

**44335**

**T.C.  
Ege Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**SAKKAROZ, GLİKOZ VE XYLİTOLÜN  
KARYOJENİK ETKİLERİNİN İN VİVO VE  
İN VİTRO YÖNTEMLERLE KARŞILAŞTIRMALI  
OLARAK İNCELENMESİ**

**Pedodonti Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**Dişhekimisi : Fahinur ERTUĞRUL**

**Danışman Öğretim Üyesi : Prof. Dr. Bora Altinel ATAMAN**

**İZMİR - 1995**

## ÖNSÖZ

Genellikle şeker tüketimi ile ilgili alışkanlıklar ülkemizde de çocukluk dönemlerinde başlamakta ve bunun bir neticesi olarak da diş çürükleri bütün toplumu yakından ilgilendirmektedir. Şeker içeren besinlerin aşırı tüketimi, hem diş çürüklerini arttırmakta, hem de diabetikler için ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Sakkaroz karyojenik bir besin maddesi olmasına rağmen, alternatifler önermeden diyetten sakkarozun elimine edilmesi de doğru değildir. Bu amaçla doğal bir karbonhidrat olan poliollerden xylitolün diyete ilave edilmesiyle ratlardaki çürük aktivitesi mikroskobik ve bakteriyolojik yöntemlerle araştırılmıştır. Çalışmamızın bundan sonra yapılacak klinik ve laboratuvar çalışmalarına bir basamak teşkil edeceği düşünülmektedir.

Bu doktora konusunun belirlenmesinde ve çalışmalar sırasında değerli fikirlerini, desteğini ve yol göstericiliğini esirgemeyen doktora yönetmenim Sayın Prof. Dr.Bora Altınel ATAMAN'a şükranlarımı sunarım.

Mikrobiyolojik çalışmamızın bütün laboratuvar aşamalarında her türlü bilimsel desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, çalışmanın gerçekleşmesini sağlayan Sayın Y.Doç.Dr.Rengin ELTEM'e ve E.Ü.Fen Fak. Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Ratların diyetlerinin hazırlanmasında her türlü yardım ve kolaylığı gösteren Sayın Y.Doç.Dr.Figen KIRKPINAR'a, rat dişlerinin kesitlerinin hazırlanmasında yardımları için Sayın Ömer K. ÖZALP'e, mikroskobik analizlerdeki yorumları ile katkıda bulunan Doç.Dr.Oğuz AKTENER'e çalışmalarımın gerçekleşmesi için desteklerini her zaman gördüğüm E.Ü. Diş Hek. Fak. Pedodonti A.B.D öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca, doktora çalışmalarında bana maddi olanaklar sağlayan E.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fonu'na; verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde emeği geçen Sayın Uzman Timur KÖSE'ye, çalışmalarım sırasında bana destek olan eşim Dr. Özkan ERTUĞRUL'a teşekkür ederim.

Dt. Fahinur ERTUĞRUL

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>45</b>
<b>BULGULAR .....</b>	<b>65</b>
<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>89</b>
<b>SONUÇLAR .....</b>	<b>106</b>
<b>ÖZET .....</b>	<b>109</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>110</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>111</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>121</b>

## GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürüğü, insanlarda en sık rastlanılan kronik hastalıklardan birisidir. Çürük insidansı özellikle endüstriyel ülkelerde yaygın ve şiddetli olup ayrıca gelişmekte olan ülkelerde de artmaktadır.

Çeşitli çalışmalar, yöresel tarım ürünleri ile beslenen toplumların çürük insidansının düşük olduğunu göstermiştir. Buna karşılık kırsal kesimde yaşayanların kent yaşamına ait, şeker içeriği yüksek çukulata, şekerleme türü gıdalar tüketmeleri çürük insidansını arttırmaktadır (51,112).

Toplumun büyük bir çoğunluğu tatlı yiyeceklerden hoşlanmakta, bazıları da şekere psikolojik bir ihtiyaç duymaktadır. Tatlı, sevgi ve ödüllendirme ile en fazla ilişkili olan bir tattır. Tatlılara düşkünlük, "üniversal insan zaafı" olarak adlandırılmaktadır. 17. yüzyıldan beri temel tatlandırma ajanı "sakkaroz"dur. Çeşitli araştırmaların sonucunda, çürük dağılımı ile şeker tüketimi arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır. Yüksek çürük insidansı, günlük şeker tüketiminin fazla olması ile ilişkilidir (12,17,50,51,87,112).

Sakkaroz içeren besinlerin aşırı tüketimi, hem diş çürüklerini arttırmakta, hem de diabetikler ve aşırı kilolu kişiler için ciddi sorun olabilen yüksek kalori alımına yol açmaktadır. Şeker (sakkaroz) karyojenik bir besin maddesi olmasına rağmen, alternatifler sunmadan diyetle şekerin kısıtlanması da doğru değildir. Çürük üzerinde, şekerlerin etkisi tam olarak anlaşıldıktan sonra, günümüzde bu hastalığın önlenmesi ya da azaltılması ile ilgili diyet değişiklikleri üzerinde çalışmalar yürütülmektedir. Bu çalışmaların amacı, şekerlerin lezzet ve besleyici özelliklerini kaybetmeden çürük yapıcı güçlerini azaltmak yönündedir (12,17,73,87).

Ağız mikroorganizmalarının, karbonhidratlı besinleri fermente etmesiyle açığa çıkan asit; çürük oluşumunda başlıca etken olduğuna göre, çürük önleyici girişimlerin amaçlarından biri de bu asit oluşumunu engellemektir. Son yıllarda; sakkaroz, glikoz ve fruktoz gibi geleneksel şekerlerin yerine kullanılabilen ve ara metabolizma ürünlerine parçalanmayan, nonkaryojenik, çürüğü önleyici özellikteki bazı maddelerin üzerinde durulmaktadır. Bunlar yapay tatlandırıcılar ve şeker değişkenleri olarak adlandırılmaktadır (11,12,53,87). Şeker değişkenlerinden, bir şeker alkolü olan xylitol ; çürük profilaksisi açısından,

flordan sonra üzerinde en çok çalışılan ve büyük umutlar bağlanan bir maddedir (4,7,34,37,39,45,47,48,55,58,59,60,62,69,71,85 ).

Çalışmamızın amacı, son yıllarda çeşitli araştırmalara ve tartışmalara yol açan ve bir şeker alkolü olan xylitolün deney hayvanlarında karyojenitesini saptamak ve bunun, sakkarozun alternatifi olarak kullanılıp kullanılamayacağını ortaya çıkarılmasına yöneliktir. Çalışmamızda, deneysel albino ratlara çeşitli karbonhidratlar içeren diyetler ile, şeker en yakın tat ve besleyici nitelikte bir şeker alkolü olan xylitol verilerek, çürük aktivitesindeki değişikliklerin mikroskopik ve bakteriyolojik yöntemlerle gözlenmesi amaçlanmıştır.

Genellikle, şeker tüketimi ile ilgili alışkanlıklar çocukluk döneminde başlamakta, aileler ve özellikle medya tarafından bilinçsiz bir şekilde teşvik edilmektedir. Koruyucu yöntemlerden biri olan diyet değişikliklerinin toplumumuzda bilinçli bir şekilde yerleştirilmesiyle, diş çürüklerinin büyük ölçüde azaltılabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızın özellikle, çocuklara yönelik gıda maddelerinde sakkaroz yerine yapay tatlandırıcıların ve şeker değişkenlerinin kullanımı ile ilgili bundan sonraki çalışmalar için bir basamak teşkil etmesi beklenmektedir.

## 1.GENEL BİLGİLER

### 1.1. DIŞ ÇÜRÜĞÜ TANIMI VE ETYOLOJİLERİ

#### 1.1.1. Tanımı:

Diş çürüğü, hemen herkes tarafından kolaylıkla tanınabildiği halde; etiyojisi, patolojisi ve tedavisi hakkında çok az şey bilinen, hatta tarifinde bile birleşilememiş bir hastalıktır (22). Diş çürüğünün en genel tanım şekli ise, dişin sert dokularının mikroorganizmalar tarafından lokalize yıkımı ile ortaya çıkan patolojik işlemler zinciri olduğudur (16,22,87,89). Canlı dişinin, hızlı yıkımına karşın, post mortem olarak neredeyse yıkılmaz oluşumu bir paradokstur. İlk dönemlerde çürük semento-mine birleşiminde meydana gelirken, modern insanda çürük fissür ve pitlerde görülmektedir (87).

Diş sert dokularının, çevresel faktörlerle yıkımı ve madde kaybı temeline dayanan diş çürümesi, geçen yüzyılın sonundan bu yana birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve diş çürüğünün oluşması ile ilgili olarak çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Bu teorilerden bazıları; vital, kimyasal, parazitik ve septik, proteolitik ve proteoliz-şelasyon veya şimiko-paraziter teorilerdir.

Diş çürüğünün oluşumu için birçok araştırmacının benimsediği ve ilk kez 19. yüzyılın sonuna doğru ortaya atılan, asit dekalsifikasyon teorisi, bugün de geçerliliğini korumaktadır. Bu teoriye göre; diş çürüğü iki ayrı aşamada meydana gelen şimiko-paraziter bir hastalıktır. Birinci aşamada besinlerden asit yapma gücündeki mikroorganizmaların rolü ile dokunun dekalsifiye olmakta, ikinci aşamada da albüminli maddeleri parçalama gücünde olan tüm ağız bakterilerinin rolü ile, yumuşayan kalıntılar, erimektedir (22,65,87).

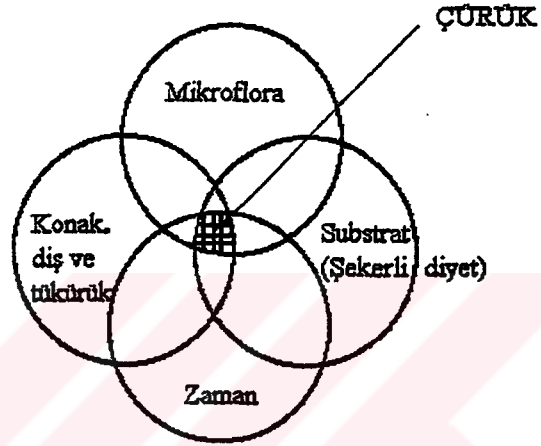
#### 1.1.2. Etiyojisi:

Diş çürüklerinin etiyojisinde, çeşitli faktörler vardır. Bunlardan herhangi birinin yokluğunda ise çürük oluşmamaktadır. Dişlerdeki bu çürüme, matematiksel olarak şu formül ile özetlenebilir (65).

$$\boxed{\text{Plak} \times \text{Mikroorganizma} \times \text{Karbonhidrat} \times \text{Süre} = \text{ÇÜRÜK}} \\ \text{Asit Üretimi}$$

Çürük oluşumundaki etkenleri ayrıca, birbirini kesen 4 daire şeklindeki Venn diyagramı ile de göstermek mümkündür (Şekil-1). Çürüğün oluşması için,

uygun ortamın, karyojenik oral floranın ve uygun diyetin yeterince ve uzun süre bir arada bulunması gerekmektedir.



