L. reuteri* □□□□ □□7□0'un çürük yapıcı bakteriler üzerine etkilerini incelemişlerdir (81).

Krasse ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada, *L. reuteri* L□□1 ve L□□2'nin gingivitis tedavisindeki etkisini ve bu probiyotik bakterilerin, dental plağa ve tükürükte bulunan laktobasil popülasyonuna etkilerini incelemişlerdir (209).

Kang ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada, ağız kokusunun giderilmesi amacıyla *W. cibaria*'nın uçucu kükürt bileşenleri(VSC) üzerine etkilerini incelemişlerdir (190).

Burton ve ark. 2006 yılında yaptıkları in vivo çalışmada, *S. salivarius* 12'nin VSC üzerine etkilerini incelemişlerdir (14).

Yli-Knuutila ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada, LGG'nin ağızdaki kolonizasyonunu incelemişlerdir (202).

Hatakka ve ark. 2007 yılında yaptıkları in vivo çalışmada, LGG (1010), *L. rhamnosus* L70 ve *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* S'nin *C. albicans* üzerine etkilerini incelemişlerdir (84).

Çağlar ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalışmada, *L. reuteri* 170 ve *L. reuteri* 129'un m.s.lar ve laktobasil inhibisyonuna etkilerini incelemişlerdir (83).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışmada, *B. animalis subsp. lactis* N17010'un m.s.'lar ve laktobasil inhibisyonuna etkilerini incelemişlerdir (86).

Kil-Klais ve ark. 2008 yılında *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. salivarius* ve *L. rhamnosus* probiyotik bakterileri ile yaptıkları in vitro çalışmada, *C. a*, *C. gingivalis*, *C. intermedia* ve m.s. baskılanması üzerine etkilerini incelemişlerdir (297).

Çıldır ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada, *B. animalis subsp. lactis* N17010'un m.s.'lar ve laktobasil inhibisyonuna etkilerini incelemişlerdir (88).

Çağlar ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada, *L. reuteri* 170'un ağızda kolonizasyon süresini incelemişlerdir (89).

Stamatova ve ark. 2009 yılında yaptıkları in vitro çalışmada, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve LGG'nin tükürük ile kaplı yüzeylere yapışma özelliklerini incelemişlerdir (204).

Mayanagi ve ark. 2009 yılında, *L. salivarius* WB21'in sub/supragingival plak bakterileri üzerine etkilerini in vivo bir çalışma ile incelemişlerdir (207).

Staab ve ark. 2009 yılında *L. casei Shirota*'nın dişeti sağlığı ve gingivitis gelişiminin önlenmesi üzerine bir çalışma yapmışlardır (206).

Bu tezin yazımında bize ışık tutan yukarıda belirtilen çalışmalar, ağırlıklı olarak erişkin bireylerde üzerinde yapılmış klinik ve in vitro çalışmaları içermektedir. Bu noktada çocuk hastalar üzerine yapılan probiyotik çalışmalarının azlığı dikkat çekmektedir. Bu nedenle bu çalışmada, *B. bifidum* DN-173010'un çocuklarda karışık dişlenme döneminde dental plaktaki ve tükürükteki karyojenik bakteriler üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

5.2 Gereç ve Yöntemin Tartışılması

Son yıllarda probiyotikler üzerine yapılan araştırmalarda; probiyotiklerin beklenen etkinliklerinin artırılmasına yönelik değişik gereç ve yöntemler uygulanmıştır. Bu noktada yeni geliştirilecek gereç ve yöntemlerin önemine dikkat çekilmektedir.

Busscher ve ark. 1999 yılında, yaş ortalaması 26.9 olan 7 kız, 7 erkek toplam 14 denek üzerinde yaptıkları çalışmada; deneklerin, 1 hafta boyunca kahvaltı ve akşam yemeklerinden sonra olacak şekilde günde 2 kez 100 ml yoğurt tüketmelerini sağlamış ve laktobasillerin diş yüzeylerine tutunmasını incelemişlerdir (73).

Nase ve ark. 2001 yılında, yaşları 1 ile 6 arasında değişen 594 sağlıklı çocuk hasta ile yaptıkları randomize, çift kör, placebo kontrollü çalışmada; çocuk hastaların günde 3 kez ve haftada 5 gün olacak şekilde 7 ay boyunca *LGG* içeren süt tüketmelerini sağlamış ve çalışma sonucunda dental plaktaki ve tükürükteki m.s. ve laktobasil seviyelerini incelemişlerdir (74).

Ahola ve ark. 2002 yılında yaptıkları randomize çift-kör plasebo kontrollü çalışmalarında; yaşları 18 ile 35 arasında değişen 74 genç erişkin hastaya günde 5 kez olmak kaydıyla 15 gr probiyotik peyniri 3 hafta boyunca kullandırmışlardır. Çalışma süresince tükürükte m.s. ve laktobasil seviyeleri ile birlikte tükürük tamponlama kapasitesi ve uyarılmış tükürük akış miktarı incelenmiştir (76).

Comelli ve ark. 2002 yılında yaptıkları in vitro çalışmada, 23 süt kaynaklı ve 5 oral kaynaklı bakteri suşu kullanmışlardır. Çalışmada diş yüzeyine benzer hidroksiapatit bir yapı üzerine 23 süt kaynaklı bakterilerin adezyonu araştırılmıştır. Çalışmanın 2. bölümünde 23 süt kaynaklı bakteri suşuna ek olarak 5 ağız kaynaklı bakteri suşunun olduğu in vitro şartlarda supragingival plak görevi gören bir biyofilm üzerine olan adezyonu incelenmiştir (295).

Nikawa ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmalarında, yaşları 20 olan 40 sağlıklı bayan deneğin 2 hafta boyunca her gün öğle yemeği saatlerinde *L. reuteri* S□2112 (□□□□□7□0) içeren yoğurtları tüketmelerini sağlamış ve probiyotik yoğurt tüketimi öncesi ve sonrasındaki oral m.s. seviyelerindeki değişimi incelemişlerdir (78).

Montalto ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada; 35 sağlıklı deneği, 3 gruba ayırarak kapsül ve sıvı formda *L. sporogens*, *L. biūdum*, *L. bulgaricus*, *L. termophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *LGG* oral yolla vermişlerdir. Çalışma süresince tükürükteki laktobasil ve *S. mutans* seviyeleri incelenmiştir (296).

Çağlar ve ark. 2005 yılında, yaşları 21 ile 24 arasında değişen 26 denek ile gerçekleştirdikleri çift kör, randomize, cross over çalışmada; *B. biūdum* □N□7□010 içeren yoğurtları 2 hafta boyunca tüketmelerini sağlamışlardır. Çalışma sonucunda *B. biūdum* □N□7□010'un tükürük m.s. ve laktobasil seviyeleri üzerine etkileri incelenmiştir (80).

Çağlar ve ark. 2006 yılında, yaşları 21 ile 24 arasında değişen 120 sağlıklı genç erişkin denek üzerinde yaptıkları randomize, plasebo kontrollü çalışmada; *LGG* □□□□□7□0 içeren pipetler ve pastiller kullanılarak tükürük m.s. ve laktobasil seviyesindeki değişimler araştırılmıştır (81).

Krasse ve ark. 2006 yılında yaptıkları çift-kör, plasebo kontrollü, randomize prospektif çalışmada 59 sağlıklı (30 bayan, 29 erkek) denek, 14 gün boyunca sabah ve akşam olmak üzere diş fırçalama yapıldıktan sonra *L. reuteri* L□□1 ve L□□2 içeren sakızları çiğnemişlerdir. Çalışma sonucunda probiyotik sakızların; gingivitis, plak ve tükürükteki laktobasil seviyelerine etkilerini incelemişlerdir (209).

Yli-Knutilla ve ark. 2006 yılında 43 kadın ve 13 erkekten oluşan (yaş ort. 25.8 10.5) 56 denek üzerinde yaptıkları çalışmada, deneklerin 14 gün boyunca günde 3 defa

olacak şekilde *LGG* içeren meyve suları tüketmeleri sağlanmış ve probiyotik meyve sularının tüketimi kesildikten sonra *LGG*'nin ağızdaki kolonizasyonu ve ne kadar süreye ağızda kalabildiği araştırılmıştır (202).

Çağlar ve ark. 2007 yılında yaşları 21 ile 24 arasında değişen 44 kadın, 36 erkek toplam 80 sağlıklı genç erişkin denek üzerinde yaptıkları randomize, plasebo kontrollü çalışmada; 3 hafta boyunca günde 3 kez olmak kaydıyla *L. reuteri* □□□□ □□7□0 ve *L. reuteri* □□□□ □□□ □2□9 içeren sakız, ksilitollü sakız ve kombine kullanımlarının çiğnenmesi sağlanmış ve tükürük m.s. ve laktobasil üzerine etkileri incelenmiştir (83).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaşları 20 olan potansiyel anne adayları konumundaki yüksek çürük risk grubunda bulunan 20 sağlıklı kadın denek üzerinde yaptıkları randomize, çift kör, plasebo kontrollü çalışmada; *L. reuteri* □□□□ □□7□0/*L. reuteri* □□□□ □□□ □2□9 içeren pastillerin yerleştirildiği emzikler, deneklere 10 gün boyunca 15'er dakika boyunca kullanılmış ve yüksek tükürük m.s. seviyesi yüksek olan potansiyel anne adayları deneklerde tükürük m.s. ve laktobasil seviyesine etkileri incelenmiştir (85).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir diğer randomize, çift-kör çalışmada; yaşları ortalaması 20 olan 24 sağlıklı denekler 10 gün boyunca düzenli olarak her gün *Biñidobacterium lactis* Bb-12 içeren dondurma tüketmişlerdir. Çağlar ve ark. çalışma sonucunda *Biñidobacterium lactis* Bb-12 içeren dondurmaların kısa süreli tüketiminin tükürük m.s. ve laktobasil seviyelerine etkilerini incelemişlerdir (86).

Çıldır ve ark. 2009 yılında yaptıkları çift kör, randomize, cross over çalışmaya; 18 kız ve 8 erkekten oluşan, yaşları 12 ile 16 arasında değişen (yaş ort. 14 ± 1.2) ve 3 ay boyunca sabit bimaxiller ortodontik aparat kullanacak olan 26 sağlıklı genç deneği davet etmişlerdir. Çalışmada denekler her gün *B. animalis subsp. lactis* □N□17□010 içeren yoğurtları akşam yemeklerinde tüketmeleri tavsiye edilmiş ve probiyotik yoğurdun tüketilmesinden 1 saat sonrasına kadar diş fırçalanmasına izin verilmemiştir. Çıldır ve ark. bu çalışmada, kısa süreli probiyotik yoğurt tüketiminin sabit ortodontik aparat kullanan hastalarda tükürük m.s ve laktobasil seviyelerine etkilerini incelemişlerdir (88).

Çağlar ve ark. 2009 yılında, yaşları 21 ile 22 arasında değişen 14 kadın, 11 erkekten oluşan 25 sağlıklı genç erişkin denek ile yaptıkları çalışmalarında; *L. reuteri* içeren çiğnenebilen tabletler, 2 hafta boyunca her gün öğle saatlerinde denekler tarafından tüketilmiş ve tükürük örnekleri toplanmıştır. Örnek toplama işlemi, tükürük örneklerinde *L. reuteri* saptandığı sürece her gün devam etmiştir. Çalışmada, *L. reuteri* içeren tabletlerin tüketimi kesildikten sonra probiyotik bakterinin ne kadar süreyle ağızda kolonize olabildiği araştırılmıştır (89).

Mayanagi ve ark. 2009 yılında, yaşları 32 ile 61 arasında değişen 58 erkek ve 9 kadından oluşan 67 denek ile yapılan randomize, çift kör, plasebo kontrollü çalışmada; 8 hafta boyunca her gün günde 3 defa *L. salivarius* WB21 ve ksilitol içeren tablet tüketmeleri sağlanmıştır. Supra/subgingival plak örnekleri toplanmış ve 5 periodontal patojen (*P. a*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *P. denticola* ve *P. orsythia*) üzerine etkileri incelenmiştir (207).

Staab ve ark. 2009 yılında yaş ortalamaları 24.4 ± 1.9 olan 50 sağlıklı denek üzerinde yaptıkları paralel, kör olmayan çalışmada; 8 hafta boyunca *L. casei* Shirota içeren sütler günlük olarak tüketilmiştir. Plasebo grubu oluşturulmamıştır. Test grubu günde 1 kez probiyotik süt tüketirken kontrol gruba herhangi bir içecek verilmemiştir. Dişeti kanama indeksi, interproksimal indeks ve Turesky plak indeksi başlangıçta, 8 hafta sonra ve gingivitis oluşuktan 96 saat sonra ölçülmüştür. Staab ve ark. bu çalışmada probiyotik sütün dişeti sağlığı ve deneysel gingivitis üzerine etkileri araştırılmıştır (206).

Çalışmamıza dental tedavileri bitmiş 8–10 yaşları arasında 60 çocuk hasta ile başlanmıştır fakat hastalık nedeniyle veya düzenli yoğurt tüketimi yapamadıkları için 8 hasta çalışmadan çıkarılmıştır. Test grubu toplam 52 (25 kız, 27 erkek) denekten oluşmaktadır. Her hasta, test ve kontrol grubu olarak 2 farklı yoğurt tüketmişlerdir. Test grubu *B. bifidum* içeren meyveli probiyotik yoğurdu 2 hafta süresince düzenli olarak tüketmişlerdir.

Kontrol grubundaki denekler ise meyveli yoğurt tüketmişlerdir. Test grubunda bulunan 3 hasta (1 kız 2 erkek) çalışmaya devam etmek istemediği için kontrol grubu 49 hastadan oluşmaktadır. Çalışmanın başlangıcında yoğurtların düzenli kullanımı ve diş fırçalamanın

kolay takip edilebilmesi amacıyla hasta adına düzenlenmiş bir çizelge verilmiştir. Hastalara diş fırçalama ve ağız hijyen eğitimi verilmiş ve tedavi süresince bunun uygulanıp uygulanmadığı düzenli olarak kontrol edilmiştir.

Bu çalışmada çilek meyveli yoğurt; yüksek tamponlama kapasitesi, erozyona neden olmaması ve düşük karyojenik potansiyeli nedeniyle probiyotik bakterileri için taşıyıcı ajan olarak tercih edilmiştir (298, 299, 300).

5.2.1 Günümüzde Probiyotiklerin Kullanımı

Günümüzde probiyotiklerin kullanımında dikkat edilmesi gereken en önemli kriterler arasında; hedef probiyotik ajanın seçimi, uygun suşların dozajı, uygun hasta gruplarında belirlenmesi ve probiyotik ajanın ne kadar süreyle kullanıldığı yer almaktadır.

5.2.2 Bakteri Suşları ve Etki Mekanizmaları

Probiyotik olarak sınıflanabilecek çok sayıda değişik organizma bulunmaktadır. En genel probiyotik ailesi Lactobacillus ve Bifidobacterium'dur. Dişhekimliğinde laktobasiller üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Laktobasil ailesi içinde *L.acidophilus*, *L. Öohnsonii*, *L.casei*, *L.rhamnosus*, *Lgasseri* ve *L. reuteri* bulunmaktadır. Bununla birlikte dişhekimliği alanında bifidobakteriumlar üzerine daha az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bifidobacterium ailesi içerisinde *B.biÖdum*, *B.longum* ve *B.inÖantis* bulunmaktadır.

Ishihara ve ark. 1985 yılında yaptıkları in vitro çalışmayla *E. Öaecium*, *S. eÖuinus*, *L. Öermentum* ve *L. salivarius* gibi birçok probiyotik bakterinin *S. mutans* üzerinde inhibisyon etkisi olduğunu bildirmişlerdir. *L. Öermentum*, fenotipik olarak *L. reuteri*'ye benzemekle birlikte in vitro şartlarda *S. mutans* üzerinde inhibisyon etkisi olduğunu bildirmişlerdir (129).

Silva ve ark. 1987 yılında yaptıkları çalışmada *LGG*'nin çürük bağlantılı m.o.'ların gelişiminin engellenmesinde etkili bileşikler oluşturduklarını bildirmişlerdir (210).

Meurman ve ark. 1995 yılında yaptıkları çalışmada LGG'nin, pH 5'in altında *S. sobrinus* üzerinde inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar LGG'nin sü krozu fermente etmediğini ve bu nedenle çürük oluşumunu engellediğini bildirmişlerdir (72).

Busscher ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada *L. acidophilus* , *L. casei* ve *B.bifidum*'un in vitro olarak mine yüzeyine adezyonunu ve in vivo olarak oral kavitede tutunmalarını araştırmışlardır. İn vitro çalışma sonucunda suşların mine çatlaklarına pelikül olsun veya olmasın tutunabildiklerini göstermiştir. İn vivo çalışma sonucunda oral kaviterinde laktobasil bulunmayan deneklerin probiyotik yoğurdu tüketmeleri sonucunda tükürük peroksidaz sistemi veya retansiyon alanlarının bulunmaması nedeniyle laktobasil yüklemesinin gerçekleşmediği bildirilmiştir (73).

Nase ve ark. 2001 yılında yaptıkları çalışmada LGG içeren süt tüketen çocuklarda çürük oluşumu üzerine etkileri araştırmışlardır. Araştırmacılar LGG'nin antikaryojenik etkisinin plaktaki Ca miktarını arttırması ile meydana geldiğini; bununla birlikte LGG'nin diğer ağız m.o.'ları ile antimikrobiyal yapılar oluşturarak yarışma gösterdiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte LGG'nin sü krozu ve laktoz fermente edememesi nedeniyle çürük oluşumuna engel olduğu bildirilmektedir (74).

Ahola ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada, LGG ve *L. rhamnosus* L70 içeren peynirlerin tüketimi sonrasında karyojenik flora üzerindeki kısa süreli etkisini ve ilerleyen süre içindeki etkilerini incelemeyi amaçlamışlardır. Bu nedenle ağızda sü te göre daha uzun süre ağızda kalabilen peynir kullanmışlardır. LGG, pH 5'te *S. sobrinus* üzerinde inhibitör etki göstermiş ve LGG sü krozu fermente edemediği için çürük oluşumunu engellemiştir (76).

Comelli ve ark. 2002 yılında yaptıkları in vitro çalışmada 23 süt kaynaklı ve 5 oral kaynaklı bakteri suşunun (*S. thermophilus* N22, N1971, N200, N20, N210, N21, N2172, *S. thermophilus* N129, N1, N1, N1, N1, N17, *S. macedonicus* N219, *L. lactis ssp. cremoris* N92, N192, *L. lactis ssp. diacetylactis* N1970, N207, N222, N2272, *L. lactis ssp. lactis* N222, N222, N22, *Lactoc. lactis ssp. lactis* N2211, *S. sobrinus* 17, *S.*

oralis (2007), *Actinomyces naeslundii* (2007), *Veillonella dispar* (2009) ve *L. nucleatum* (2009) diş minesine benzer özelliklere sahip HA dokuya ve supragingival plak görevi gören bir biyofilm tabakasına adezyonunu incelemişlerdir. Çalışma sonucunda süt kaynaklı bakterilerin diş benzeri yüzeylere yapışabildiği ve oral kavitede bulunan bakterilerin özellikle *S. sobrinus*'un adezyonunu engellediği bildirilmiştir (295).

Wei ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmalarında; *LGG*'nin tükürükle kaplı HA yapı üzerine yapışarak *S. mutans*'ların adezyonunu engellediğini ve böylece anti-karyojenik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda ağız içerisinde probiyotik etkinin görülebilmesi için probiyotik bakterilerin oral yüzeylere yapışması ve biyofilmin bir parçası olması gerektiğini bildirmişlerdir (301).

Nikawa ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada *L. reuteri* içeren yoğurtların m.s. üzerinde inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Gelişen diş yapılarının Ca ve P metabolizmasına ve alımına bağlı faktörlerden etkilendiğini, sütün içerdiği yapılar ile mine üzerinde koruyucu etkiler meydana getirdiğini ve süt ürünleri içerisinde bulunan Ca laktatın, antikaryojenik etki gösterdiğini bildirilmiştir (78).

Kang ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada *W. cibaria*'nın *L. nucleatum*'a bağlanma ve epitel hücrelerine yapışma özelliklerini incelemişlerdir. *W. cibaria*'nın etkili şekilde *L. nucleatum*'a bağlandığını ve epitel hücrelerine yapışabildiğini bildirmişlerdir. *W. cibaria*'nın potansiyel bir probiyotik olduğunu ve oral mikrofloranın patojenlerden korunmasında etkili olabileceği bildirilmiştir (208).

Çağlar ve ark. tarafından 2005 yılında yapılan çalışmada *B. bifidum* DN-173 010 probiyotik içeren yoğurtlar kullanılmış ve tükürük m.s. seviyesinde azalma görüldüğü bildirilmiştir. Bu azalmanın probiyotik bakteri ile m.s. arasındaki yarışmacı inhibisyon sonucu olduğu bildirilmiştir (80).

Lima ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada *L. casei* Shirota ile *L. acidophilus*'un yapay çürük modelleri üzerine adezyonunu in vitro şartlarda incelemişlerdir. *L. casei* Shirota'nın mide özsuyna karşı *L. acidophilus*'tan 1500 kat daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Bununla birlikte *L. casei Shirota* 'nın çürük dentin üzerine bağlanması *L. acidophilus* 'tan daha düşük olduğunu bildirmiştir (205).

Çağlar ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada *L. reuteri* ATCC 55730 içeren pastillerin 3 hafta boyunca günde bir adet çiğnenmesi sonucunda ağızdaki karyojenik mikrofloranın gelişiminin engellendiğini ve bu etkinin oral biyofilmi ile tabletin direkt teması sonucunda görüldüğünü bildirmişlerdir. Araştırmalar, ağızda probiyotik etkinin oluşabilmesi için probiyotik bakterilerin oral yüzeylere yapışması ve biyofilmin bir parçası olması gerektiğini bildirmişlerdir. Probiyotikler oral dokular ve biyofilm ile direkt temasta olduklarından dolayı streptokoklarla yarışa girerek inhibisyon etkisi gösterebilirler (81).

Krasse ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada *L. reuteri* LR-1 ve LR-2'nin gingivitis tedavisinde etkili olabileceğini bildirmişlerdir. *L. reuteri* 'nin, antimikrobiyal bir yapı olan reuterin salgıladığını ve bu salgının bir çok patojen bakteri üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak patojen bakterinin konak dokuya bağlanmasını engellediğini ve böylece gingivitis tedavisinde etkili olabildiğini bildirmişlerdir (209).

Yli-Knuutilla ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışma sonucunda *LGG*'nin oral kavitede kolayca kolonize olamadığını ve probiyotik etkinin görülebilmesi için probiyotik bakterinin oral mukozaya uzun süreli adezyonunun gerektiğini ve bunun için probiyotik alımının devamlılığının gerekli olduğunu bildirmiştir (202).

Çağlar ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalışmada *L. reuteri* ATCC 55730 ve ATCC PTA 5289 içeren probiyotik ve ksilitollü sakızların, tükürük m.s. ve laktobasilleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda probiyotik bakterilerin patojenik bakterilerin hücrel adezyonunu engellediğini, lokal ve sistemik immün cevabın oluşturulmasında ve düzenlenmesinde etkili olduğunu bildirmişlerdir (83).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışmada multistrain probiyotik olan *L. reuteri* ATCC 55730/ *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içeren pastiller kullanmışlardır. Birden fazla probiyotik bakteriyi içeren pastillerin birarada kullanımı sonucunda oluşturdukları

sinerjik etki ile yüksek çürük risk grubunda olan potansiyel anne adaylarının tükürük m.sm seviyelerinde belirgin azalma meydana getirdikleri bildirilmiştir (85).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada; *Bifidobacterium lactis* Bb-12 içeren dondurma tüketimi sonrasında tükürük m.s. ve laktobasil seviyesini incelemişler ve tükürük m.s. seviyesinde belirgin azalma tespit etmişlerdir. Bifidobakterlerin oral kavitede etkisinin, kesin olmamakla birlikte lokal ve sistemik immün cevabın birlikte oluşması sonucu meydana gelebileceğini ve bu etkinin mukozal immün savunma ve makrofaj aktivitesinin artmasıyla sağlandığını bildirmişlerdir. Bifidobakterlerin oral kavitede asidojen karakter gösterdiğini ve derin dentin çürüklerinde daha etkili olabileceğini bildirmişlerdir (86).