**Şekil-1: Venn Diyagramı (19,87,89)**

Buna karşın, diş çürüklerini önlemek için; alınması gereken önlemler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- Diş yapısının direncinin artırılması (Flour uygulamaları, fissür koruyucular ve aşılar),
- Diş ile temasta olan mikroorganizmaların sayısını azaltılması (plak kontrolü),
- Diyet seçiminde, karyojenik olmayanların tercihi,
- Diyet alım sıklıklarının azaltılarak, diyetin ağızda kalış süresinin kısaltılması (12,17,19,70,78,79,87).

#### **1.1.2.1. Çürük Etmenleri:**

##### **1.1.2.1.1. Zaman Faktörü:**

İnsanlarda diş çürüğü, aylar veya yıllarca süren bir zaman sonunda olduğundan kronik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Zaman faktörünün yiyeceklerle de yakın ilişkisi vardır. Çürük yapıcı yiyeceklerin, ağızda kısa süre kalmasında, çürüğün daha az görüldüğü, uzun süre kalmasında ise, çok daha

fazla çürük olduğu belirtilmektedir. Ayrıca çocuklarda, özellikle, yemekler arasında yeme sıklığı ile çürük oranı arasında bir ilişki bulunmuştur (19,87).

#### **1.1.2.1.2. Konak Faktörü:**

##### **1.1.2.1.2.1. Tükürük:**

Diş çürüklerinde, tükürük faktörü önemli rol oynamaktadır. Yemek artıklarının, bakterilerin ve onların ürünlerinin tükürük ile mekanik olarak yıkanması çürüğün azalmasına neden olmaktadır (117).

Tükürük, ağız boşluğundaki mikrobiyal besinlerin yayılmasını sağlayan bir kaynak olmasına karşılık, gerçekte iyi bir kültür ortamı değildir. Tükürük, yaklaşık olarak yansı inorganik olan (çoğunlukla klorür, karbonat, fosfat, kalsiyum, K, Na ve iz elementler) % 5 oranında çözünmüş katılan içermektedir. Tükürüğün başlıca organik bileşenleri; tükürük enzimleri, mukoproteinler ve bazı serum proteinleri gibi proteinlerdir. Az miktarda, karbonhidratlar, üre, amonyak, aminoasitler ve vitaminler bulunmaktadır. Tükürükte birkaç antimikrobiyal madde belirlenmiş olup, bunların en önemlileri lizozim ve laktoperoksidaz enzimleridir (16,117).

Lizozim, peptidoglükandaki glikozitik bağları ayıran bir proteindir. Bakteri hücre çeperindeki kuvvetlendirici ajanın bozulmasına, dolayısıyla hücre çeperinin zayıflamasına ve hücre çeperinin lizisine yol açar. Laktoperoksidaz, hem tükürük hem de sütte bulunan bir enzimdir.  $H_2O_2$  ve klorür iyonlarını içeren bir reaksiyonla bakterileri öldürür. Tükürüğün pH' sı, tamponlayıcı bir bikarbonat sistemiyle kontrol edilir ve 6.7' ye yakın bir ortalama ile 5.7-7 arasında değişmektedir. Tükürüğün kompozisyonu bireyden bireye değişir ve hatta aynı bireyde fizyolojik ve heyecan veren faktörler nedeniyle değişiklik gösterebilir. Antibakteriyel maddelerin aktivitesine rağmen, besin partiküllerinin ve epitelial döküntülerin varlığı, ağız boşluğunu çok uygun bir habitat yapmaktadır (16,117).

##### **1.1.2.1.2.2. Diş:**

Çürüğün oluşumu için, gerekli faktörlerden birisi de dişlerdir. Klinik gözlemlere göre, posterior dişlerin pit ve fissürleri, çürüğe daha çok yatkın olup yiyecek artıkları ve mikroorganizmalar fissürlere yerleşirler, fissürlerin derinliği arttıkça çürük oranı da artmaktadır. Çene kavisinin bozuk ve dişlerin çapraşık olması da diş çürüğünü arttırıcı etkenlerden birisidir (19,87).

Dişler, kalsiyum fosfat kristallerinin mineral bir matriksi olan bir mine içinde, dişin canlı dokusunu içeren, dentin ve pulpa kısımlarından oluşmuştur. Dişler, mikrobiyal floranın yapısının incelenmesinde oldukça önemlidirler. Yaşamın birinci yılı boyunca (dişler olmadığı zaman) ağız içinde bulunan



bakteriler öncelikle streptokok ve laktobasil gibi aerotolerant anaeroplara olup az sayıda diğer aerop bakteri çeşitleri de bulunmaktadır. Dişler ortaya çıktığı da mikroflora dengesinin anaeroplara doğru değiştiği belirtilmektedir. Böylece çeşitli bakteriler, özellikle gelişen dişlerin çatlaklarında ve yüzeylerinde büyümeye adapte olmaktadır. Dişlerin yüzeyinde, esas olarak ekstrasellüler polimerlerden oluşan bir matris içerisinde bakterial hücrelerden ve tükürük ürünlerinden meydana gelen "Dental Plak" olarak isimlendirilen bir film oluşmaktadır. Dental plak bazik fuksin veya eritrosin gibi boyalarla boyanarak, hemen gözlelenebilir. Dişler etkili bir şekilde fırçalanıyor ise, dental Plak, sadece fırçadan korunmuş olan çatlaklarda oluşmakta fırçalama durdurulursa plak birikmeye devam etmektedir (16).

#### 1.1.2.1.3. Substrat (Diyet):

Diyet, bir bireyin, hergün yemeğe alışık olduğu yiyecek ve içeceklerin tümü olarak belirtilmektedir. Diyet, mine yüzeyi ile reaksiyona girerek ve çürük yapıcı bakteriler için bir besin kaynağı gibi görev yaparak, ağızda lokal olarak çürük yapımında etkilidir (87).

Diş çürüklerinden en fazla, yiyecekler içinde bulunan sakkarozun sorumlu olduğu belirtilmektedir. Hayvanlarda yapılan araştırmalara göre, sakkaroz miktarı ile çürük yapma özelliği arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Sakkarozun yalnızca alınma sıklığı değil, şekli de önemlidir. Ağız içinde, yüksek şeker seviyesini koruyan, yapışkan formdaki sakkaroz içeren yiyeceklerin, çabuk temizlenenlere göre daha fazla çürük yapıcı oldukları görülmüştür (19,22,65,87).

#### 1.1.2.1.4. Bakteriler:

Çürükte etkili olan özel mikroorganizmalarla ilgili bugünkü bilgiler, insan, hamster, sıçan, maymun ve domuz gibi hayvanlardaki çalışmalar sonucu elde edilmiştir (16,40,41,72,89). Çürüğün etiopatolojisinde, mikroorganizmaların rolünü saptamak için gnotobiyotik hayvan denemeleri yapılmıştır. Gnotobiyotik hayvan, ağızda ve vücudunun diğer kısımlarında taşıdığı mikroflora bilinen hayvandır. Eğer mikroflora bulunmuyorsa bu özel gnotobiyotik hayvanlara germ-free hayvanlar adı verilmektedir (22,87,89).

Germ-free hayvan denemelerinde, mikroorganizmasız çürük olamayacağı kesinlik kazanmış olup, aşağıda özetlenen belli başlı sonuçlar elde edilmiştir:

A- Germ-free hayvanlarda, çürük oluşumundaki mikroorganizmaların rolü:

a. Mikropsuz çürük meydana gelmemektedir.

b. Mikrobu çürütme gücü asit meydana getirme gücüne paraleldir.

c. Mikroplarca aside dönüştürülebilen karbonhidratlı yiyecekler karyojenik etkiye sahiptir.

d. Mikroplarca meydana getirilen asit ancak plak içinde yoğunlaştığında çürük meydana gelir.

B- Germ-free hayvanlara antibiyotik verilmesi, çürük şiddeti ve sıklığında azalma yapmaktadır.

C- Sürmemiş dişde çürük oluşmamakta; diş ancak ağız boşluğunda ve flora ile ilişkiye geçtiğinde çürük oluşmaktadır.

D- İn vitro olarak ağız bakterileri, mine ve dentini demineralize ederek çürüğe benzer lezyonlar yapmaktadırlar.

E- Mikroorganizmaların çürük mine ve dentine hücum ettikleri histolojik olarak gösterilmiştir. Ayrıca çürük lezyonlarından mikroorganizmalar izole edilerek kültürleri yapılabilmektedir (22,87,89).

Mikroorganizmalar, mine yıkıldığında, mine prizmaları içine ve minenin prizmalar arası matriksine girebilirler. Genellikle bu giriş, minenin ortasında prizmalar arası matriks bölgesine oranla daha fazladır. Daha derin yüzeye gelindiğinde , mikroorganizma sayısı, mine yüzeyine yakın yerdekine oranla daha azdır (89,108).

Çürük lezyonunun başladığı yerdeki mikroorganizmalar, Gr(+) koklar iken, lezyonun geri kalan kısımlarında heterojen bir mikroorganizma topluluğu bulunmaktadır. Minede yıkım devam ederken kokların yerini Gr(+) ve Gr(-) filamentöz bakteriler almaktadır (89,108).

Dentin ise başlangıçta mikroorganizmalar tarafından odontoblast fibrilleri boyunca işgal edilmekte; bunu izleyerek tubulilerde dekalsifikasyon ve yumuşama olmaktadır. Bakterilerin yayılması ve asit yapması sonucunda, intertubuler dentinde dekalsifikasyon meydana gelmektedir. Dentindeki aktif lezyonun en derin tabakaları, hemen her zaman steril olup, çürüğün en son gelişme devrelerinde ise mikroorganizmalar pulpaya girmektedirler. Diş çürüklerinin dentine kadar ilerlemesi ile ilgili diğer asidojenik bakteriler, Gr(+) aneoroblar, propionibakteriler, arachma, eubacterium, rothia, bifidobacterium gibi ve peptostreptococcus ve peptococcus gibi koklardır (11,87,108).

## **1.2. DIŞ ÇÜRÜKLERİNİN BAKTERİYOLOJİSİ**

Bugüne kadar yapılmış olan insan ve hayvan denemelerinde, diş çürüklerinin oluşmasında bakterilerin çok önemli rol oynadığı kesinlik kazanmıştır (16,20,23,26,40,42,44,52,61,63,72,82,90).

Mikrobiyolojik araştırmalarda, çürüğe neden olan başlıca bakteri grupları streptokoklar, laktobasiller ve aktinomiçesler olarak belirlenmiştir (11,16,19,22,65,87,108).