Çıldır ve ark. 2009 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada; sabit ortodontik aparey kullanan çocuk hastalarda *B. animalis subsp. lactis* DN-173010 içeren yoğurtların tüketimi sonrasında tükürük m.s. ve laktobasil seviyelerindeki değişimi incelemişlerdir. Çalışma sonucunda ortodontik braketlerin *S.mutans*'larla bifidobakterlerin bakteriyel yer değiştirmesine uygun alan oluşturacağı bildirilmiştir. Bu lokal olayın, in vitro şartlarda bifidobakterlerin tükürükte canlı kalabildiği ve HA'ya bağlanabildiğini gösteren çalışmalarla açıklanabileceği bildirilmiştir (88).

Stamatova ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmalarında *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *LGG*'nin in vitro şartlarda tükürük kaplı yüzeylere adezyonu incelemişlerdir. Tükürük ile kaplı yüzeyler iyi bağlanabilen probiyotik bakterilerin ağız içerisinde daha iyi kolonize olabileceğini bildirmişlerdir. M.o.'ların tükürükle kaplı yüzeylere adezyonunda lektin-karbonhidrat ve lektin dışı etkileşimi ile meydana geldiği bildirilmiştir. Bağlanmanın sadece hidrofobik etkileşimle değil, spesifik adezin-reseptör karşılıklı etkileşimi ile meydana geldiği bildirilmiştir. Araştırmacılar m.o.'ların tükürükle kaplı mikrotiter wells yüzeylere bağlanmasında hücre yüzeyi hidrofobisitesi ile pozitif ilişki tespit etmemişler ve m.o.'ların tükürükle kaplı HA yüzeylere bağlanmasıyla hidrofobisite arasında yakın ilişki olduğunu bildirmişlerdir (204).

Mayanagi ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada *L. salivarius* WB21 ve ksilitol içeren tabletleri kullanmışlar ve supra/subgingival plaktaki bakteriyel popülasyon üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Laktobasillerin antimikrobiyal yapılar üreterek ve mukozal

immüneyi uyararak antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Laktobasillerin, hidrojen peroksit, laktik asit, biyosurfaktanlar ve bakterisin gibi küçük antimikrobiyal peptitler salgıladığını bildirmişlerdir. Ayrıca laktobasillerin mukozal immün sistemi uyaran iltihabi ve antiinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda probiyotik bakterilerin oral kavitede yararlı etkilerinin, dental plaktaki m.o.'larla direkt etkileşim sonucu ve doğal veya kazanılmış bağışıklık sistemini uyarmasıyla meydana geldiğini bildirmişlerdir (207).

Staab ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmalarında *L. casei Shirota* içeren sütleri kullanmışlar ve dişeti sağlığı ve deneysel olarak oluşturulan giniğivitis üzerine etkilerini incelemişlerdir. Probiyotik bakterilerin, dental plağa bağlı oluşan dişeti iltihabı üzerine etkilerinin immün sistemi uyarması sonucu olabileceğini bildirmişlerdir (206).

Çağlar ve ark. 2009 yılında yaptığı çalışmada, *L. reuteri* ATCC 55730 içeren tabletlerin tüketimi kesildikten sonra ne kadar süreyle ağızda kolonize olabildiğini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda ağızlarında *L.reuteri* taşıyan bireylerin sayısında yavaş yavaş azalma meydana geldiğini ve 1 hafta sonra hastaların sadece 8'inde hala mevcut olduğunu ve 5. haftada hiçbir hastanın ağızında *L.reuteri*'ye rastlanmadığını bildirmişlerdir. *L.reuteri*'nin 2 hafta düzenli olarak oral yolla alımının probiyotik bakterilerin oral kavitede kolonize olması için yeterli olmadığını bildirilmiştir. Ayrıca bir bakterinin ağız içerisinde probiyotik etkiler gösterebilmesi için ağız içi yüzeylere yapışabilmesi ve biyofilmin bir parçası olması gerekmediğini geçmiş çalışmalarını referans ederek ispatlamışlardır (89).

Çalışmamızda probiyotik bakteri olarak kullanmış olduğumuz *B.bifidum* DN-173 010' un ağızda kolonizasyonu ile ilgili herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız bu konudaki açığı kapatmak amacıyla hem tükürük hem de dental plakta gerçekleştirilmiştir.

5.2.3 Probiyotik A anların Seçimi

Probiyotiklerin oral yoldan uygulanmasında bir çok yol bulunmaktadır. Belirtilen bu yollar 2.4.2.1’de ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Probiyotik süt ürünlerinin yapım işlemleri de probiyotik bakterilerin sayısında ve etkinliğinde rol oynamaktadır. Yoğurt en temel probiyotik besin olarak tanımlanabilir. (19) Uzun süredir yoğurt mayalarının probiyotik etkinlikleri tartışılmasına rağmen yoğurtlar, probiyotiklerin taşınmasında en yaygın araçtır (204). LGG içeren biyoyoğurdu günlük olarak tüketen hastalardan alınan tükürük örneklerinde yoğurt tüketiminin sona erdirilmesini takiben 2 hafta boyunca probiyotik bakterilerin kolonize olabildiği bildirilmiştir (72). LGG içeren içeren süt tüketiminin, LGG içermeyen sütleri tüketimine göre çürük oluşma riskini belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir. LGG ’nin, sükrozu fermente edemediği birçok çalışmalar bildirilmiştir (98, 154) Sükroz çürükler için baş suçlu (arch criminal) olarak tanımlanmış ve fermentasyon yapmayan bakterilerin, bu nedenle plakta yaşamayacakları bildirilmiştir.(72) Bunun sonucu olarak çocukların diş sağlığı üzerinde uzun süre *LGG* içeren süt tüketiminin yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir.(74)

Ayrıca geçmiş araştırmalarda; **Busscher ve ark.**, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *B. biīdum* ; **Nikawa ve ark.** *L. reuteri* SD2112 (ATCC55730); **Çağlar ve ark.** ve **Çıldır ve ark.** *B. biīdum* DN-173 010 içeren yoğurtları kullanmışlardır.(73, 78, 80, 88)

Nase ve ark. *LGG* ATCC 53103; **Staab ve ark.** *L. casei* *Shirota* içeren sütleri kullanmışlardır.(74)

Ahola ve ark. *LGG* ATCC 53103 içeren peynir kullanmışlardır.(76)

Krasse ve ark. *L. reuteri* LR-1 ve LR-2; **Çağlar ve ark.** *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içeren sakızlar kullanmışlardır.(83,209)

Çağlar ve ark. *L. reuteri* ATCC 55730 içeren pipet kullanmışlardır (81).

Çağlar ve ark. *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içeren pastiller kullanmışlardır (85).

Yli-Knutilla ve ark. LGG içeren meyve sularını kullanmışlardır.(202)

Hatakka ve ark. LGG ATCC 53103, *L. rhamnosus* LC 705, *Bifidobacterium breve* 99, *Propionibacterium freudenreichii ssp shermanii* S içeren jelatin kapsülleri kullanmışlardır.(84)

Çağlar ve ark. *Bifidobacterium lactis* Bb-12 içeren dondurma kullanmışlardır.(86).

Çağlar ve ark. *L. reuteri* ATCC 55730; **Mayanagi ve ark.** *L. salivarius* WB21 içeren çiğnenebilir tabletleri kullanmışlardır.(81, 89, 207)

5.2.4 Dozaj

Günümüzde birçok tipte probiyotik bakteri ve uygulanma şekilleri bulunmaktadır. Bununla ilgili tek bir uygulama şekli kesin olarak tavsiye edilememektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda oral olarak doz başına $1-10 \times 10^{6-10}$ cfu/ml kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Dozaj, tedavi veya profilaksi amacına göre farklılık gösterebilmektedir. (302)

Terapötik-pediyatrik doz olarak hekimler, ortalama çocuk kilosuna göre yetişkin dozunun yarısı olarak, bebeklerde ise bu dozun 1/3'ü olarak uygulamaktadırlar. Doza bağlı reaksiyon gelişimi çok az görülmekle birlikte bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Probiyotik formülasyonunda artmış doz uygulanımı bazı durumlarda daha etkili tutunma, kolonizasyon ve artmış etkinlik göstermektedir. Genel olarak belirli bir pediyatrik doz bulunmamasıyla birlikte yetişkinlerde veya çocuklarda herhangi bir toksikasyon bildirilmemiştir.

Busscher ve ark. kahvaltı ve akşam yemeğinden sonra 100 ml 1 hafta boyunca *L. acidophilus* MV-1, *L. casei* MV-2 ve *B. bifidum* içeren biyoyogurtları kullanmışlardır (73).

Nase ve ark. 7 ay boyunca haftada 5 gün olacak şekilde LGG ATCC 53103 dozunu 5×10^5 cfu/ml ve günlük süt alım miktarını 200 ml olarak belirlemişlerdir (74).

Ahola ve ark. 3 hafta boyunca günde 5 x 15 gr olacak şekilde *LGG* ATCC 53103 probiyotik bakteri dozunu $1,9 \times 10^7$ cfu/g ve *L. rhamnosus* LC 705 probiyotik bakteri dozunu $1,2 \times 10^7$ cfu/g olarak belirlemişlerdir.(76)

Nikawa ve ark. 2 hafta boyunca *L. reuteri* SD2112 ATCC 55730 içeren yoğurt tüketim miktarını 1 kup (95g) ve probiyotik bakteri dozunu 10^8 cfu/ml olarak belirlemişlerdir.(78)

Çağlar ve ark. *B. bifidum* DN-173010 içeren yoğurt içerisinde bulunan probiyotik bakteri dozunu 7×10^7 cfu/g olarak belirlemişlerdir.(80)

Krasse ve ark. *L. reuteri* LR-1 ve LR-2 kullandıkları çalışmalarında probiyotik bakteri günlük dozunu 2×10^8 cfu olarak belirlemişlerdir.(209)

Çağlar ve ark. *L. reuteri* ATCC 55730 içeren pipetlerde probiyotik bakteri dozunu 10^8 cfu/pipet ve *L. reuteri* ATCC 55730 içeren tabletlerdeki probiyotik bakteri dozunu 10^8 cfu/tablet olarak belirlemişlerdir. Pipetler 200 ml su ile birlikte kullanılmıştır.(81)

Yli-Knutilla ve ark. *LGG* içeren meyve sularındaki probiyotik bakteri dozunu 5×10^6 cfu/ml olarak belirtmişlerdir. Probiyotik meyve suyu miktarını 2 hafta boyunca günde 3 x 200 ml olarak belirtmişlerdir.(202)

Hatakka ve ark. *LGG* ATCC 53103, *L. rhamnosus* LC 705; *B. breve* 99; *L. reuteri* ATCC 55730 içeren jelatin kapsüllerin içerdiği probiyotik bakteri dozunu her bakteri suşu için $8-9 \times 10^9$ cfu/kapsül olarak belirtmişler ve kapsüllerin tüketim süresini 24 hafta olarak bildirmişlerdir.(84)

Çağlar ve ark. *L. reuteri* ATCC 55730 ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içeren sakızlar kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan probiyotik sakızlar içerisindeki *L. reuteri* ATCC 55730 dozunu 10^8 cfu/sakız ve *L. reuteri* ATCC PTA 5289 dozunu 10^8 cfu/sakız olarak bildirmişlerdir.(83)

Çağlar ve ark. *L. reuteri* ATCC 55730/ *L. reuteri* ATCC PTA 5289 içeren probiyotik pastilleri özel hazırlanmış emzikler içerisine yerleştirmişlerdir. Pastil tabletler içerisindeki probiyotik bakteri dozu 10^8 cfu/tablet olarak belirtilmiştir ve probiyotik pastiller 10 gün boyunca 15'er dk. kullanılmıştır.(85)

Çağlar ve ark. *Bifidobacterium lactis* Bb-12 içeren probiyotik dondurmalarla yaptıkları çalışmada, probiyotik bakteri dozunu 10^7 cfu/gram olarak belirlemiş ve probiyotik içeren dondurmaların 10 gün boyunca düzenli olarak kullandırmışlardır. (86)

Çıldır ve ark. *B. animalis subsp. lactis* DN-173010 içeren çilek meyveli yoğurtları kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan yoğurtların içerisindeki probiyotik bakteri dozu 2×10^8 cfu/g olarak bildirilmiştir.Çalışmada deneklerin, 2 hafta boyunca günlük 200 g probiyotik yoğurt tükettikleri bildirilmiştir.(88)

Çağlar ve ark. 14 gün boyunca *L. reuteri* ATCC 55730 içeren çiğnenebilir tabletler kullanmışlardır. Taletler içerisindeki probiyotik bakteri dozu 10^8 cfu/tablet olarak belirtilmiştir. (89)

Mayanagi ve ark. 8 hafta boyunca *L. salivarius* B21 ve ksilitol içeren tabletler kullanmışlardır. Tabletler içerisindeki probiyotik bakteri dozu 2.1×10^9 cfu/gün olarak bildirilmiştir.(207)

Çalışmamızda, üretici firma tarafından taze olarak hazırlanmış çilek meyveli yoğurtlar içerisine probiyotik ajan olarak *B. bifidum* DN-173 010 katılarak verilmiştir. Günlük yoğurt tüketimi 110 mg ve probiyotik bakteri dozu 10^{10} cfu/gr olarak belirlenmiş ve uygulanmıştır. Hastalar günlük yoğurt tüketimlerini diş fırçalamasından sonra saat 10.00'da günde bir kup olacak şekilde 2 haftalık periyotlar halinde yapmışlardır. Hastaların velilerine taze olarak teslim edilen yoğurtlar çalışma periyotları boyunca üretici firmanın direktifler doğrultusunda soğuk ortamda saklanmıştır. Çalışma süresince herhangi bir alerjik reaksiyon veya kontreandikasyon görülmemiştir.

5.2.5 Hasta Grupları

Çocukların hangi çürük risk grubunu, ailelerin gelir düzeyleri, sosyal statüleri, sağlık durumları, oral hijyen alışkanlıkları, dolgulu veya çürük dişlerin sayısı, oral bölgede kolonize olmuş m.s., laktobasil sayısı ve tükürük tamponlama kapasite gibi faktörler belirler.(Hausen ve ark. 1996) Probiyotiklerle yapılan klinik araştırmaların büyük bir bölümünde erişkin hastalar denek olarak tercih edilmiştir. (73, 76, 78, 80, 81, 83, 85, 86, 89, 202, 207, 297)

Çocuk hastalar üzerine yapılan sadece 2 araştırma bulunmaktadır:

Nase ve ark. 2001 yılında yaşları 1 ile 6 arasında değişen süt dişlenme dönemindeki 594 çocuk hasta üzerinde araştırma yapmışlardır.(74)

Çıldır ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada yaşları 12-16 arasında değişen (yaş ort. 14 ± 1.2) 18 kız, 8 erkek toplam 26 çocuk hastanın daimi dişlenme döneminde araştırma yapmışlardır. (88)

Bu çalışma, yaşları 8 ile 10 arasında değişen 25 kız ve 27 erkek toplam 52 çocuk hastanın karışık dişlenme dönemi üzerinde yapılmıştır.

5.2.6 Güvenlik

Günlük süt ürünlerinde probiyotiklerin kullanımının artması ile son yıllarda probiyotiklerin güvenliği özel ilgi alanı olmuştur. Güvenlik açısından incelendiğinde probiyotik m.o.'ların; patojenik olmamaları, diyareye neden olan bakterilerin artışına neden olmamaları ve antibiyotiklere karşı direnç gelişmesine neden olan genlerin transferinde etkili olmamaları gerekmektedir. Probiyotikler oral mikrobiyotada genetik stabilite göstermelidirler.

Probiyotik ürünler GI sistemde ve vajinal florada bulunan bakterilerle benzer yapıda oldukları için genel olarak güvenli kabul edilmektedirler.

Probiyotikler canlı m.o. oldukları için konak canlıda enfeksiyonlara neden olabilirler. Probiyotiklerin yaygın olarak tüketildiği ülkelerde yapılan geniş çaplı epidemiyolojik araştırmalar sonucunda probiyotiklerin 0.05 ile 0.4 arasında oldukça düşük düzeyde

sistemik enfeksiyona neden oldukları bildirilmiştir. Rapor edilen enfeksiyonların da bağışıklık sistem problemi olan yetişkinlerde görüldüğü bildirilmiştir. (146)

Burton ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada probiyotik bakteri olarak *S. salivarius* K12'yi kullanmış ve deneklerde her hangi bir yan etki gözlenmediğini bildirmişlerdir. Çalışmada, *S. salivarius* K12'nin biyokimyasal analiziyle birlikte antibiyogram yapıldığı, virülan gen profilinin çıkartıldığı ve *S. salivarius* K12'nin tüketimi sonrasında tükürükteki mikrobiyal kompozisyonun incelendiği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda *S. salivarius* K12'nin çok düşük düzeyde patojenik potansiyele sahip olduğu ve sağlıklı kişilerde hastalıklara neden olabileceği bildirilmiştir.(14)

K II-Klais ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışmada bazı oral laktobasil suşlarının oral patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite gibi konağa yararlı probiyotik etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu yararlı etkiler fakültatif heterofermente *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* ve homofermente *L. salivarius* suşlardan elde edilmiştir. Aynı zamanda *L. plantarum*'un diğer laktobasil suşlarının doğal antimikrobiyal etkilerinden farklı etki gösterdiğini bu nedenle güvenli olarak kabul edilemeyeceğini bildirmişlerdir (297).

Bebeklerde ve çocuklarda probiyotik kullanımına bağlı olarak meydana gelen enfeksiyon gelişimi çok nadirdir (146). Bugüne kadar laktobasil içeren probiyotik kullanımı sonucunda herhangi bir GI hastalık veya bağışıklık sistem bozukluğu olmayan bir bebek ve bir çocuk hasta bakteriyemi vakası bildirilmiştir. Her iki hastanın da karmalık tıbbi hikayesi ve santral venöz kateter (CVC) yolu ile uzun süreli antibiyotik tedavisi gördüğü bildirilmiştir.(144) Aynı şekilde sadece 2 yetişkin hastada laktobasil içeren probiyotik ürün kullanımı sonrasında laktobasil bağlantılı sistemik enfeksiyon bildirilmiştir.

Bu çalışmada çalışma süresince ve sonrasında yapılan takiplerde herhangi alerjik bir reaksiyon veya enfeksiyon riski oluşturabilecek herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

5.3 Bulguların Tartışılması

Ishihara ve ark. 1985 yılında yaptıkları çalışmanın sonucunda laktik asit bakterilerin salgıladıkları ürünler, aynı serotipe sahip *S.mutans*'lar üzerinde inhibitör etki gösterdiklerini ve tükürükte buldukları süre içerisinde bu etkilerini kaybetmediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, salgılanan bu ürünlerin güçlü etkinlikleri ve insanlarda güvenle kullanılabilmesi nedeniyle diş çürüklerinin önlenmesinde yararlı olabileceğini bildirilmişlerdir.

Silva ve ark. 1987 yılında yaptıkları çalışma sonucunda *LGG*'nin çürük yapıcı m.o.'ların büyümesini engelleyen ürünler salgılamakta olduğunu bildirmişlerdir (210).

Meurman ve ark. 1995 yılında yaptıkları çalışma sonucunda *LGG*'nin streptokoklar dahil birçok farklı bakteri türünü etkilediğini bildirmişlerdir. *LGG*'nin oral streptokoklar üzerindeki inhibitör etkilerini zayıf bulmuşlardır (72).

Busscher ve ark. 1999 yılında yaptıkları araştırma sonucunda probiyotik yoğurtların tüketimi sonucunda laktobasillerin diş yüzeyinde tutunmasının gerçekleşmediğini bildirmişlerdir (73).

Nase ve ark. 2001 yılında yaptıkları çalışmalarında *LGG* içeren süt tüketen grupta daha az diş çürüğü meydana geldiğini ve m.s. seviyesinin daha az olduğunu bildirmişlerdir. 3-4 yaşındaki çocuklarda, diğer yaş gruplarına göre daha belirgin farklar gözlendiğini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda *LGG* içeren sütlerin çocukların dental sağlığında yararlı etki gösterdiğini bildirmişlerdir (74).

Ahola ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada *S.mutans* seviyesinde azalma eğilimi olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını belirtmişlerdir (76).

Comelli ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışma sonucunda araştırmada kullandıkları probiyotik bakterilerin, diş benzeri yüzeylere yapışabildiğini ve özellikle *S.sobrinus* gibi karyojenik oral bakterilerin kolonizasyonu düzenlediğini bildirmişlerdir (295).

Nikawa ve ark.'nın 2004 yılında yaptıkları çalışmalarında *L. reuteri* içeren yoğurtların kullanımı sonucunda *S. mutans* üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu ve diş çürüğü riskinin azaltılmasında yardımcı olabileceğini bildirilmişlerdir (78).

Kang ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada izole ettikleri 3 *W. cibaria* suşunun □ *nucleatum* ile kuvvetli şekilde birleşebildiğini ve epitel hücrelerine etkili şekilde yapışabildiğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak *W. cibaria* suşlarının biraraya gelebilmesinde ve yapışabilmesinde S tabakasında bulunan proteinleri gibi farklı protein yapılarının rol oynadığını bildirmişlerdir. *W. cibaria* suşlarının, oral patojenlere karşı oral floranın düzenlenmesinde yardımcı olabilecek bu özelliklerinin probiyotiklerin yararlarından biri olduğu bildirmişlerdir (208).

Çağlar ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışma sonucunda *B. bifidum* DN-173 010 içeren yoğurtların günlük tüketiminin tükürükte bulunan m.s. seviyesinin azaltılmasında etkili olabileceği bildirmişlerdir (80).

Lima ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışma sonucunda *L. casei Shirota*'nın yapay diş çürüğünde tespit edilmesi sonucunda diş çürüğü ile bağlantılı olabileceği bildirilmiştir. Buna karşılık *L. casei Shirota*'nın diş çürüğünün ilerlemesinde mi etkili olduğu veya patojenik m.o.'larla yarışarak diş çürüğünün gelişimini engellediği konusunda ayırımın tam yapılamadığını bildirmişlerdir (205).

Çağlar ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmalarında laktobasil içeren pipet ve pastil şeklinde hazırlanmış günlük tüketilen probiyotikler kullanmışlardır. Çalışma sonucunda tükürükteki m.s. seviyesinde düşüş gözlenmişlerdir. Araştırmalar, düzenli probiyotik tüketimi sonucunda tükürükte bulunan patojen m.s.lar seviyesinde azalma görülebileceğini bildirmişlerdir (81).

Krasse ve ark. 2006 yılında *L. reuteri* LR-1 ve LR-2 kullandıkları çalışmalarında plağa bağlı gingivitisin azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. 14 günlük kullanım sonucunda *L. reuteri* LR-2'nin daha iyi kolonize olabildiğini bildirmişlerdir. Bu sonuç, aynı zamanda in vitro deneylerle elde edilen sonuçlarla da paralellik göstermektedir. Krasse ve ark. her iki laktobasil suşunun da ağız sağlığını olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. *L. reuteri*'nin

gingivitis ve dental plak üzerindeki olası etkisinin 3 farklı yolla olabileceğini bildirmişlerdir. Bunlardan ilki *L.reuteri*'nin, reuterin gibi antimikrobiyal etki gösteren ve geniş spektrumda patojen bakterileri etkili bir şekilde inhibe eden ürünler salgılaması, bir diğer etki mekanizmasının patojen bakterilerin konak dokuya yapışmasını engellemesi, ve son olarak sitokinleri inhibe edip antiinflamatuvar etki göstererek gingivitis oluşumuna neden olan dişeti üzerindeki patojen m.o. direkt ve indirekt etki göstermesi olduğunu bildirmiştir (209).