### 1.2.1. Oral Laktobasiller:

Laktobasiller, Gr(+), katalaz-negatif, spor oluşturmayan, fakültatif anaerobik çubuklardır. Mikroaerofilik ortamlarda rerler. Laktobasiller, bebeklerin ağızında genellikle geçici olarak bulunmakta ve oral floranın %' 1' ini oluşturmaktadırlar. *Lactobacillus casei* ve *L. fermentum* en bilinen oral türleridir. Oral laktobasillus populusyonu, diyet alışkanlığından etkilenir. Laktobasiller en çok dentinin derin çürük lezyonlarında bulunur (19,87,103,108).

Araştıncılar, plak, tükürük ve çürük lezyonlarında laktobasillerin pekçok türünü izole etmişlerdir. Ağızda en sık bulunan tipleri Tablo-1' de gösterilmiştir.

**Tablo-1: Ağızdan en sık izole edilen laktobasiller (87).**

Homofermentatif Grup	Heterofermentatif Grup
<i>L. casei</i>	<i>L. fermentum</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. brevis</i>
<i>L. plantorum</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. salivarius</i>	<i>L. cellobiosus</i>

İnsan ürk lezyonlarından izole edilen homofermentatif laktobasillerin heterofermentatiflerden sayıca daha fazla olduğu belirlenmiştir (87).

Laktobasiller, hem asidojenik, hem de asidürik olduğundan, düşük plak pH' ında ve çürük lezyonlarında fazla miktarda bulunurlar. Seçici kültür ortamları kullanılarak, tükürükte laktobasillerin varlığı ile çürük prevalansı arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (3,19,87). Buna karşılık laktobasillerin dental plağın mikrobiyal kompozisyonunun çok az bir oranını teşkil ettiği (1/10000) ve laktobasillerin ürettiği asidin, diğer asidojenik bakterilerin yanında çok az olduğu saptanmıştır (87).

Laktobasiller, insanda, tükürük, diş yüzeyleri, dil dorsumu, vestibül mukoza ve sert damaktan izole edilmektedir. *L. asidophilus*, daha çok tükürükten izole edilir, *L. casei* ise dental plakta ve çürük dentinde ençok görülen laktobasildir. Bu iki mikroorganizma, streptokoklar gibi,

homofermentatiftir olup glikoz metabolizmasının son ürünü olarak laktik asit üretirler (3,19,87,108).

Laktobasillerin, diş yüzeyine pek fazla afiniteleri yoktur (87). Çürüklerin klinik teşhisi için yapılan çalışmalarda, plak ve çürük dişlerdeki laktobasil oranlarının önemli şekilde artmış olması, *S. mutans*' in başlangıç invazyonunu izleyerek çürük lezyonlarının içine laktobasillerin sekonder olarak girdiğini göstermektedir. Laktobasil türlerinin bir çoğu, deney hayvanlarında, hiç çürük oluşturmaksızın, ağız mikroflorasında yer almaktadır (41).

### 1.2.2. ORAL AKTİNOMİÇESLER:

Aktinomiçesler, Gr(+), hareketsiz, spor oluşturmayan filamentöz bakterilerdir. Filamentler genellikle farklı uzunluklarda, ince ve dallara ayrılmış şekildedir. Oral kaviteden izole edilen 5 tür Tablo-2' de verilmiştir.

**Tablo-2: Oral kaviteden izole edilen aktinomiçesler (87).**

Anaeroplur	Fakültatif anaeroplur
<i>A. bovis</i>	<i>A. viscosus</i>
<i>A. israelii</i>	<i>A. naeslundii</i>
	<i>A. odontolyticus</i>

Aktinomiçeslerin bütün türleri, glikozu fermente ederek laktik asit, daha az miktarlarda asetik ve süksinik asit ve eser miktarda da formik asit üretirler. *A. viscosus* ve *A. naeslundii* gnotobiyotik hayvanlara inoküle edildiklerinde, kök çürüğü, fissür çürüğü ve periodontal yıkım meydana getirdikleri için dikkat çekicidir (5,6,87,89,108).

### 1.2.3. ORAL STREPTOKOKLAR

Oral streptokoklar, insan ve hayvanların oral florasında en baskın olan Gr(+) koklardır (19,87,89). Bu streptokoklar, koloni morfolojileri, fizyolojileri, karakteristikleri ve antijenik özelliklerine göre beş gruba ayrılmaktadır (19,40,42,87,89).

#### 1.2.3.1. *Streptococcus sanguis*:

Bu türler, subakut endokarditli hastaların kanlarından izole edilen  $\alpha$ -hemolitik streptokoklar olup  $\beta$ - hemolitik ve nonhemolitik suşları da bulunmaktadır (40,87). Diş üzerinde streptokok kolonizasyonlarının predominant

gruplandır. Bunlar arginin ve eskulini parçalarlar ve sakkarozdan ekstrasellüler bir polisakkarit olan glukun üretirler (40,42,63).

*S. sanguis'* in, A ve B olarak iki biyotipi vardır (40). Hayvanlarda, bu grubun bazı türlerinin karyojenik olduğu saptanmış olup, bu türün oluşturduğu çürükler, özellikle sulcuslarda meydana gelmektedir. Dental plaktan sık izole edilirler, bakteriyal endokarditli bazı vakalarda kandan ve kalp kapakçıklarından izole edilmektedir (42,87).

#### 1.2.3.2. *Streptococcus mitior*:

*S. mitior*, genellikle "*S. mitis*" olarak adlandırılmaktadır (40). *S. mitior* heterojenöz bir tür olup arginin ve esculini hidrolize edemeyen,  $\alpha$ -hemolitik bir streptokoktur. Sakkarozdan ekstrasellüler polisakkarit oluşturmazlar. Peroxidojeniktirler, sorbitol, mannitol ve inulini fermente edemezler. Özellikle keratinize olmayan mukozada, yanak, dudak ve dilin ventral yüzünde bulunurlar (19,40,41,42,63,87). İnsan tükürüğünden, dental plak, feçes, klinik enfeksiyonlardan, izole edilmektedir (42).

#### 1.2.3.3. *Streptococcus salivarius*:

Sferik veya oval hücreler, kısa veya uzun zincirler halindedir.  $O_2$  varlığında ve uygun ortam üzerinde büyürler. Sorbitol ve mannitolü fermente edemezler, kan agarı üzerinde non hemolitikler ve peroksidojenik değildirler. Bazen  $\alpha$  veya  $\beta$  hemoliz yapan suşlarda vardır. Plak, boğaz, nazofarinks ve oral mukozada bulunmalarına karşılık asıl yerleri, dilin dorsumudur. Tükürüğün streptokok florasının, dominant kısmını oluştururlar (40,42,87,108).

Hamsterlerde kolonize olabilirler ve orta derecede çürük aktivitesi meydana getirirler. Deney hayvanlarında bir veya iki türünün çürük oluşturduğu saptanmıştır. İnsanlardaki çürük etkileri çok düşük seviyededir. Sakkarozdan ekstrasellüler polisakkarit olarak fruktan (levan) üretirlerken, bazı suşları ise insoluble glukun (dextran) üretmektedir. En az iki serotipin varlığı bilinmektedir. İnsan ve hayvanlarda özellikle dil üzerinden, tükürükten ve feçesten izole edilmektedir (42,87,108).

#### 1.2.3.4. *Streptococcus milleri*:

Milleri ismi, dental apselerden izole edilmiş olan streptokoklar için verilmiştir. Arginin parçalarlar ve mannitol ile sorbitolü fermente edemezler. Sakkarozdan ekstrasellüler polisakkarit oluşturmazlar ve peroksitleri de üretmezler (42,108).

Sferik veya ovoid hücreler, uzun veya kısa zincirler halindedir. Bazı suşları, katı ortamda  $CO_2$ ' e gereksinim gösterirler.  $H_2O_2$  ve ekstrasellüler

polisakkaritler üretmezler. Ratlarda diş çürükleri oluşturan bazı türleri bulunmaktadır. Sağlıklı ağızlarda, diş yüzeylerinden, gingival sulcuslardan, nazofarinksten, vagina ve feçesden izole edilmektedir (42).

*S. milleri*, son zamanlara kadar oral floranın bir türü olarak kabul edilmemiştir. Dental çürükte veya ağızdaki rolü bilinmemekle birlikte bu organizmanın vücudun diğer kısımlarında, lokalize apse birikimleri (beyin ve karaciğer apselerinde) ile ilgili olduğu belirtilmiştir. *S. milleri*; ismi tüm araştırmacılar tarafından kabul edilmemektedir ve literatürde *S. anginosus* gibi çeşitli sinonimleri bulunabilir (108).

#### 1.2.3.5. Mutans Streptokok Grubu:

*S. mutans*, ilk defa 1924' te Clarke tarafından insan çürük lezyonlarından izole edilmiş ve bunlar gram boyamada daha oval ve streptokokların daha mutant bir formu olduğu için bunlara *S. mutans* adı verilmiştir (23). Clark' ın *S. mutans'* ı insanlarda çürükten izole etmesine karşılık diğer araştırmacılar *S. mutans'* ı izole edememişlerdir. 1960' lı yıllarda ise *S. mutans* tekrar çürükten izole edilmiştir. Mutans grubu özellikle son otuz yıldır insanlarda çürük oluşturmaları sebebiyle oldukça ilgi çekmektedir (40,70,72).

Yapılan çeşitli taksonomik incelemeler, bu organizmanın hareketsiz, katalaz negatif, Gram (+) koklar şeklinde, oldukça homojen bir grup oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Kısa veya orta zincirler halindedirler. "Mitis Salivarius" agar üzerinde konveks koloniler oluşturur. Bu koloniler opak, yüzeyleri donmuş camı andırır, kültür ortamına bağlı olarak koloni morfolojisi çok dıvefjandır (40,41,42,87).

Tablo-3' de gösterildiği, gibi mannitol ve sorbitolü ve ayrıca diğer çeşitli şekerleri fermente eden ve sakkarozdan suda çözünebilir yapışkan glukan sentezleyen streptokok türlerinin çoğunun *S. mutans* olduğu belirtilmiştir. Bu organizmalar genellikle argininden amonyak oluşturmayıp, kan agarı üzerinde  $\alpha$  ve  $\beta$  hemolitikdir (40,42,72,87).

Diğer oral streptokokların aksine, *S. mutans* sülfonamidin düşük konsantrasyonlarında (noninhibitör) dahi kültüre edilebilir. *S. mutans'* ın bu özelliği izole edilebileceği seçici kültür ortamlarının hazırlanmasında temel teşkil eder. Daha da iyi seçiciliği olan ortam ise sadece 2 serotipi dışında diğer bütün streptokokları baskılayan % 20 sakkaroz ve 0.2 unite/ml basitrasin içeren mitis-salivarius (MSB) agardır (87,114).

*S. mutans'* ın doğal olarak bulunduğu yer, insan ağızıdır. Bu organizma, çoğunlukla insanlar ve sıçanların dışkılarından izole edilebilmekte, buna karşılık

vahşi hayvanlarda yaygın bir durum göstermemektedir. *S. mutans*, deneysel ratlar ve hamsterlerden, rhesus maymunlarından ve şeker kamışı alanlarında yaşayan yabani ratlardan da izole edilmiştir (40,42).