Yli-Knutilla ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada *LGG*'nin ağız içerisinde kolayca kolonize olamadığını ve oral dokularda kolonizasyonunun geçici olduğunu bildirmişlerdir. Buna ek olarak, *LGG*'nin ağızda sürekli kolonizasyonu için düzenli *LGG* yüklemesinin yapılması gerektiğini ve bunun mümkün olduğunu bildirmişlerdir (202).

Çağlar ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalışmada probiyotikli sakızların tüketimiyle diş çürüğüne neden olan tükürük m.s.'lar ve laktobasil sayısında azalma görülmesini amaçlamışlar ve günlük probiyotikli sakız tüketiminin, tükürük m.s. seviyesinde azalma meydana getirdiğini bildirilmişlerdir (83).

Hatakka ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalışmada probiyotik bakterilerin, oral kandida görülme sıklığını azalttığını ve herhangi bir yan etki görülmeden tedavi veya profilaksi amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda probiyotiklerin hiposalivasyon riskini azalttığını ve böylece ağız sağlığına yararlı etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (84).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada günlük probiyotikli pastillerin tüketimi ile tükürük m.s.'lar ve laktobasil seviyesinde düşüş görüldüğünü bildirilmişlerdir (85).

Çağlar ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir başka çalışmada *Bifidobacterium lactis* Bb-12 içeren probiyotik dondurmaların kısa süreli tüketimi sonucunda tükürük m.s. seviyesinde azalma görüldüğü, tükürük laktobasil seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmediğini bildirilmişlerdir (86).

K II-Klais ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışma sonucunda fakültatif heterofermente *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, ve homofermente *L. salivarius* suşlarının antimikrobiyal özellikleri ile ağız sağlığına yararlı etkiler gösterdiklerini bildirmişlerdir (297).

Çıldır ve ark. 2009 yılı içerisinde yaptıkları bir çalışmada *B. animalis subsp. lactis* DN-173010 içeren probiyotik yoğurtların tüketimi sonrasında tükürük m.s.'lar ve laktobasil seviyesinde değişimi incelenmişlerdir. Çalışmanın sonucunda probiyotik yoğurtların günlük tüketimi ile m.s.'ların tükürükteki seviyesinde azalma görüldüğünü bildirmişlerdir (88).

Çağlar ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışma sonucunda *L. reuteri* ATCC 55730'nin 2 hafta kullanımının daimi kolonizasyon için yeterli olmadığı bildirmişlerdir (89).

Stamatova ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışma sonucunda probiyotiklerin istenen en önemli özelliklerinden birisinin patojen bakterilerle konak dokuya yapışmada yarışma göstermesi olduğunu bildirmişlerdir. Laktobasillerin *S. sanguinis*'in adezyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında; tükürükteki reseptörlerin *S. sanguinis* ve laktobasiller için farklı olduğunu, bu nedenle probiyotik laktobasillerin streptokok adezyonunu engelleyemediğini bildirmişlerdir (204).

Mayanagi ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmalarında *L. salivarius* B21 içeren tabletlerin kullanımının periodontal hastalıkların önlenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte periodontitisin tedavisinde profesyonel tedaviye ek olarak *L. salivarius* B21 kullanılmasının etkili bir yaklaşım olacağını bildirmişlerdir (207).

Staab ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada *L. casei Shirota* içeren sütlerin düzenli olarak tüketiminin plağa bağlı dişeti iltihaplarında bağışıklık sistemini düzenleyici etki gösterdiğini ve periodontal sağlık üzerinde yararlı etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (206).

Bu çalışmanın başlangıcında ve sonunda alınan tükürük örnekleri m.s. seviyesi açısından karşılaştırıldığında; meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın m.s. seviyesi; 23'ünde sabit kalırken, 19'unda azalma, 10'unda ise artış göstermiştir. Kontrol grubundaki 49 çocuk hastanın m.s. seviyesi; 26'sında sabit kalırken, 11'inde azalma,

12'sinde artış göstermiştir. Probiyotik meyveli yoğurt tüketimi sonucu m.s. seviyesi daha fazla düşme eğilimi gösterse de istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Bu çalışmada çocuk hastaların ağız içinde üst ve alt çene çapraz olarak daimi birinci büyük azı ve daimi birinci kesici dişleri dental plak toplanması için seçilmiştir. Çocuk hastaların oral mikrobiyel ekolojisi değişim içerisinde olduğundan, bu noktada toplu plak alınması düşünülmemiştir; 4 değişik noktada probiyotiklerin etkileri ve m.s düzeyi incelenmesi amaçlanmıştır.

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 16 no'lu dişinden alınan dental plak örneklerinde m.s. seviyesi incelendiğinde; 17'sinde sabit kalırken, 23'ünde azalma, 12'sinde artış tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki 49 çocuk hastanın 16 no.'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde ise 19'u sabit kalırken, 13'ünde azalma, 17'sinde artış görülmüştür. Bu noktada istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmese de; meyveli probiyotik tüketimi sonucunda 16 no'lu dişlerden alınan plak örneklerinde m.s seviyesinde gözle görülür bir düşüş yaşanmıştır.

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 11 no'lu dişinden alınan dental plak örneklerinde m.s. seviyesi incelendiğinde; 17'sinde sabit kalırken, 19'ünde azalma, 16'sında artış tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki 49 çocuk hastanın 11 no.'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde ise 19'u sabit kalırken, 14'ünde azalma, 16'sinde artış görülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 36 no'lu dişinden alınan dental plak örneklerinde m.s. seviyesi incelendiğinde; 22'sinde sabit kalırken, 16'sında azalma, 14'ünde artış tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki 49 çocuk hastanın 36 no.'lu dişinden alınan dental plak örnekleri incelendiğinde ise 17'si sabit kalırken, 18'inde azalma, 14'ünde artış görülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastanın 31 no'lu dışından alınan dental plak örneklerinde m.s. seviyesi incelendiğinde; 28'inde sabit kalırken, 16'sında azalma, 8'inde artış tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki 49 çocuk hastanın 31 no.'lu dışından alınan dental plak örnekleri incelendiğinde ise 21'i sabit kalırken, 16'sında azalma, 12'sinde artış görülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel anlamlılık açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bu noktada deneklerin ağızlarının dört bölgesinden alınan dental plak örneklerinde m.s seviyelerinde dalgalanmalar gözlenmektedir. Bu durumun daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla in vitro ve kanıta dayalı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Meyveli probiyotik yoğurt tüketen 52 çocuk hastadan alınan tükürük örneklerinde laktobasil seviyesindeki değişimler incelendiğinde; 32'sinde sabit kalırken, 12'sinde azalma, 8'inde artış görülmüştür. Kontrol grubunda ise 49 çocuk hastadan alınan tükürük örneklerinde laktobasil seviyesi incelendiğinde; 23'ünde sabit kalırken, 8'inde azalma, 18'inde artış görülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel anlamlılık açısından fark gözlenmiştir. Bu noktada test grubunda daha fazla denekte m.s seviyesi sabit kalırken, kontrol grubunda m.s seviyesinde artış olan denek sayısı artmıştır. Kısaca *B.bifidum* DN-173 010'un yoğurtların tükürük laktobasil seviyesindeki artışa engel olduğu belirtilebilir.

Çalışma sonucunda tükürük ve plaktaki m.s. seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamasının nedenlerinden birisi seçilen probiyotik bakteri türünün, çocuklarda stabil olmayan ve devamlı yarışçı m.o.'ların yer değiştirdiği bir dönemde, karyojenik mikrofloraya etkisinin olmaması olabilir. Seçilen hasta grubu ve çalışma süresi boyunca hastalarla ve aileleri ile kurulan kooperasyon sonucunda çalışma düzeninde herhangi bir açık nokta bulunmadığını düşünmekteyiz.

Bu araştırmanın sonuçları dikkate alındığında elde edilen sonuçlar erişkin hastalarda yapılan araştırmalara göre daha karmaşık veriler içermektedir. Bu noktada hasta popülasyonumuzun karmaşık dişlenme dönemindeki çocuklar olmasının büyük bir etken olduğunu düşünmekteyiz. Erişkin hastalarda probiyotiklerin tükürük m.s ve laktobasil seviyeleri üzerine etkileri belirli bir denge içerisinde oturmuş bir oral ekosistem üzerine kurulurken; çocuklarda bu durumun bu şekilde gelişmediği ve tükürükte çürük yapıcı m.o seviyelerinde değişik dalgalanmalar yarattığı gözlenmiştir.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak ağızda diş çürüklerinin primer etkeni olan m.s.'lar ve laktobasillerin bakteriyoterapi ile probiyotik bakterilerle yer değiştirilmesi sonucunda tükürükteki patojen bakterilerin düzeyinde bir değişim sağlanmaktadır. Böylece ağız sağlığının geliştirilmesi ve çürük sayısında azalma sağlanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda her periyodun başlangıcında ve sonunda toplanan plak ve tükürük örneklerinde m.s. ve laktobasil seviyelerindeki değişimler incelenmiştir. Bu çalışmadaki amacımız çocuk hastalarda *B. biūdum* DN-173 010'un dental plaktaki ve tükürükteki m.s. ve laktobasiller üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Hastalardan elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında karyojenik bakterilerin sayılarında belirgin azalmalar görülmekle birlikte sabit kalan değerler de elde edilmiştir. Aynı zamanda tükürükten alınan örnekler incelendiğinde *B. biūdum* DN-173 010'un laktobasiller üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çocuklar üzerine probiyotiklerin, dental plaktaki etkilerin incelendiği bir çalışmanın bulunmaması; buna ek olarak *B. biūdum* DN-173 010'un karyojenik bakteriler üzerine etkilerinin tam bilinmemesi nedeniyle çalışmamız gelecekte bu konuda yapılacak araştırmalara bir temel niteliği taşımaktadır. Bu konuyla ilgili ileride yapılacak çalışmalar sonucunda probiyotik bakterilerin dental plakla etkileşimi ve etki mekanizmaları daha iyi anlaşılacaktır.

Sonuç olarak;

- i) Çalışmamız, çocuk hastalarda karışık dişlenme dönemine ait, dental plak ve tükürükte probiyotik bakterilerin karyojenik bakteriler üzerine etkilerini inceleyen ilk ve tek çalışmadır.
- ii) *B. biūdum* DN-173 010'un dental plakta bulunan m.s.'ların üzerine etkileri incelendiğinde m.s. düzeyinde azalmalar gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamıştır.
- iii) *B. biūdum* DN-173 010'un tükürükte bulunan m.s.'lar üzerine etkileri incelendiğinde m.s. düzeyinde azalmalar gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamıştır.

- iv) *B. bifidum* DN-173 010'un laktobasiller üzerine etkileri incelendiğinde tükürük laktobasil seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir.
- v) *B. bifidum* DN-173 010'un tükürük tamponlama kapasitesi üzerine etkileri incelendiğinde, tamponlama kapasitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim yaratmamıştır.

Bu konuyla ilgili araştırmaların sayısının çok az olması nedeniyle ileride bu konuda yapılacak çalışmalar probiyotik bakterilerin ağızda bulunan karyojenik bakteriler üzerine etkilerini daha net ortaya koyacaktır.

I.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
İLAÇ ARAŞTIRMALARI YEREL ETİK KURULU
(ADRES)

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	
	PROTOKOL ADI	Bifidobacterium bifidum DN-173 010 içeren probiotik meyveli yoğurt tüketen çocuklarda, dental plaktaki ve tükürükteki ağız-dış sağlığı ile ilgili bakterilerin değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Sorumlu Araştırma Görevlisi Onur SERGER'in
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Yeditepe Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	DESTEKLEYİCİ FIRMA	
	FAZİ	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal <input type="checkbox"/> Çok Merkez Uluslar arası

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Değişiklik No.su	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	OLGU RAPOR FORMU			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 01	Tarih:11.03.2008
	Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı hekimlerinden Onur SERGER'in sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çok merkezli araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve Kurulumuz kararının sorumlu araştırmacı tarafından koordinatör merkeze / Sağlık Bakanlığı Etik Kuruluna arzına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KLAVUZU
---------------	--------------------------------

ÜYELER

Ünvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Özcan GÖKÇE Başkan	Genel Cerrahi	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sedat ÇÖLOĞLU	Patoloji	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr. Muzaffer DEĞERTEKİN	Kardiyoloji	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Faik ALTINTAŞ	Ortopedi ve Travmatoloji	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Saffet BABÜR	Felsefe	Yeditepe Üniversitesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Gündüz BAYIRLI	Diş	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Latif ÖZBAY	Eczacılık	Yeditepe Üniversitesi	Bay	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Nilgün MUTLU	Biyokimya-Klinik Biyokimya	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi	Bayan	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr. Gülay ÖZGÖN	Klinik Farmakolog	Memorial Hastanesi	Bayan	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Leyla GÖÇMEN			Bayan	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
				<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

7. KAYNAKLAR

1. Gorbach SL. Probiotics in the third millennium. *Dig Liver Dis*, 34: 2–7, 2002.
2. 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.
3. Olmez S, Turgut MD. Diş çürüğünün önlenmesinde Pre-, ve Probiyotikler. *Katkı Pediatri Dergi*, 26 (Özel sayı): 309-314, 2004.
4. Beers MH, Berkow R. Infectious diseases: antibacterial drugs. In: *The Merck Manual*, 17th ed. Merck Res Lab, Whitehouse Station,1101–1127,1999.
5. Meurman JH. Probiotics do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci*, 113: 188–196, 2005.
6. Huovinen P. Bacteriotherapy: The time has come. *Br Med J*, 323: 353–354, 2001.
7. Carson CF, Riley TV. Non-antibiotic therapies for infectious diseases. *Commun Dis Intell*, 27: 143–146, 2003.
8. Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol*, 37: 42–47, 2003.
9. Famularo G, Mosca L, Minisola G, Trinchieri V, De Simone C. Probiotic lactobacilli: a new perspective for the treatment of inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Des*, 9: 1973–1980, 2003.
10. Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol*, 2: 27–42, 2001.
11. Van Winkelhoff AJ, Herrera GD, Winkel EG, DelleMijn-Kippuw N, Vandenbroucke Grauls CM, Sanz M. Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol*, 27: 79–86, 2000.
12. Guidance document the use of probiotic microorganisms in food. Food Directorate Health Products and Food Branch, Health Canada. April 2009.
13. Barrenetxe , Aranguren P, Grijalba A, Mart nez-Pe uela .M, Marzo F, Urdaneta E. Modulation of gastrointestinal physiology through probiotic strains of *Lactobacillus casei* and *Bi idobacterium bi idum*. *An Sist Sanit Navar*; 29: 337-47, 2006.
14. 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.

15. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol* 2000; 48: 111–147, 2008.
16. Gibson GR, Beatty EB, Wang X. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterol*, 108: 975–982, 1995.
17. Bertelsen T. Fermentation of D-tagatose by human intestinal bacteria and dairy lactic acid bacteria. *Microb Ecol Health Dis*; 13: 87–95, 2001.
18. Salvini F, Granieri L, Gemmellaro L. Probiotics, prebiotics and child health: where are we going? *J Int Med Res*, 32: 97–108, 2004.
19. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis*, 11: 131–137, 2005.
20. 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.
21. Izzo MT. Inulin and oligofructose in functional confections. *Int. Dent J*, 51, 2001.
22. 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.
23. 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.
24. Veereman G. Pediatric Applications of Inulin and Oligofructose. *J Nutr*, 137: 2585-2589, 2007.
25. Brockhurst MA, Fenton A, Roulston B, Rainey PB. The impact of phages on interspecific competition in experimental populations of bacteria. *BMC Ecology*, 6:19, 2006.
26. Pan X, Chen F, Wu T, Tang H, Zhao Z. Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel. *J Zhejiang Univ Sci B*, 10: 258-263, 2009.
27. Boder P. Influence of prebiotics on the human immune system (GALT). *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 2: 149-153, 2008.
28. De Vrese M, Schrezenmeir J. Pro-, pre- and synbiotics *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 111: 1-66, 2008.
29. Plinius Secundus Maior G. *Naturalis historiae* 77 AD. The composition of Pliny's *natural history*. *Symbolae Oslenses*, 70: 72 – 81, 1995.

30. 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.
31. Vasiljevic T, Shah NP Probiotics – From Metchnikoff to bioactives Int. Dairy J, 18: 714– 728, 2008.
32. Bottazzi V. Food and feed production with microorganisms. Biotechnol, 5: 315-363, 1983.
33. Azizpour K, Bahrambeygi S, Mahmoudpour S, Azizpour A. History and basic of probiotics, Res J Biolo Sci, 4: 409-426, 2009.
34. Pasteur L, Choubert F. Charbon et septice mie. C R Soc Biol Paris,85:101–115, 1877.
35. Escherich T. Die darmbakterien des neugeborenen und sauglings. Fortschritte der Medizin, 3: 515–522, 1885.
36. Carre C. Ueber Antagonisten unter den Bacterien. Correspondenz-Blatt fuer Schweizer Aerzte, 17: 385- 392, 1887.
37. Moro E. Morphologische und biologische untersuchung uber dei darmbakterien des sauglings. J Kinder Phy Erziehung, 61: 687–734, 1905.
38. Tissier H. Traitement des infections intestinales par la me´thode de la flore bacte´rienne de l'intestin. C R Soc Biol Paris; 60: 359–361, 1906.
39. Tissier H. Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourrisson pp. 1–253. The'se, Paris, France,1900.
40. Moro E. Uber den *Bacillus acidophilus*. J Kinder Phy Erziehung, 52: 38–55, 1900.
41. Tissier H. Recherches sur la flore intestinale normale des enfants ages d'un an a cinq ans. Annales de l'Institute Pasteur; 22: 189–207, 1908.
42. Grigoroff, S. Etude sur un lait fermente comestible. Le "Kisselo-mleko" de Bulgarie. Revue Med Suisse Romande 25: 714–720, 1905.
43. Nissle A. Die antagonistische behandlung chronischer darmstorungen mit colibakterien. Med Klein, 2: 29– 33, 1918.
44. 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.
45. 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.

46. 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.
47. Burke A. Practical manufacture of cultured milk and kindred products. Olsen Publishing Co, Milwaukee, WI, USA, 1938.
48. Lactobacillus cases strain Shirota. Yakult Central Institute for Microbiological Research. Yakult Honsha Company Ltd, Tokyo, Japan, 1998.
49. Florey HW. The use of microorganisms for therapeutic purposes. *Yale J Biol Med*, 19: 101–117, 1946.
50. Hamilton-Miller JMT, Gibson GR, Bruck W. Some insight into the derivation and early uses of the word 'probiotic'. *Brit Nutr*, 90: 845, 2003.
51. Kollath W. The increase of the diseases of civilization and their prevention. *Munch Med Wochenschr*, 95: 1260-1262, 1953.
52. Vergin F. Anti- und Probiotika. *Hippokrates*, 25: 116–119, 1954.
53. 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.
54. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Sci*; 147: 747– 748, 1965.
55. Sperti, GS. Probiotics. pp 121. Avi Publishing Co. Westpoint, CT, USA, 1971.
56. 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.
57. Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*, 29: 4–8, 1974.
58. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*, 66: 365–378, 1989.
59. 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.
60. Fuller R. History and development of probiotics. In R. Fuller (Ed.), *Probiotics, the scientific basis*, pp. 1–8, Chapman & Hall, London, UK, 1992.
61. Havenaar R, Huisint'Veld H . Probiotics: a general view. In BJB Wood (Ed.), *The lactic acid bacteria. The lactic acid bacteria in health and disease*, vol. I, pp 151–170, Springer Publishing, New York, NY, USA, 1992.

62. Salminen, S. Uniqueness of probiotic strains. *IDF Nutr News*, 5: 16–18, 1996.
63. Schaafsma, G. State-of-the-art concerning probiotic strains in milk products. *IDF Nutr News*, 5: 23–24, 1996.
64. Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., & Lee, Y. K. Probiotics: How should they be defined? *Trends Food Sci Tech*, 10: 107–110, 1999.
65. Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr*, 39: 13–126, 1999.
66. Schrezenmeir, J, de Vrese, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics Approaching a definition. *Am J Clin Nutr*, 73: 361–364, 2001.
67. Mitsuoka T. The human gastrointestinal tract. *Lac Acid Bact*, 1: 69–114, 1992.
68. De Morais MB, Jacob CMA. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice . *J Pediatr*, 82: 189-197, 2006.
69. 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.
70. 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.
71. 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.
72. 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.
73. 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.
74. 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.
75. 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.

76. Ahola AJ, Yli-Knuuttila 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.
77. 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.
78. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol*, 95: 219–223, 2004.
79. Caglar E, Sandalli N. Probiyotiklerin Diş Sağlığı Üzerine Etkileri. *Türk Orth*, 18: 287-292, 2005.
80. 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.
81. 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.
82. 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.
83. 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.
84. 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.
85. 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.
86. 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.
87. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent*, 18: 3–10, 2008.

88. 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.
89. 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.
90. Dahlen G. Bacterial infections of the oral mucosa. *Perio 2000*, 49:13-38, 2009.
91. Bergonzelli GE, Blum S, Brüssow H, Corth sy-Theulaz I. Probiotics as a treatment strategy for gastrointestinal. *Digest*, 72: 57-68, 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. 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.
95. 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.
96. 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.
97. 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 Obst Gynecol*, 13: 69-75, 2005.
98. Gorbach SL. Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med*, 22: 37-41, 1990.
99. 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.
100. 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.
101. Nord CE, Heimdahl A, Kager L. Antimicrobial induced alterations of the human oropharyngeal and intestinal microflora. *Scand J Inf Dis*, 49: 64-72, 1986.

102. Steffen R, van der Linde F, GYR K, Schar M. Epidemiology of diarrhoea in travelers. *J Am Med Association*, 249: 1176-1180, 1983.
103. Gionchetti P, Rizzello F, Lammers KM, Morselli C, Sollazzi L, Davies S, Tambasco R, Calabrese C, Campieri M. Antibiotics and probiotics in treatment of inflammatory bowel. *Disease World J Gastroenterol*, 12: 3306-3313, 2006.
104. Borchers AT, Semli C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol*, 44: 26-46, 2009.
105. 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.
106. Bergonzelli GE, Blum S, Brüssow H, Corthesy-Theulaz I. Probiotics as a Treatment Strategy for Gastrointestinal Diseases? *Digest*, 72:57-68, 2005.
107. 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.
108. Hütt P, Shchepetova, Loivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *J App Microbiol*, 100: 1324-1332, 2006.
109. 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.
110. 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.
111. Mego M, Mjek, Končekov R, Ebringer L, Ciernikov S, Rauko P, Kováč M, Trupl J, Šlezák 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.
112. Doron S, Gorbach SL. Probiotics: Their role in the treatment and prevention of disease. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 4: 261- 275, 2006.
113. 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.