#### 1.2.3.5.1. Mutans streptokokların sınıflandırılması:

*S. mutans*' lar immünolojik, biyolojik ve genetik özelliklerine göre çeşitli tiplere ayrılabilirler (40). 1960' ların sonunda; *S. mutans* a, b, c, d, e şeklinde beş serotip içinde sınıflandırılmıştır. 1974'lerde tanımlanan f ve g serotiplerinin daha önce tanımlanan serotiplerle çok yakın ilişkili olduğu görülmektedir. Karbonhidrat antijenleri esas alındığında ise 8 serotip olduğu belirtilmektedir (72).

*S. mutans*' larla yapılan detaylı çalışmalarda, spesifik antijenlere dayanarak 60 tipe ayrılmıştır. Bunların ve özellikle insan plağından veya çürük lezyonundan izole edilen 50 tipi Serotip c grubuna aittirler. Birçok ülkede alınan dental plak örneklerinde yapılan araştırmalarda serotiplerine göre incelendiğinde c, d ve e' nin yaygın olarak bulunduğu, a ve b' ye daha az rastlandığı tespit edilmiştir (40,87).

Son yıllarda "Mutans streptokoklar" olarak isimlendirilen bu grubun; biyokimyasal, serolojik ve genetik olarak incelendiği zaman oldukça fazla heterojenite sergilediği görülmektedir (Tablo-3). Bu çalışmaların sonucu olarak "Mutans streptokoklar":*S. mutans, S. sobrinus, S. cricetus, S. rattus, S. macacae, S. ferus, S. downei* olmak üzere yedi farklı türe ayrılmaktadırlar. Bunlardan son üçü insan orijinli değildir (40,70,72).

*Rattus* ve *cricetus* (Serotip b ve a) ratlardan izole edilen mutans streptokoklardır. *S. mutans, S. sobrinus, S. rattus* ve *S. cricetus*' un hayvan deneylerinde karyojenik olduğu belirlenmiştir. Bu benzerlikler sonucu çoğu araştırmacılar tüm mutans streptokok grubu için spesifik ad olan *S. mutans* adını kullanmışlardır. Gerçekte bunlar birbirinden tamamen farklıdır ve hepsine *S. mutans* demek hatalıdır (40,41,72).

**1.2.3.5.1.1. Streptococcus rattus (Serotip b):** 0.5 µm çapında, Gr (+) koklar ve zincirler halindedir. Arginin ve esculini hidrolize ederler, fakat nişastayı edemezler. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretmezler. Sakkarozdan extrasellüler glukoz üretirler. Genellikle havada büyürler, fakat CO<sub>2</sub> ilaveli O<sub>2</sub> atmosferinde gelişirler. *S. rattus* öncelikle laboratuvar ratlarından daha sonrada insan ağızlarından izole edilmiştir. *S. mutans*' ların serotip b olarak adlandırılan türüdür. *S. rattus* diğer *S. mutans* suşlarından daha az olarak insanlardan izole edilmektedir (42).

**Tablo-3. Mutans streptokok grubu içindeki türlerin biyokimyasal özellikleri (40,42).**

Karakteristik	<i>S.mutans</i>	<i>S.sobrinus</i>	<i>S.cricetus</i>	<i>S.rattus</i>	<i>S.macacae</i>	<i>S.downei</i>	<i>S.ferus</i>
<b>Asit Üretimi:</b>							
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	d	+	+	+	-	+
Melibioz	+	d	+	+	-	-	-
Raffinoz	+	d	+	+	+	-	-
Inulin	+	-	+	+	-	+	+
Dekstrin	-	-	-	-	-	ND	+
Nişasta	-	-	-	-	-	-	+
<b>Hidroliz:</b>							
Arginin	-	-	-	+	-	-	-
Eskulin	+	d	d	+	+	-	+
Glikojen	-	ND	ND	ND	-	-	+
<b>Üretimi:</b>							
Acetoin	+	+	+	+	+	+	+
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	+	-	-	-	-	-
Basitrasine di- rençlilik	+	+	-	+	-	-	-
Hücre çeperi karbonhidratları	Glikoz ramnoz	Glikoz galaktoz ramnoz	Glikoz galaktoz ramnoz	Galaktoz ramnoz	Glikoz ramnoz	Gluktoz galaktoz ramnoz	glikoz ramnoz
Serotip	c,e,f	d,g	a	b	c	h	c

ND:Tayin edilmemiş

**1.2.3.5.1.2. Streptococcus cricetus (Serotip a):** 0.5 µm çapında, Gr (+) koklar ve zincirler halindedirler. Sakkaroz agar üzerinde 1 mm çapında, pürüzlü, küme halinde, sıklıkla parlak ve extrasellüler glukan likiti ile çevrilidir. Koloniler kan agarında 2-3 mm çapında düzgün ve yuvaraktır. Bazı suşları, α-hemoliz zonları oluşturur, fakat genellikle nonhemolitiklerdir. Fakültatif anaerobik olup CO<sub>2</sub> ilaveli O<sub>2</sub> atmosferinde en iyi şekilde büyürler. Argininden amonyak üretmezler. Genellikle hippurat veya nişastayı hidroliz ederler. Hamsterlardan, yabani rat ve bazen de insanlardan izole edilmektedir (42).

**1.2.3.5.1.3. Streptococcus sobrinus (Serotip d/g):** 0.5 µm çapında, Gr (+) koklar ve çoğunlukla uzun zincirler halindedir. Sakkaroz agar üzerinde koloniler, yaklaşık 1 mm çapında, pürüzlü, kümeler halindedirler. Çoğunlukla, kolonilerin etrafında veya üzerinde glukan içerikli likitler damlalar halinde görünmektedir. Bazı suşları kan agarı üzerinde α-hemolitik olup diğerleri



nonhemolitikdir. Argininden amonyak üretmezler. Birçok suşları  $H_2O_2$  üretirler ve esculini hidroliz etmezler. İnsan diş yüzeyleri üzerinde bulunurlar. *S. sobrinus* suşları deney hayvanlarında karyojeniktir ve insan diş çürüklerinde de bulunmaktadır (42).

**1.2.3.5.1.4. *Streptococcus ferus* (Serotip c):** İlk defa yabani ratlardan izole edilmiş ve tanımlanmıştır.  $0.5 \mu m$  çapında, Gr (+) koklar ve zincirler halindedir. Sakkaroz agar üzerinde koloniler 1 mm çapındadır. Sakkarozdan hem extrasellüler hemde intrasellüler glukanlar oluştururlar. Argininden amonyak üretirler. *S. ferus* suşları, *S. mutans* tip c antiserumu ile benzemektedir. Fakat DNA homoloji çalışmaları, bunların farklı bir genetik grup oluşturduklarını göstermektedir. Bu organizma, sadece vahşi ratların ağızlarından izole edilmiş olup insanlarda bulunmamaktadır (40,72).

**1.2.3.5.1.5. *Streptococcus macacae* (Serotip c):** İnsan orijinli değildir. Mutans streptokok grubunda yer alır. Son zamanlarda bu serotip c' nin (maymunlardaki) *S. mutans*' tan çok farklı olduğu ortaya çıkmıştır (42,72).

**1.2.3.5.1.6. *Streptococcus downei* (Serotip h):** İnsanlardan izole edilememektedir. Mutans streptokoklar grubu içindedir (42).

**1.2.3.5.1.7. *Streptococcus mutans* (Serotip c/e/f):** 1924 yılında Clarke tarafından tanımlanmıştır (23). Yaklaşık  $0.5-0.75 \mu m$  çapında, Gr (+) koklar, kısa veya orta uzunlukta zincirler halinde ve kapsülsüzdür. Sıvı ortamlarda asit koşullarda ve bazı katı ortamlarda,  $1.5-3.0 \mu m$  uzunluğunda kısa çubuklar halinde görünürler. Hareketsizdirler, katalaz-negatiftir (40,42,72).

Kan agarında, 2 günlük anaerobik inkübasyonda koloniler beyaz veya gri renkte,  $0.5-1.0 mm$  çapında, bazen oldukça sert ve besiyeri üzerinde yapışık durumdadır. Genellikle  $\alpha$  veya non-hemolitiklerdir, fakat  $\beta$ -hemolitik suşları da bulunmaktadır (42).

Sakkaroz içerikli agar üzerinde (MSA veya TYC) birçok suş yaklaşık 1 mm çapında, pürüzlü, kümeli koloniler oluştururlar. Boncuk, damlacık veya birikintiler şeklinde sıvı (çözünür extrasellüler polisakkarit üretimi) koloniler üzerinde veya etrafında bulunur. Bazen düzgün formda veya mukoid koloniler de bulunabilir. Birçok suş havada büyüyebilir, fakat anaerobik olarak daha fazla büyürler. En iyi büyüme ortamı;  $N_2 + CO_2$  ortamıdır. İdeal gelişme sıcaklığı  $37^\circ C$  olmasına karşın, bazı suşları  $45^\circ C$ ' de de geliştiği halde  $10^\circ C$ ' de gelişemezler (42,63).

Glikoz, homolaktik fermentasyon ile fermente edilir. Birçok suşu, mannitol, sorbitol, rafinoz, laktoz, inulin, salisin, mannoz ve trehalozdan asit üretir, fakat arabinoz, xyloze, glycerol veya melesitozdan asit üretemezler (42).

*S. mutans* suşları sakkarozdan, ağızdaki sert doku yüzeylerinde kolonizasyonlarında çok önemli olan extrasellüler polisakkaritleri oluştururlar. *S. mutans*' ların mutant suşlarının karyojeniteleri bunların extrasellüler polisakkarit üretmeleri ile ilgilidir (40,72,119).

Oral streptokokların dağılımı üzerinde yapılan çalışmalarda, insanlarda *S. mutans*' in varlığı ve *S. sobrinus*' un daha düşük derecede olması ve dental çürüklerin yaygınlığı arasında direkt bir korelasyon gösterilmiştir. Birçok ülkede, insanların % 80-90' ının dişlerinde *S. mutans*' in kolonize olduğu ve dental çürüklerin neredeyse evrensel bir fenomen hal aldığı belirtilmektedir (16,70).

#### 1.2.3.5.2. Mutans Streptokoklar ve Diş Çürükleri:

Dental plak çeşitli bakterileri barındırmasına rağmen dental çürüklerin mikrobiyal etiyojisi öncelikle mutans streptokokların metabolik aktivitesi ile ilişkilidir (3,20,41,43). Bilindiği gibi mutans streptokoklar diş yüzeyleri üzerinde sakkarozdan ürettikleri ekstrasellüler, suda çözünmeyen polisakkaritleri biriktirme ve yapıştırma kapasitesine sahip olup oldukça asidojenik ve asidüriktirler. Ayrıca karbonhidratlardan, çürük potansiyelinde önemli olan intrasellüler polisakkaritleri (IPS) de sentezlemektedirler. Mineye absorbe olan çeşitli tükürük glikoproteinlerini metabolize etme yeteneğindedirler ve mine matriksini hidroliz edebilen, asit fosfataz üreterek mineden çıkan fosfor yerine kendi bakteriyel hücrelerini yerleştirirler. Bu özellikler diğer oral bakteriler de bulunmasına rağmen dental çürükler konusunda en önemli bakteriler mutans streptokoklardır (20,66,70,72,82).