114. El-Nezami HS , Polychronaki NN , Ma J, Zhu H, Ling W, Salminen EK, Juvonen RO, Salminen SJ, Poussa T, Mykkäinen HM. Probiotic supplementation reduces a biomarker for increased risk of liver cancer in young men from Southern China. *Am J Clin Nutr*, 83: 1199–1203, 2006.
115. Borchert D, Sheridan L, Papatsoris A. Prevention and treatment of UTI with probiotics: Review and research perspective. *Indian J Urol*, 24: 139-144, 2008.
116. 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.
117. 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.
118. 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.
119. 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.
120. 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.
121. Fuller R. Probiotics: An overview. In S. A. W. Gibson (Ed.), *Human health: The contribution of micro-organisms* pp. 63–73. Springer, London, 1994.
122. Lee YK, Salminen S. The coming of age of probiotics. *Trends Food Sci Technol*; 6: 241–245, 1995.
123. Gibson CA, Landerkin GB, Morse PM. Survival of strains of lactic streptococci during freezing storage. *J Dairy Res*, 32: 151–156, 1965.
124. 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.
125. Thunell RK, Sandine E, Bodyfelt FW. Frozen starters from internal-pH-control-grown cultures. *J Dairy Sci*, 67: 24–36, 1984.
126. 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.

127. Snyderman DR. The Safety of Probiotics. *Clin Infect Dis*, 46: 104–11, 2008.
128. Salminen S, von Wright A, Morelli L. Demonstration of safety of probiotics a review. *Int J Food Microbiol*; 44: 93–106, 1998.
129. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr*, 73: 465–470, 2001.
130. Reid G. Safety of lactobacillus strains as probiotic agents. *Clin Infect Dis*, 35: 349–350, 2002.
131. Clancy R. Immunobiotics and the probiotic evolution. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 38: 9–12, 2003.
132. Henriksson A, Borody T, Clancy R. Probiotics under the regulatory microscope. *Expert Opin Drug Saf*, 4: 1135–1143, 2005.
133. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect*; 11: 958–966, 2005.
134. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*, 83: 1256–1264, 2006.
135. 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.
136. 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.
137. 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.
138. 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.
139. Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol*; 84: 197–215, 2000.
140. Kirjavainen PV, Tuomola EM, Crittenden RG. In vitro adhesion and platelet aggregation properties of bacteremia-associated lactobacilli. *Infect Immun*; 67: 2653–2655, 1999.
141. 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.

142. 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.
143. Vesterlund S, Palta 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.
144. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatr*, 115: 178–181, 2005.
145. 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.
146. Boriello SP, Hammes WP, Holzapfel W. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*, 36: 775–780, 2003.
147. Chanet V, Brazille P, Honore S, Michel M, Schaeffer A, Zarrouk V. Lactobacillus Septic Arthritis. *South Med J*, 100: 531-532, 2007.
148. Husni RN, Gordon SM, Washington JA, Longworth DL. Lactobacillus bacteremia and endocarditis review of 45 cases. *Clin Infect Dis*, 25: 1048–1055, 1997.
149. Salminen M. Lactobacillus bacteremia, with special focus on the safety of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. Dissertation Thesis, University of Helsinki: Helsinki, Finland, 2006.
150. Grangette C, Muller-Alouf H, Goudercourt D, Geoffroy MC, Turneer M, Mereenier A. Mucosal immune responses and protection against tetanus toxin after intranasal immunization with recombinant *L. plantarum*. *Infect Immun*, 69: 1547–1553, 2001.
151. Oliveira ML, Areas AP, Campos IB. Induction of systemic and mucosal immune response and decrease in *Streptococcus pneumoniae* colonization by nasal inoculation of mice with recombinant lactic acid bacteria expressing pneumococcal surface antigen A. *Microbes Infect*, 8: 1016–1024, 2006.
152. Vesterlund S, Vankerckhoven V, Saxelin M, Goossens H, Salminen S, Ouwehand AC. Safety assessment of Lactobacillus strains: Presence of putative risk factors in faecal, blood and probiotic isolates *Int J Food Microbio*, 116: 325–331, 2007.
153. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361: 512–519, 2003.
154. Saxelin M. *Lactobacillus* GG. A human probiotic strain with thorough clinical documentation. *Food Rev Int*; 13: 293–313, 1997.
155. Kekkonen R. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria in healthy adults. Institute of Biomedicine, Pharmacology University of Helsinki, 2008.

156. 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 Allerg Clin Immunol*, 107: 129–134, 2001.
157. 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.
158. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet*, 357:1777-1789,2001.
159. Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr*, 130: 403–409, 2000.
160. Collet JP, Ducruet T, Kramer M.S, Haggerty J, Floret D, Chomel JJ. Stimulation of nonspecific immunity to reduce the risk of recurrent infections in children attending day care centers. *Pediatr Infect Dis J*, 12: 648–652, 1993.
161. Hatakka K, Savilahti E, Ponka A. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *Br Med J*, 322: 1327–1329, 2001.
162. Olivares M, Diaz-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonolla J, Navas M. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutr*, 23: 254–260, 2007.
163. Loeser A. Der fluor, seine entstehung und eine kausale therapie mittels des bakterienpreparates Bazillosan. *Zbl Gynakol*, 17: 417–442, 1920.
164. Anukam K, Osazuwa E, Ahonkhai I. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Microb Infect*, 8: 1450–1454, 2006.
165. Anukam KC, Osazuwa E, Osemene GI, Ehigiagbe F, Bruce AW, Reid G. Clinical study comparing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with metronidazole vaginal gel to treat symptomatic bacterial vaginosis. *Microb Infect*, 8: 1–5, 2006.
166. Siboulet A. Vaccination against nonspecific bacterial vaginosis. Double-blind study of Gynatren. *Gynakol Rundsch*; 31: 153–160, 1991.
167. Eschbach W, Kludas M. Survival in human vagina of living, lyophilized Doederlein bacillus on cottonwool tampons. *Artzliche Wochenschrift*, 12: 739–742, 1957.
168. Bandera GB, Conde de Vargas BI, Gonzalez Avalos GA, Toledo Medina A. Treatment of non-specific cervicovaginitis with a lyophilized preparation of lactobacilli and estriol. *Prensa Med Mex*, 42: 91–95, 1977.

169. Hallen A, Jarstrand C, Pahlson C. Treatment of bacterial vaginosis with lactobacilli. *Sex Transm Dis*, 19: 146–148, 1992.
170. Neri A, Sabah G, Samra Z. Bacterial vaginosis in pregnancy treated with yoghurt. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 72: 17–19, 1993.
171. Shalev E, Battino S, Weiner E, Colodner R, Keness Y. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* compared with pasteurized yogurt as prophylaxis for recurrent candidal vaginitis and bacterial vaginosis. *Arch Fam Med*; 5:593– 596,1996.
172. Delia A, Morgante G, Rago G, Musacchio MC, Petraglia F, De Leo V. Effectiveness of oral administration of *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* F19 in association with vaginal suppositories of *Lactobacillus acidophilus* in the treatment of vaginosis and in the prevention of recurrent vaginitis. *Minerva Ginecol*, 58: 227–231, 2006.
173. Pattman RS, Sankar KN, Watson PG, Wardropper AG. An audit of Gynatren (a *Lactobacillus acidophilus* lyophilisate) vaccination in women with recurrent bacterial vaginosis. *Int J STD AIDS*, 5: 299, 1994.
174. Reid G. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *Am J Clin Nutr*, 73: 437–443, 2001.
175. Bruce AW, Reid G. Intravaginal instillation of lactobacilli for prevention of recurrent urinary tract infection. *Can J Microbiol*, 34: 339–343, 1988.
176. Reid G, Bruce AW, Taylor M. Influence of three-day antimicrobial therapy and lactobacillus vaginal suppositories on recurrence of urinary tract infections. *Clin Ther*, 14: 11–16, 1992.
177. Nishijima K, Shukunami K, Kotsuji F. Probiotics affects vaginal flora in pregnant women, suggesting the possibility of preventing preterm labor. *J Clin Gastroenterol*, 39: 447–448, 2005.
178. Hurst V. Fusiform S. in the infant mouth. *J Dent Res*, 36: 513, 1957.
179. McCarthy C, Snyder L, Parker B. The indigenous oral flora of man. The newborn to the one year old infant. *Archs Oral Biol*,10: 61, 1965.
180. Rotimi VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol*; 14: 51– 62, 1981.
181. Brook I. The Role of Bacterial Interference in Otitis, Sinusitis and Tonsillitis. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*,133:1, 2005.
182. Mahieu HF, van Saene JJ, Den Besten J, van Saene HK. Oropharynx decontamination preventing candida vegetation on voice prostheses. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 112: 1090–1092, 1986.

183. Elving G.J, van der Mei HC, van Weissenbruch R, Albers FW, Busscher H J. Effect of antifungal agents on indwelling voice prosthetic biofilms. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 8: 165–168, 2000.
184. Rodrigues L, van der Mai H. C, Teixeira J, Oliveira R. Biosurfactant from *Lactococcus lactis* 53 inhibits microbial adhesion on silicone rubber. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 66: 306-311, 2004.
185. Hendley JO. Clinical practice: Otitis media. *N Engl J Med*, 347: 1169–1174, 2002.
186. Faden H. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *J Infect Dis*, 175: 1440–1445, 1997.
187. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Sci*, 257: 1064–73, 1992.
188. Tagg JR, Dierksen KP. Bacterial replacement therapy: adapting 'germ warfare' to infection prevention. *Trends Biotechnol*, 21: 217–223, 2003.
189. Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis*, 32:1567–1576, 2001.
190. Kang M, Kim B, Chung J, Lee H, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol*, 33: 226-232, 2006.
191. Tonzetich J. Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. *Arc Oral Biol*, 16: 587–597, 1971.
192. Persson S, Edlund M. B, Claesson R, Carlsson J. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbiol Imm*, 5: 195–201, 1990.
193. De Boever EH, Loesche WJ. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. *J Am Dent Assoc*, 126: 1384–1393, 1995.
194. Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using *Streptococcus salivarius* probiotics. *Oral Dis*, 11: 29–31, 2005.
195. Burton JP, Wescombe PA, Moore CJ, Chilcott CN, Tagg JR. Safety assessment of the oral cavity probiotic *Streptococcus salivarius* K12. *App and Env Mic*, 72, 3050–3053, 2006.
196. Elahi S, Pang G, Ashman R, Clancy R. Enhanced clearance of *Candida albicans* from the oral cavities of mice following oral administration of *Lactobacillus acidophilus*. *Clin Exp Immunol*, 141: 29–36, 2005.
197. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect*; 2: 1599–1607, 2000.
198. McDonald R, Avery D, Dean J. *Dentistry for the child and adolescent*, 8 Ed, Mosby, Philadelphia, PA, USA, 2004.

199. Sharma A, Somani R. Dermatoglyphic interpretation of dental caries and its correlation to salivary bacteria interactions: An in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*; 27: 17-21, 2009.
200. Loesche WJ, Rowan J, Straffon LH, Loos PJ. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Inf imm*, 11:1252-1260,1975.
201. 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.
202. Yli-Knuutila H, Sillanpää J, Kari K, Meurman H. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*; 21: 129–131, 2006.
203. Haukioja A, Yli-Knuutila 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.
204. 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.
205. 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.
206. 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.
207. 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.
208. Kang MS, Na HS, Oh JS. Coaggregation ability of *Weissella cibaria* isolates with *Streptococcus mutans* and their adhesiveness to epithelial cells. *FEMS. Microbiol Lett.* 15, 253: 323-329, 2005.
209. 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.
210. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substances from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob Agents Chemother*, 31: 1231-1233, 1987.
211. Ouwehand AC. Antimicrobial components from LAB. In: Salminen S, Wright A, eds. *Lactic acid bacteria*. pp139–159, Marcel Dekker Inc, New York, USA, 1998.

212. Kato I, Yokura T, Mutai M. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Micr Immunol*, 27: 611–618, 1983.
213. Allaker RP, Douglas CWI. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimic Agents*, 33: 8–13, 2009.
214. Brigidi P, Swennen E, Vitali B, Rossi M, Matteuzzi D. PCR detection of Bifidobacterium strains and *Streptococcus thermophilus* in feces of human subjects after oral bacteriotherapy and yogurt consumption. *Int J Food Microbiol*, 25: 203-209, 2003.
215. Cohen PS, Laux DC. Bacterial adhesion to and penetration of intestinal mucus in vitro. *Methods Enzymol*, 253: 309– 314, 1995.
216. Rojas M, Conway PL. Colonization by lactobacilli of piglet small intestinal mucus. *J Appl Bacteriol*, 81: 474–480, 1996.
217. 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: 32–37, 2002.
218. Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H. *Lactobacillus casei strain GG* reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterol*, 105: 1643–1650, 1993.
219. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antoson DL. *Lactobacillus GG* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children. *J Ped*; 135: 564–568, 1999.
220. Ouwehand AC, Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen SJ. Adhesion of four Bifidobacterium strains to human intestinal mucus from subjects in different age groups. *FEMS Microb Lett*, 172: 61–64, 1999.
221. Van der Mei HC, Rustema-Abbing M, de Vries J, Busscher HJ. Bond strengthening in oral bacterial adhesion to salivary conditioning films. *App Env Microbio*, 74: 5511-5515, 2008.
222. Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ. Co-adhesion of oral microbial pairs under flow in the presence of saliva and lactose. *J Dent Res*; 75; 809,1996
223. Brink M, Todorov SD, Martin JH, Senekal M, Dicks LMT. The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. *J Ap Microb*, 100: 813–20, 2006.
224. Abrionel H, Valdivia E, Galvez A, Maqueda M. Influence of physico-chemical factors on the oligomerization and biological activity of bacteriocin AS-48. *Curr Microbiol*; 42: 89–95, 2001.
225. Bezkorovainy A. Probiotics: Determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr*, 73: 399– 405, 2001.

226. Caridi A. Selection of *Escherichia coli*-inhibiting strains of *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 29: 303–308, 2002.
227. Fooks LJ, Fuller R, Gibson GR. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *Int Dairy J*, 9: 53–61, 1999.
228. Fuller R, Gibson GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol*, 32: 28–31, 1997.
229. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivula T. A human lactobacillus strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics*, 88 : 90-97, 1991.
230. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T. Improve immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine*, 13: 310–312, 1995.
231. Ivanova I, Miteva V, Stefanova T.S, Pantev A, Budakov I, Danova S, Moncheva P, Nikolova I. Characterization of a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* 81. *Int J Food Microbiol*, 42: 147–158, 1998.
232. Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N. Bacterial interactions in dental biofilm development. *J Dent Res* 88: 982-990, 2009.
233. Mdel OC, Nader-Mac as EM. 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.
234. Marsh PD. Microbiological aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am*, 43: 599-614, 1999.
235. Colloca ME, Ahumada MC, Lopez ME, Nader-Mac as ME. Surface properties of lactobacilli isolated from healthy subjects. *Oral Dis*, 6: 227-233, 2000.
236. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol*, 54: 413-437, 2000.
237. 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.
238. Boris J, Pahlson C, Larsson PG. Six years observation after successful treatment of bacterial vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 5: 297- 302, 1997.
239. De Silva-Sanigorski A, Calache H, Gussy M, Dashper S, Gibson J, Waters E. The VicGeneration study - a birth cohort to examine the environmental, behavioural and biological predictors of early childhood caries: background, aims and methods. *BMC Public Health*, 10: 97, 2010.

240. Allaker RP, Hardie M. Oral infections. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections, (9 th ed), Arnold, London, pp 373–390, 1998.
241. Marsh P, Martin M. Oral microbiology. Fourth ed. Chapman&Hall, London, United Kingdom, 1997.
242. 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.
243. Thylstrup A, Fejerskov O. Textbook of clinical cariology. Munksgaard, Copenhagen, Denmark, 1994.
244. Anđ Ö: Ağız Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, İ.Ü. Tıp Fak. Yayınları, Nobel Tıp kitapevi, İstanbul, 1990.
245. Mandel ID. Functions of saliva. J Dent Res, 66: 623-627, 1987.
246. Wolff MS, Larson C. The cariogenic dental biofilm: good, bad or just something to control? Braz Oral Res, 23: 31-38, 2009.
247. Acevedo AC. Saliva and oral health. Rev Assoc Med Bras, 56: 1-9, 2010.
248. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res, 72: 37-45, 1993.
249. 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.
250. Karn TA, O'Sullivan DM, Tinanoff N. Colonization of mutans streptococci in 8- to 15 month old children. J Public Health Dent, 58: 248-249, 1998.
251. Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface J Am Dent Assoc, 139: 25-34, 2008.
252. Miller WD. The microorganisms of the human mouth: the local and general diseases which are caused by them. Karger, New York, USA, 1973.
253. Stephan RM. Changes in hydrogen ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions. J Am Dent Assoc; 27: 718- 723, 1940.
254. Stephan RM. Intra-oral hydrogen ion concentrations associated with dental caries activity. J Dent Res; 23: 257-266, 1944.
255. Kleinberg I. Formation and accumulation of acid on the tooth surface. J Dent Res, 49: 1300-1317, 1970.

256. Kleinberg I, Jenkins GN, Chatterjee R, Wijeyeweera L. The antimony pH electrode and its role in the assessment and interpretation of dental plaque pH. *J Dent Res*, 61: 1139-1147, 1982.
257. Liljemark WF, Bloomquist C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*, 7: 180-198, 1996.
258. Socransky SS, Haffajee AD. Microbiology (Plaque). Ed: Grant D.A., Stern I.B., Listgarten M.A., Periodontics, pp 147-197, C.V. Mosby Company, St. Louis, Missouri, USA, 1988.
259. Mayhall CW. Concerning the composition and source of the acquired enamel pellicle of human teeth. *Arch Oral Biol*, 15: 1327-1341, 1970.
260. Gibbon RJ. Adherent interactions which may effect microbial ecology in the mouth. *J Dent Res*, 63: 378-385, 1984.
261. Black GV. Dr. Black's conclusions reviewed again. *Dent Cosmos*; 40: 440- 451, 1898.
262. Külekçi G. Dişhekimliğinde antimikrobiyal ağız gargaralarının kullanılması. *ANKEM Derg*, 13: 208-213, 1999.
263. Ritz HL. Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Arch. Oral Biol*, 12: 1561-1568, 1967.
264. Külekçi G. Ağız mikroorganizmaları üzerine florürün etkisi. *İÜ Diş Hek Fak Derg*, 34: 1-6, 2000.
265. Bagg J, Mac Farlane TW, Poxton IR, Miller CH, Smith AJ, Essentials of Microbiology for Dental Students. Oxford Publishing, London. pp.252-253, 2003.
266. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbial Rev*, 50: 353-380, 1986.
267. Loesche WJ. The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic methods. *Oral Microbiol. Immunol*, 1:65-72,1986.
268. De Soet JJ, Van Loveren C, Lammens AJ, Pavicic MJAMP, Homburg CHE, Ten Cate JM, De Graaff J. Differences in cariogenicity between fresh isolates of *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*. *Caries Res*, 25: 116-122, 1991.
269. 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.
270. Siitonen S, Vapaatalo H, Salminen S. Effect of *Lactobacillus* GG yogurt in prevention of antibiotic associated diarrhea. *Ann. Med*; 22: 57-59, 1990.

271. Oksanen P, Salminen S, Saxelin M. Prevention of travelers' diarrhea by *Lactobacillus* GG. *Ann Med*, 22: 53-56, 1990.
272. Harty DWS, Knox KW. An in vitro study of adhesion of various *Lactobacillus* species. *Microb Ecol Health Dis*, 4:19-28, 1991.
273. Külekçi G. Diş çürüğü aktivite testleri neden, ne zaman, nasıl. Tubitak ağız biyolojisi uygulamalı eğitim programı. 1998.
274. Koray F, Güven Y, Külekçi G, Çintan S. Ağız biyolojisi ve bireysel profilaksi uygulamalı eğitim programı. Ders notları, 2002.
275. İkiner S, Söder PO. Factors associated with salivary buffering capacity in young adults in Stockholm, Sweden. *Scand. J. Dent. Res*, 102: 50-53, 1994.
276. Vanobbergen J, Martens L, Lesaffre E, Bogaerts K, Declerck D. Assessing risk indicators for dental caries in the primary dentition. *Comm Dent. Oral Epidemiol*, 29: 424-434, 2001.
277. FDI Working Group 10. Core: Saliva: Its role in health and disease. *Int Dent J*, 42: 291-304, 1992.
278. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J*, 172: 305-312, 1992.
279. Ericsson Y. Clinical investigation of the salivary buffering action. *Acta Odontol Scand*, 17: 131-165, 1959.
280. Hansel PG, Twetman S, Bratthall D. Evaluation of a computer program for caries risk assessment in schoolchildren. *Caries Res*, 36: 327-40, 2002.
281. Sullivan A, Granath L, Widenheim J. Correlation between child caries incidence and *S mutans*/ *lactobacilli* in saliva after correction for confounding factors. *Community Dent. Oral Epidemiol*; 17: 240-4, 1989.
282. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Com Dent Oral Epidemiol*, 33: 248-55, 2005.
283. Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T, Goss J, Corby AL, Junior HM, Weyant RJ, Paster BJ. Microbial risk indicators of early childhood caries. *J Clin Microbiol*, 43:5753-5759, 2005.
284. Huang MY, Wang JH. Impact of antibiotic use on fungus colonization in patients hospitalized due to fever. *J Microbiol Immunol Infect*, 36: 123-128, 2003.
285. Marsh P, Martin MV. Oral microbiology. Fourth ed. Wright, Oxford, United Kingdom, 1999.

286. Stewart PS. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Int J Med Microbiol*, 292:107-113, 2002.
287. Jensen B, Bratthall D. A new method for the estimation of mutans streptococci in human saliva. *J Dent Res*, 68: 468-471, 1989.
288. Van Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res*, 7; 87, 1993.
289. Kerr TJ, McHale BB. Applications in general microbiology: A laboratory manual. Revised Sixth Edition. Hunter Textbooks Inc. pp 339-340.
290. Oyuntsetseg B, Okazaki Y, Hori M, Rodis O. M. M, Matsumura S, Shimono T. Caries activity test in Mongolian and Japanese children. *Pediatr. Dent*, 14: 61-67, 2004.
291. Larmas M. A new dip-slide method for counting of salivary lactobacilli. *Proc Finn Dent Soc*, 71: 31-35, 1975.
292. Larmas M. Saliva and dental caries: diagnostic tests for normal dental practice. *Int Dent J*, 42: 199-208, 1992.
293. Freire MCM, Melo RB, Silva SA. Dental caries prevalence in relation to socioeconomic status of nursery school children in Goiania-GO, Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol*, 24: 357-361, 1996.
294. 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*. Vol. 40: 1001-1009, 2002.
295. Comelli EM, Guggenheim B, Stinglele F, Neeser J-R. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci*, 110: 218-224, 2002.
296. 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.
297. 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.
298. Kargul B, Caglar E, Lussi A. Erosive and buffering capacities of yogurt. *Quint Int*, 38: 381-385, 2007.
299. Moynihan P J, Gould M E, Huntley N, Thorman S Effect of glucose polymers in water, milk and a milk substitute on plaque pH *in vitro*. *Int J Pediatr Dent*, 6: 19-24, 1996.

300. Mundorff SA, Featherstone JD, Bibby BG, Curzon ME, Eisenberg AD, Espeland M A. Cariogenic potential of foods. I. Caries in the rat model. *Caries Res*, 24: 344–355, 1990.
301. 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 Immunol*, 17: 9–15, 2002.
302. Cabana MD, Shane AL, Chao C, Oliva-Hemker RDM. Probiotics in primary care Pediatrics. *Clin Pediatr*, 45: 405-410, 2006.

Resim 1 Olga Metchnikoff dan 1921, Metchnikoff'un hayatı. Houghton Mufflin Co., Boston, New York, ABD, 1921.

8. ÖZGEÇMİŞ

Onur Serger 17.09.1978 yılında İstanbul'da doğmuştur. İlköğrenimini 50.yıl Cumhuriyet İlkokulu'nda, lise öğrenimi İzmir Türk Koleji Fen Lisesi'nde tamamlamıştır. Lisans eğitimini 2005 yılında Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'nde tamamlamış, 2006 yılında Yeditepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başlamıştır.