Streptokokların karyojenitesi ile ilgili insan çalışmaları, öncelikle mutans streptokok grubunu temsil eden *S. mutans* ile ilişkili olup insanlarda bulunabilen diğer mutans türlerine daha fazla dikkat çekilmesi gerekmektedir (41,70). Örneğin *S. mutans*' a zıt olarak insan çürüklerinde *S. sobrinus*' un rolü henüz çok açık değildir (40,70).

#### 1.2.3.5.3. Mutans Streptokokların Epidemiyolojisi:

Çeşitli insan popülasyonları ile yapılan çalışmalarda mutans streptokok grubunun, dünya üzerinde çok geniş bir dağılım gösterdiği gözlenmiş ve çoğu bireylerin bu mikroorganizmaları barındırdığı gösterilmiştir (8,20,27,49,50,58,61,70,121,122). Bu çalışmalara bakıldığında, *S. mutans* suşlarının hakim olduğu ve *S. sobrinus* ile birlikte insanlarda en yaygın rastlanan mutans streptokok

türlerini oluşturduğu görülmektedir (1,9,21,66,70). *S. mutans* çoğunlukla sadece tek mutans türü olarak bulunurken *S. sobrinus* genellikle *S. mutans* ile birlikte aranmaktadır. Bazı çalışmalarda ise *S. sobrinus*' un tek izole edilen mutans türü olduğu da belirtilmiştir (9). Ayrıca çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda *S. rattus* ve *S. cricetus* düşük oranlarda bulunmuştur (20,72).

#### 1.2.3.5.4. Mutans Streptokokların Yaygınlığı (Prevalansı):

Mutans streptokokların başlıca yerleşim bölgeleri, oral kavite içindeki dişlerdir. Bu mutans streptokokların ağızdaki yüzeylere tutulma kapasiteleri oldukça düşük ve zayıftır. Kalıcı bir şekilde kolonizasyon oluşturabilmeleri için dişlere veya düzgün yüzeylere ihtiyaç duyarlar. Başlangıçtaki diş yüzeyine tutunmanın, mutans streptokokların yüzey komponentleri olan piluslar ile mine pelikülünde bulunan tükürük bileşenleri arasındaki etkileşimler sonucu meydana geldiği düşünülmektedir (61,70).

Tükürük, tüm mikroorganizmalarla reaksiyona girebilen glikoproteinler, immünoglobulinler, laktoperoksidoz, lizozim ve laktoferin gibi antibakteriyel sistemleri içermektedir. Bu bileşenler arasındaki etkileşim, sadece bakteriyel yapışmayı sağlamakla kalmayıp, keza dişlere bakteriyel bağlanmayı inhibe etmesiyle de ağızda bakteriyel temizliği sağlayan önemli bir göreve sahiptir. Diş üzerinde, mutans streptokokların birikimi ve kolonizasyonunda en önemli bileşikler sakkarozdan sentez edilen, suda çözünmeyen glukoz olan extrasellüler polisakkaritlerdir. Dişlerin etrafında lokalize olan bu bileşikler, hem mikroorganizmaların pelikule adezyonunu, hem de hücrenin hücreye adezyonunu sağlarlar (70).

Mutans streptokokların insan ağızına yerleşmesi ve enfeksiyonu farklı faktörlere bağlıdır. Bunlar, immünoglobulinler gibi oral sekresyonların farklı bileşenleri, immunoglobulin olmayan savunma faktörleri, sakkaroz bulunabilirliği, organizmanın yüzey özelliklerindeki varyasyonlar ve yerleşik floranın az veya çok bir antagonizma göstermesi gibi faktörlerdir (40,70). Farklı dental bölgelerde, mutans streptokokların yerleşmesini etkileyen özel ekolojik koşullara sahiptirler. Buna göre mutans streptokoklar dişlere homojen bir şekilde kolonize olmamaktadır (70). Dişlerin sürmesinden sonra, mutans streptokoklar öncelikle çürümeye eğilimli bölgeler olan oklüzal fissürlerde kolonize olmaktadır. Aproksimal diş yüzeylerin molar bölgede, anterior bölgeden daha fazla sayıda mutans streptokok ile enfekte edilen yerler görüldüğü belirtilmiştir (70,72).

*S. mutans*' in başlangıç yerleşimi ağızda, dişlerin sürmesinden kısa bir süre sonra meydana geldiği için, infantların organizmaları annelerinden

kazandığı görülmektedir. *S. mutans*' in anne-çocuk geçişi çürüğü, birkaç araştırma ile gösterilmiştir. *S. mutans*' in aynı serotipi veya bacteriosin (mutacin) tipi, hem anne, hem de çocuklarından izole edilmiş olup transferi gerçekleştiren aracın tükürük olduğu belirtilmiştir (41,49).

#### 1.2.3.5.5. *Streptococcus mutans*' in Diş Yüzeylerine Tutunması:

*S. mutans*' in diş yüzeylerine invaze olabilmesi ve yapışabilmesi özelliği onu, *S. sanguis* ve *S. mitior* gibi nonpatojenik olarak bilinen diğer streptokoklardan ayırmaktadır. *S. mutans*' in virulans özelliklerinin, dişleri kaplayan kazanılmış pelikül ve bakteri yüzeyi üzerindeki virulans determinantları arasında oluşan spesifik ve nonspesifik etkileşimlerden kaynaklandığı öne sürülmektedir (41). Diş yüzeyinde bakteriyel tutunma, genellikle tükürük orijinli bir pelikülün oluşumuyla ilerletilmektedir. Temizlenmiş diş yüzeyleri üzerinde, müküler hareketler ve tükürük akışının lokal temizleyici kuvvetlerine direnç göstermek için yeteri kadar sağlam peliküle hücrenin bağlanması gerekmektedir (40). Bu bağlanma, seçilmiş bakteriyel türler ile pelikül komponentlerinin spesifik etkileşimi sebebiyle olmaktadır.

Bir yüzeye *S. mutans*' in yapışması, bakteriyel hücrelerin başlangıç ataşmanını takiben hücre akümülyasyonu ve irreverzibl sıkı bağlanma tarafından izlenen iki basamaklı bir fenomendir. Kıvrıkcık yüzeyli tüyler veya fibriller, yüksek moleküler ağırlıklı antijen proteinleri, lektin benzeri yapılar ve lipoteichoic asit gibi çeşitli yüzey komponentleri ilk basamakta önemli rol oynamaktadırlar. *S. mutans*' in yapışmasındaki ikinci basamak; yüzey üzerine hücrelerin akümülyasyonu şeklindedir. Bu da, sakkarozdan oluşturulan suda çözünmez glukanlar vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Diyetle bulunan sakkaroz bu reaksiyonlar için yeterli olmaktadır (41).

#### 1.2.3.5.6. *Streptococcus mutans*' in Şeker Metabolizması:

*S. mutans*, homofermentatif bir laktik asit bakterisi olmasına rağmen, *S. mutans*' ta glikozun metabolik yol izi ortam koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Özellikle organizma fazla glikoz varlığında üretildiği zaman, *S. mutans*' in başlıca fermentatif ürünü laktat olup glikoz sınırlandığı zaman ise laktata ilaveten önemli miktarlarda, format, asetat ve etanol üretmektedir (40). Sakkaroz, ekstrasellüler glukan sentezi için substrat olarak rol oynamasına ilaveten, *S. mutans*' in büyümesi boyunca enerji kaynağı olarak da iş görmektedir. *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis* ve *Actinomyces viskosus* gibi diğer ağız bakterilerine göre daha hızlı bir oranda kullanılmaktadır. Ayrıca *S. mutans* uzatılmış bir inkübasyondan sonra laktik aside çevrilebilen sakkarozdan

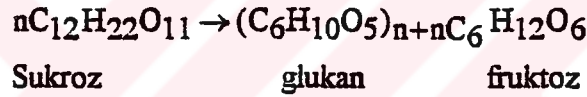
önemli miktarlarda intrasellüler polisakkarit üretmekte ve sakkaroz ve sellülozun yüksek seviyeleri bulunduğu zaman mannitol de üretmektedir (40,41,72).

Sakkaroz varlığında, *S. mutans*, glikozda olduğu gibi aynı eksponansiyel oranda büyümektedir. *S. mutans* sakkaroz, glikoz ve laktozu, hücre içine membranla ilişkili PEP bağlantılı glükoz fosfotransferaz sistemi ile sokmaktadır (40,72).

#### 1.2.3.5.7. *Streptococcus mutans* Tarafından Oluşturulan Polimer

##### Sentezi:

Ekstrasellüler polisakkaritler *S. mutans* sakkarozdan, GTase ve Fruktozil Transferase (FTase)' in enzimatik aktivitesi ile Glukanlar ve Fruktanlar olarak isimlendirilen bileşikler oluşturur. Bu polisakkaritler, özellikle glukanlar, dental plak oluşumunda ve dolayısıyla da dental çürüklerin patogenezisinde oldukça önemlidir(11). Çünkü, glukanlar sentezlendikleri zaman, tutunma yeteneğini önemli ölçüde arttırmaktadırlar (40,72).



**Glukanlar:** Genel olarak bütün bakteriyel glukanlar ( $\alpha/1-6$  ve  $\alpha/1-3$ ) glikozitik bağlanı içermektedirler. Eskiden yapılan araştırmalarda, *S. mutans* tarafından linear dekstran olduğu düşünülmüştür. Sakkaroz içeren sıvı ortamda oluşan *S. mutans* glukanların çoğu hücre ile birleşik bir formdadır. *S. mutans'* tan gelen GTF' nin karakterizasyonu ve glukan ürünlerinin analizi yıllardır araştırmacıların konusu olmuştur. *S. mutans*, ekstrasellüler GTF' nin multiple formlarını sentez etmektedir. Belli şartlar altında *S. mutans* hücre yüzeyine bağlanır ve sakkarozdan yeni sentez edilmiş insoluble glukanlar yolu ile hücre dışı ve hücre-hücre bağlanmalarını teşvik etmektedirler (41,72).

**Fruktanlar:** *S. mutans'* in belli türleri, sakkarozdan gelen glukanlara ek olarak, fruktanları sentez ettiği belirtilmiştir. Bu çalışmaların ilk yıllarında, fruktanın;  $\alpha(2\rightarrow6)$  fruktofuranoside bağlantılarından ibaret olan levan olduğu düşünülmüştür. *S. mutans'* in fruktanları hem suda çözünür hem de suda çözünmez basamaklarda meydana gelir ve fruktanların üretimi kültürel koşullara dayanarak tipten tipe değişmektedir (40,72).

**Intrasellüler Polisakkaritler:** Plak bakterilerinin bir çoğu, çeşitli şekerlerin yüksek konsantrasyonlarında iodin ile boyanan intrasellüler polisakkaritleri sentez etmektedirler. *S. mutans* türleri çoğunlukla *S. mutans'* in

patogenitesine katkıda bulunan bir depo intraselüler polisakkarit (IPS) üretmektedir(11). Depo IPS; eksojen şekerlerin yeterli olmadığı veya hiç bulunmadığı durumlarda asit kaynağı olabilmektedir. Serotip d ve g türleri, serotip c ve e türlerinden daha az IPS üretmekte ve metabolize etmektedir. Fakat IPS' nin *S. mutans* karyojenitesi için önceden gerekli olmadığı belirtilmiştir. IPS;  $\alpha$  amilaza hassas  $\alpha(1\rightarrow6)$  ve  $\alpha(1\rightarrow4)$  bağlanmaları ile glikojen benzeri bir glukandır. *S. mutans'* ta IPS sentezinde Glukose-glikojen, glikosil transferaz ve adenosin difosfat (ADP) enzimleri rol oynamaktadır (40,72).

*S. mutans* türlerinin çoğu, dış şekerlerin varlığında, intrasellüler glikojen benzeri polisakkaritleride sentezlemektedir. Bu organizmalar, dış kaynaklı şekerler olmaksızın, ek asitler üretimiyle, daha düşük bir pH oluşturarak, intrasellüler polisakkaritleri parçalamaktadırlar. Bu sonuçlara göre, plakta intrasellüler polisakkarit üreten *S. mutans'* ların aktiviteleri uzun bir süre asit oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (41).

#### 1.2.3.5.8. Asit Üretimi:

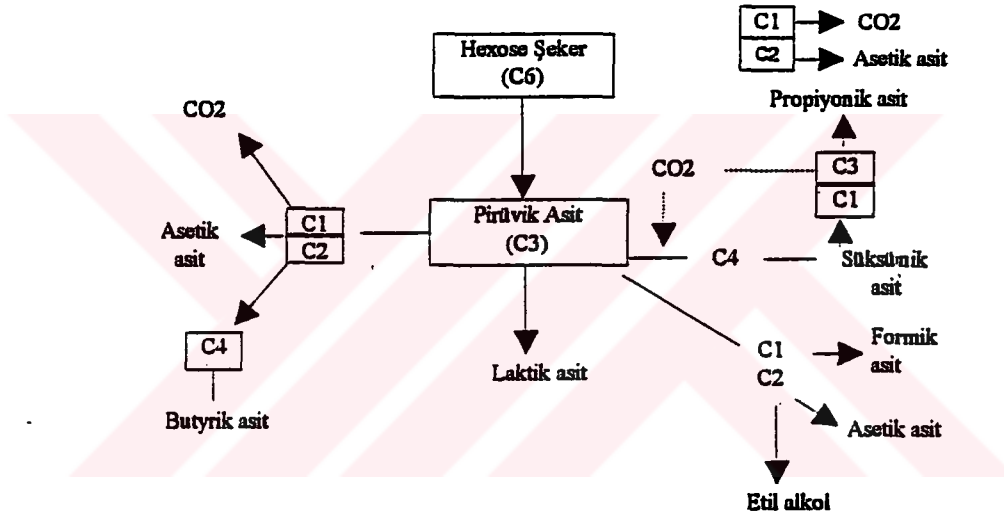
*S. mutans'* ın, güçlü bir asit üreten organizma olduğu ve en fazla üretilen asitin de, laktik asit olduğu bilinmektedir. Tatlandırıcılar ve yiyeceklerdeki şekerlerin bir çoğu, plak bakterileri ve *S. mutans* tarafından asit üretimi için temel maddelerdir. Ayrıca dış çürüklerini oluşturabilmek için, bir bakterinin, belirli özelliklere sahip olması gereklidir. Bunlar: dişlere kolonizasyon, lokal nötraliteyi aşacak oranda asit oluşturabilme, asidin dışarı doğru difüzyonu bunları mine çözünmesi için kritik pH' dan daha düşük bir pH' da sürdürebilmektir (20,25,41,72).

Sakkarozun insan başına tüketimi, diğer mono veya disakkaritlerden daha yüksek olduğu için asit üretme işleminde sakkaroz en önemli şekerdir. *S. mutans'* ın sakkarozdan ve diğer fermente olabilen karbonhidratlarla düşen pH' ı daha da düşürülmesi ve mine yüzeyinin dekalsifikasyonunu kolaylaştıran asidik ortamda yaşayabilmeleri ve üreyebilmeleri, onların en önemli özellikleridir (41,72).

Şeker metabolizmasındaki piruvatın asidik son ürünleri; laktat, format ve asetatdır. Bu son ürünlerin oranları, mevcut karbonhidratların konsantrasyonu tarafından saptanmakta ve düşük konsantrasyonlarda başlıca format ile asetat, yüksek konsantrasyonlarda ise laktat baskındır (20,41,57). *S. mutans*, anaerobik şartlar altında etanol, laktik asit, formik ve asetik asit üretirler. fermentasyonda esas rolü oksijene hassas olan pyruvate formate-lyase oynamaktadır(41)(Şekil-2). Daha yüksek konsantrasyonda asit üretiminden

sorumlu anahtar enzim, Laktat dehidrogenaz (LDH) dir. Bu enzimin aktivitesi, fruktoz 1.6-difosfat (FDP) nin intrasellüler konsantrasyonuyla düzenlenmektedir (20). Karbonhidrat, konsantrasyonu ortamda düşük olduğunda, FDP' nin intrasellüler miktarı da düşük olacağından LDH inaktiftir ve oluşan piruvat, piruvat-format lyase ve uygun enzimlerin etkisiyle format ve asetata metabolize olmaktadır. Eğer FDP konsantrasyonu artarsa bununla beraber LDH aktivitesi ve son ürün olarak laktata dönüşüm artacaktır (20,72).

*S. mutans* ve diğer oral streptokoklar, protein hareket ettirici sistem ve fosfotransferaz sistemi aracılığıyla fosfoenol pirüvate (PEP-PTS) tarafından çoğu şekerleri hücre içine nakletmektedirler(41,72).



**Şekil-2. *S. mutans* tarafından oluşturulan heksoz şekerlerin son ürünleri olan farklı asitlerin görünümüleri**

#### 1.2.3.5.9. *Streptococcus mutans*'in Hücre Çeperi

*Streptococcus mutans*' in hücre çeperinin yapısı türe bağlı olup peptidoglukan ve gliserol-teichoic asit içermektedir. Hücre çeperinin makromoleküler komponentlerinin bir çoğu hücre yüzeyinde de yer almakta ve anti *S. mutans* aşılılarının hazırlanmasında önem taşımaktadır (43,87).

*S. mutans* hücre çeperi ile ilişkili veya hücre çeperi içinde yerleşmiş çeşitli antijenik yapısal komponentlere sahiptir. Bu komponentler peptidoglukan, serotipe özgü karbonhidrat ve lipoteikoik asit (LTA) gibi, hücrenin en dış tabakasındaki glikoproteinleri içermektedir. Bunlardan bazıları, organizmanın dış yüzeylerine yapışmasında rol oynamaktadır (43).

**S. mutans** karbonhidrat antijenlerinin serolojik özgünlüğüne göre 8 serotipe ayrılmıştır. Bu antijenler; serotip a, d, g ve h' de galaktoz ve glikoz serotip c, e ve f de glikoz ve rhamnozdan ibaret olan heteropolisakkaritlerdir. Serotip b antijeninin, karbonhidrattan ziyade, teichoic asit hücre çeperi olabildiği görünmektedir (41,43).

Peptidoglukan (PG), bakteri hücrelerinin rijiditesinden sorumlu bir heteropolimerdir. PG; kısa peptidler tarafından çapraz bağlanan glycan tellerinden ibaret olup PG' nin peptit bölümü, türlerle göre farklılıklar göstermektedir. Alanın, glutamik asit ve lysine serotip a, b, c, e, ve f de bulunurken, serotip d ve g' de bu üç aminoaside ek olarak threonin bulunmuştur (41,43).

#### **1.2.3.5.10. S. mutans' a Karşı İn vivo İmmün Reaksiyonlar:**

İnsanlarda diş çürüklerinin gelişmesinde **S. mutans'** ın ilgisini saptamak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Çürükler ve **S. mutans'** a ait antikorlar arasındaki ilişkiler araştırılmış ve düşük çürük eğilimli kişilerde yüksek çürük eğilimlilere göre IgG seviyelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, tükürük antikorlarının, insanda diş çürüklerinin azalmasıyla ilişkisi olduğunu düşündürmektedir. Son yıllarda kemiriciler ve maymunlardaki deneysel çürük sistemlerinde saflaştırılmış antijenik komponentler veya **S. mutans** hücre çeperleri veya tüm hücreleri, çürük aşısı için uygulanmıştır (40,41).

#### **1.2.3.5.11. S. mutans' lann Seçiciliği:**

**S. mutans'** lann diğer oral streptokoklardan ayrılması, serolojik metotlarla mümkündür. Epidemiyolojik çalışmaların büyük bir çoğunluğu, katı ortam üzerinde farklı kültürasyon yöntemleri ile yapılmıştır (20).

**S. mutans'** lann izolasyonu için birçok seçici ortam geliştirilmiştir. Bu ortamlar, MS-Agar (13,26), TYC-Agar (56), MMIOS-Agar (72,119), MSB-Agar (32), TYCSB-Agar (8,56,120), TYS20B-Agar (2,120), GSTB-Agar (55). Bacitrasin (0.2 unit/ml) ve sakkaroz (% 20 w/v) eklenerek modifiye edilmiş MSB-Agarı (Mitis Salivarius Sucrose Basitrasin Agar) bugün en yaygın olarak kullanılan ortamdır. (27,32,56,71). MSB agar' da, **S. mutans** kolonilerinin c/e/f serotipleri, tipik buzlu cam görüntüsündedir (27,32,114,115), **S. sobrinus'** lann d/g serotipleri ise kremalı, kurabiye kıvamında donuk granüllü yüzeyi, griden kahverengiye çalan rengi ve sıklıkla kolonilerin üst kısmının çevresinde bir miktar sıvı bulunmaktadır (115). MSB agarına alternatif olarak glikoz-sakkaroz-potasyum tellürit basitrasin (GSTB agar) araştırmacılar tarafından seçici besiyeri olarak çalışma kapsamına alınmıştır (56,115).



### 1.3. DENTAL PLAK

Dişlerin yüzeyinde, esas olarak ekstrasellüler polimerlerden oluşan bir matriks içerisinde bakteriyel hücrelerden ve tükürük ürünlerinden meydana gelen film "Dental Plak" olarak isimlendirilmektedir (16,89). Diş yüzeyi, kazanılmış mine pelikülü olarak bilinen (AEP) seçici olarak adsorbe eden sert bir yüzeydir. Vücuttaki diğer sert dokulara göre farklıdır. Kazanılmış mine pelikülü (AEP), 0.1 ile 3 µm' ye değişen kalınlıkta, amorföz bir membran tabakasıdır. Çok sayıda, sülfat ve karboksil grubu içerir. Bu pelikül, sonradan diş yüzeylerinin negatif yükünü arttırmaktadır. Bakteriler de negatif yüke sahip olduklarına göre diş yüzeyi ile diş yüzeyine yaklaşan bu tip bakteriler arasında başlangıçta bir itme oluşmakta plak oluşumu başlayınca bu savunma mekanizması ortadan kalkmaktadır (72,87).

Plak oluşumu için, farklı mekanizmalardan söz edilmektedir. Bunları, asit presipitasyonu, enzim presipitasyonu, selektif veya nonselektif mikrobiyal bağlanma teorileri olarak özetleyebiliriz. Kazanılmış mine pelikülüne, *S. sanguis* ve *S. mitis* tarafından oluşturulan başlangıç kolonizasyonunu en iyi selektif bağlanma teorisi açıklamaktadır (72,87).

Düzenli diş yüzeylerinin bakterial kolonizasyonu, tek bir bakteri hücresinin sıkıca bağlanmasını takip eden mikrokolonilerin büyümesi sonucu meydana gelmektedir. Yeni temizlenmiş diş yüzeyinde başlayan ilk kanıt, tükürükten, asidik glikoproteinlerinin bağlanmasıyla şekillenen birkaç mikrometre kalınlığında ince bir film oluşumudur. Bu glikoprotein filminin kolonizasyonu, oldukça spesifiktir ve içinde sadece streptokokların birkaç türü (öncelikle *S. sanguis*, *S. sabrinus*, *S. mitis*) bulunmaktadır. Bu organizmaların yaygın büyümesinin bir sonucu olarak, kalın bir bakterial zon oluşturulmaktadır. Daha sonra, bu plakta diğer organizmalar da kolonize olur. Olgun plakta, *Actinomyces* gibi, filamentöz organizmalar dominant hale geçebilirler. Dental plağın gelişmesinde, çeşitli ağız bakterilerinin plak matriksini oluşturmak için agregat oluşumu en iyi kanıttır. Koagregat oluşturma, organizmaların birbiriyle sıkıca yapışması, bakteri hücrelerinin üzerindeki komplemental yüzey moleküllerinin bağlanması ve tanınması olarak tarif edilmektedir. Burada ilginç olan, koagregasyonun, aynı türün hücreleri arasındaki etkileşimleri sınırlandırılmamış olmasıdır. Eğer iki organizmanın yüzey reseptörleri komplementer ise, dental plak oluşturmada farklı türler ve hatta farklı genusların koagregasyonu oluşabilmektedir (16,72).

Kazanılmış mine pelikülünün oluşum hızı, kişiden kişiye değişmektedir. Bu yapı diş yüzeyinden birkaç saat içinde uzaklaştırılmazsa, gargaralarla veya basınçlı su ile kolaylıkla kaldırılamayan kalın ve yapışkan bir tabaka olan *materia alba* halini alır. *Materia alba*; lökositler ve desquam epitel hücrelerinden türevlenen hücresel kalıntılar ve yiyecekler ile beraber dental plağın yüzeyel tabakalarından ibarettir (87,108). Dental plak; haftalar ve aylar boyunca bozulmadan kalırsa kalsifiye hale gelerek kalkulus ve tartar olarak isimlendirilmektedir. Daha sonra bakteriyel plak, kalkuluslar çevresinde ve yüzeyi üzerinde, oluşmaya devam etmektedir (108).

Dental plakta ve ağızın diğer kısımlarında 200 den fazla, morfolojik ve biyokimyasal olarak farklı bakteri türü bulunmaktadır (11,20).

### 1.3.1. Dental Plağın Bakteriyolojisi :

Ağızdaki her alandan alınan dental plak örneklerinde bulunabilen bakteri türleri, çok fazla ve çeşitlidir. Plaktan yaygın olarak izole edilen bakteri türleri Tablo-4' de görülmektedir.

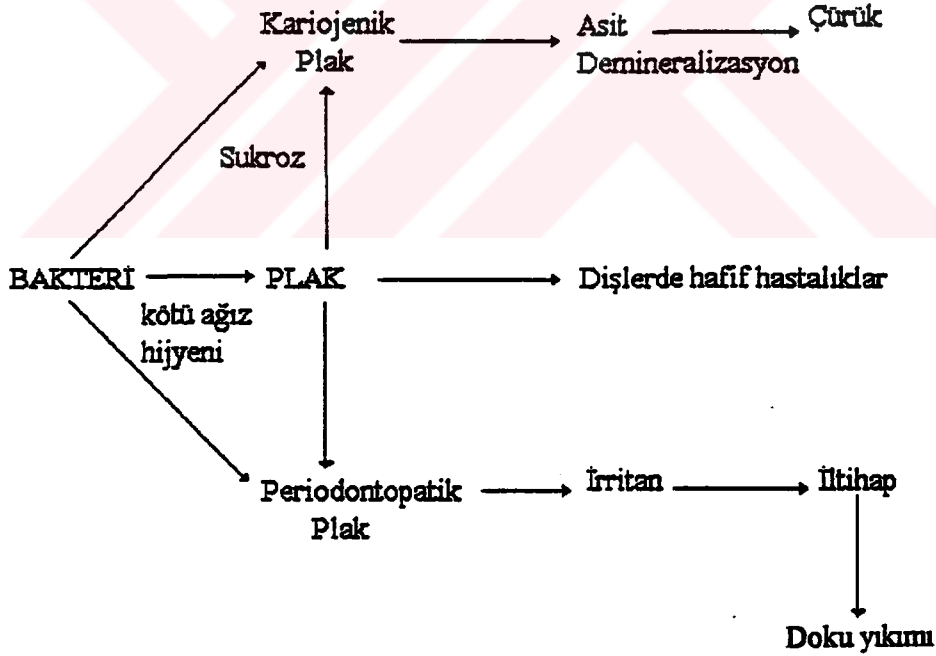
**Tablo-4. Dental Plaktan Yaygın Olarak İzole Edilen Bakteri Türleri (108).**

Gr (+)		Gr (-)	
Koklar	Çubuk filamentözler	Koklar	Çubuk filamentözler
<i>Streptococcus</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Peptococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Branhamella</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Bacterionema</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Haemophilus</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>Rothia</i>		<i>Vibrio</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Arachnia</i>		<i>Lepotrichia</i>
	<i>Bifidobacterium</i>		<i>Capnocytopho</i>
	<i>Eubacterium</i>		<i>Selenomonas</i>
	<i>Propionibacterium</i>		<i>Spirochaetes</i>

Plağın içinde %80 su, % 20 katı maddeler bulunur. Hidrolize edilmiş plaklarda bulunan başlıca karbonhidrat, glikozdur. Ayrıca arabinoz, riboz, galaktoz ve fruktoz da bulunabilir. Karbonhidratların çoğu, ya "glukan" ve "levan"

veya heteropolisakkaritler şeklinde, hücre dışı polimerler halinde bulunmaktadır ve bunların sentezi plak mikroorganizmalar tarafından yapılmaktadır (87).

Plak mikroflorası, ya dişlerde ya da destek dokularda (periodonsiyum) patolojik değişikliklere neden olabilir. Yüksek sakkarozlu diyet çürük yapıcı bir flora, asit oluşumu ve demineralizasyon ve çürük yapımına uygun zemin hazırlamaktadır. Kötü ağız bakımı ile plak meydana gelmekte ve bakterilerden kaynaklanan tahrişler iltihaba yolaçmakta ve doku kaybına neden olmaktadır. (Şekil-3) Tükürüğün tamponlayıcı etkisi, detoksifikasyon ve immün reaksiyonlar bir dereceye kadar plağın zararını önlemektedir. Fakat plak kalınlığı nedeniyle dişe bakan bölgelere tükürük ulaşamadığından, organik asitlere tampon etkisi yapamamaktadır. Plak, hem derin tabakada asit üretmekte, hem de bu asiti nötralize edecek olan tükürüğün, o tabakalara ulaşmasını önlemektedir (87).



**Şekil-3. Diş Plağının Patojenik Gücünü Gösteren Şema (87).**

Plaktan aerobik gr(-) koklar (*Neisseria* türleri), *Fusobacteria haemophilus* ve diğer birkaç tür, yaygın olarak izole edilmişlerdir. Fakat bu mikroorganizmalar, total üretilebilir floranın küçük bir yüzdesini

oluşturmaktadırlar. (Tablo-5). Diğer türler plakta daha az sıklıkta saptanmışlardır. Birkaç araştırmacı, plağın bileşiminin aynı diş üzerindeki farklı noktalarda veya ağızdaki farklı alanlarda farkedilir şekilde değişebildiğini göstermişlerdir (108). Belirlenmiş en iyi farklar, gingival oluğa komşu veya gingival oluk içinde oluşturulmuş plakla ilişkili olanlardır. Bu durumda anaeroplara oranının yükseldiği ve bakteroidlerin, vibrioların, spirochaetelerin ve fusobakteriumların sayılarının arttığı belirtilmiştir (44,108).

Bu mikroorganizmalar, başlangıçta obligat anaerop olarak izole edilirler. Daha sonra, alt kültürleri yapıldığında, mikroaerofilik olurlar ve karbonhidratları laktik aside hidroliz ederler. Bu baskın durumundaki filamantöz organizmalarla ilişkili olan mikroorganizmalar: streptokoklar, spiroketler, difteroidler, Gram(-) koklar vb. dir. Bu floranın anaerobik yapısı, ağıza oksijenin kolayca girebildiği göz önünde tutularak, şaşırtıcı gelebilir. Bu anaerobiozis, diş üzerindeki materiallere bağlı, aerobik olarak büyüyen fakültatif bakterilerin diş yüzeyine oksijen diffüzyonunu oldukça azaltan yoğun plak matrisi sebebiyle, gelişmektedir. Dental plaktaki bu mikrobiyal popülasyonların, kendi yarattıkları bir mikroçevrede ortaya çıktıkları görülür ve muhtemelen ağız boşluğunun makro çevresindeki çok büyük varyasyonlarla karşılaştıklarında bu mikroçevreyi devam ettirmektedirler (44).

**Tablo-5. Dental Plak Bakterilerinin Ortalama Yüzdeleri (108).**

Organizma Türü	Ortalama Yüzdesi
Streptokoklar	17-38
Gram (+) çubuk ve filamentözler	22-52
<i>Neisseria</i>	0-2
<i>Veillonella</i>	1-13
Gr (-) anaerobik çubuklar	0-17
Fuzobakteriler	0-7

Dominant bakteri gruplarının; büyük ölçüde *Actinomyces'* lerden ibaret olan Gr(+) çubuklar ve filamentözler ile streptokoklar olduğu görülmektedir. Bu iki geniş grup, mikroaerofilik, fakültatif veya zorunlu anaerobik olabilen birkaç farklı türü içermektedir (108).

Dental plak smear çalışmalarına göre, ilk olarak oluşan plakta çoğu Gr(+) olan koklar ve çubuklar üstün durumdadırlar. Plak yaşının artmasıyla; kokların yüzdesi hızlı azalmakta ve yedi gün sonra filamentler ve fusiformlar plaktaki mikroorganizmaların yaklaşık % 50' sini teşkil etmektedirler. Dental plak bakterilerinin ortalama yüzdeleri Tablo-5' te görülmektedir. Hem yeni oluşmuş ve hem de oluşumunun üzerinden belli bir süre geçmiş olan plakta, streptokoklar üstün olan mikroorganizma grubudur. Zamanla oranlarında bir değişme meydana gelmekte ve daha yaşlı plaklarda filamentöz organizmalar veillonellalar ve corynebacteriler oldukça geniş gruplar oluşturmaktadırlar. *Lactobacillus'* lar plak florasının % 1' den daha azını oluşturmaktadırlar ve seçici bir besiyeri kullanılmadıkça izole edilememektedirler (19,44).

### 1.3.2. Diş Plağında Asit Üretimi:

Çürük oluşması için, karbonhidratlar diş plağındaki bakterilerce parçalanırken üretilen asidin, devamlı akan tükürük tarafından uzaklaştırılmadan önce, mineyi eritmesi gerekmektedir. Bunu plağın iki özelliği sağlamaktadır.

a. Plakta kısa sürede, fazla miktarda asit oluşmasına yol açan çok sayıda bakteri bulunmaktadır.

b. Maddelerin plak matriksi boyunca yayılması oldukça yavaş olduğundan plakta oluşan asitin tükürüğe karışması için uzunca süre gerekmektedir. Buna göre asit oluşumu, asitin plaktan tükürüğe geçmesine oranla daha hızlı olmaktadır ve yayılma ile ilgili aşağıdaki sıralama bunları özetler.

Tükürükte glikoz (1)→ Plakta glikoz (2)→ Plakta asit(3)→Tükürükte asit

Karbonhidratın sık alınımı asit yapımını sıklaştırmakta; karbonhidrat ağızda ne kadar uzun süre kalırsa, pH' nın başlangıç düzeylere dönmesi o kadar uzun sürmektedir. Bir dişin yüzeyinde ne kadar sık asit oluşur ve ne kadar uzun süre kalırsa, mine, o kadar sık ve uzun süre asit etkisinde kalmaktadır. Minenin eriyip erimemesi ise, plakta ve diş yüzeyindeki kalsiyum fosfatın çözünürlüğüne bağlıdır. Mine ve dentinin inorganik bölümünün hemen tümünü oluşturan, kalsiyum fosfat, nötr ve hafif asit pH' da az çözünen, fakat pH düşüncü, özellikle pH 5.0' in altında çözünürlüğü artan bir tuzdur. Tükürükte dişin erimesini önleyecek miktardan daha çok kalsiyum ve fosfat bulunduğu için dişin yüzeyinde hiç plak yok ise ve diş minesi tükürükle devamlı temasta ise, minenin mineral bölümünde hiç erime olmayacaktır. Tükürük kalsiyum fosfatla aşırı doymuş kaldıkça mine korunmakta ve dişde erime olmaksızın belli miktar asite

dayanıklılık göstermektedir. Tükürüğün ve plaktaki kalsiyum fosfatın mineyi asidin eritici etkisinden koruyamadığı pH' a "kritik pH" denmektedir ve plak bulunmadığı zaman, bu pH' a ender olarak ulaşılmaktadır (72,87).

Tükürük akımı miktarı, dişlerin şekli, karbonhidratlı besinin ağız içi birikimini kolaylaştıran özellikleri (örn. yapışkanlığı), . tek tek yada birlikte, beslenmeden sonra diyet karbonhidratının ağızda kalma süresini etkileyen öğelerdir. Süre uzarsa plak bakterilerinin asit yapma süresi de uzayacaktır. Fermente edilebilen karbonhidrat parçalandığı zaman, plaktaki hücreler asit yaparak ve tükürük bezleri tükürük akımını artırarak cevap verirler. Tükürük akımının artışı; ağızdan karbonhidratın temizlenmesini ve plaktan asidin giderilmesini hızlandırır, daha hızlı olarak taze tükürük sağlanması ile plaktan asidin çıkması çabuklaşır ve en önemlisi tampon oluşturarak plak içinde asidin etkisiz kalınması (nötralizasyonu) hızlanır. Bu süreçlerden biri yada her ikisiyle plaktan asidin giderilmesi, hem plak pH' nın düşmesini azaltır, hem de pH' nın başlangıç düzeyine çabuk dönmesini kolaylaştırır. Plaktaki mikroorganizmalar, ağızda diyet karbonhidratı varken hücre içi intraselüler polisakkariti üreterek diyet karbonhidratı bulunmadığı zaman bu depolanmış karbonhidrattan asit oluşturarak plak pH' nın düşük bulunduğu süreyi uzatmaktadırlar. Son yıllarda intraselüler ve ekstraselüler polisakkarit üretimi çok önem kazanmıştır. Yapılan incelemelerde, plak mikroflorasında intraselüler polisakkarit depolayan mikroorganizmaların sayısının, diyet karbonhidratı kısıtlandığında azaldığını ve kısıtlama kaldırıldığında arttığı belirlenmiştir (72,89).

### 1.3.3. Plakta Baz Yapımı:

Plaktaki mikroorganizmalar, azotlu maddelerden amonyak üretebilmektedirler. Vücutta protein metabolizmasının son ürünü olan üre, tükürüğe salgılanmakta ve ürenin parçalanması, plağın pH' nı hızla yükseltmektedir. Plak bakterilerinin üreyi metabolize etmeleri, glikozun metabolize edilmesinden bile daha hızlıdır. Tükürük ve ağzın yumuşak dokularından gelen aminoasitler ve proteinden de amonyak oluşmakta, fakat bunların plaktaki mikroorganizmalar tarafından parçalanması, üreninkinden daha yavaş olup parçalanma sonucunda ürede olduğu kadar yüksek pH oluşmamaktadır (89).

Tükürük; baz yapan mikroorganizmalar için gerekli maddeyi sağladığı ve plakta asit yapan mikroorganizmalar için gerekli madde de büyük ölçüde diyetten geldiği için, bu iki kaynaktan madde sağlanmasında çok hassas bir denge

bulunmaktadır. Bu dengenin değişmesi, asit yada baz oluşumuna ve plağın pH'nın değişimine yol açmaktadır. Böylece aynı plak, düşük pH ile minenin çözünmesine yol açabildiği gibi yüksek pH ile tükürükteki kalsiyum ve fosforun birikimine ve plakta diş taşı oluşmasına neden olabilmektedir. (87,89)

#### **1.4. KARBONHİDRATLAR:**

Karbonhidratlar, karbon ve oksijen atomlarından oluşmuş organik bileşiklerdir. Günümüzde karbonhidratlar, hemen bütün beslenme tarzlarında, insanların enerji gereksinimlerinin çoğunu karşılamaktadır (102).

En basit yapılı karbonhidratlar olan monosakkaritler, 3-6 karbon atomu taşıyan moleküllerdir. Zincirlerindeki karbon atomlarının sayısına göre sınıflandırılırlar. En sık rastlanılanı, pentozlar ( $C_5H_{10}O_5$ ) ve heksozlardır ( $C_6H_{12}O_6$ ). Disakkaritlerde ise iki monosakkaritin birleşmesi sonucu oluşmuştur. Oligosakkaritler 2 ile 10 monosakkaritin hidrolizi ile oluşmuş karbonhidratlar olduğundan disakkaritler oligosakkarit olarak gruplandırılır (88,102).

##### **1.4.1. Monosakkaritler:**

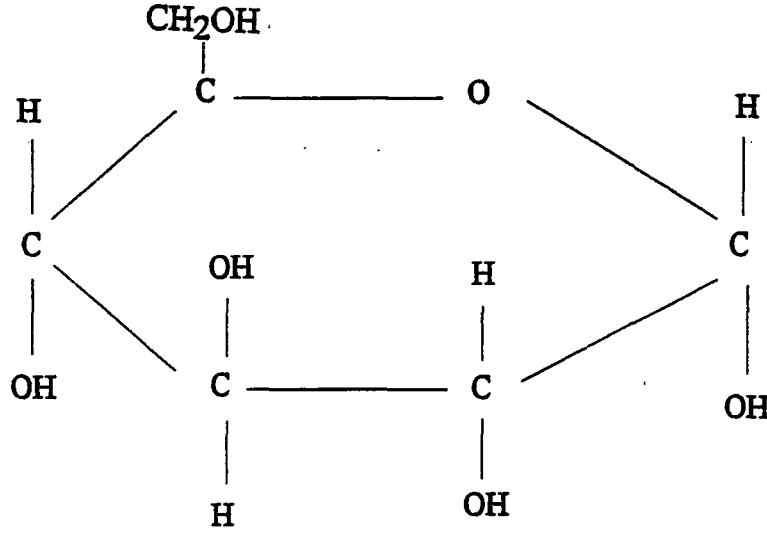
###### **Pentozlar(5C)(5 Karbonlu Monosakkaritler):**

Riboz ve deoksiriboz yaşamsal önem taşımaktadır. Vücutta sentez edilen bu pentozlar, hücrenin enerji üretiminde coenzim olarak görev yaparlar. İnsan yiyeceklerindeki pentoz, L-arabinose ve D-xylosedur ve kuru yemişlerde, meyva ve kök sebzelerde bulunur (88).

###### **Heksozlar (6C)(6 Karbonlu Monosakkaritler):**

Glikoz, fruktoz ve galaktoz besinsel değer taşımakta olup en önemlileri glikozdur. Glikoz (Diğer adları dextrose, üzüm şekeri ve mısır şekeridir), insan dokularının en iyi kullandığı ve insan vücudunda serbest halde bulunan en önemli karbonhidrat olup insan organizmasının en önemli hazır yakıtıdır. Gece açlığından sonra kandaki düzeyi 70-110 mg/dl dir (88,102).

Enerji için hücrede okside edilmektedir, kan ve vücut sıvılarında serbest dolaşabilen tek besin kaynağıdır (88). Bileşiminde asimetric karbon atomları olduğu için polarize ışığı çevirir. Bu çevirme sağa doğru olduğu için dekstroz adını da alır. Glikoz indirgeyici suda eriyen beyaz bir kristaldir, sakkarozun yarısı kadar tatlıdır. Nişasta ve sakkaroz gibi diğer karbonhidratlardan sentez edilebilir, az da olsa proteinlerden sentez edilir. Glikoz balda, meyvelerde (en fazla üzüm) ve mısır şurubunda bulunur. Glikozun yapısal formülü:  $CH_2OH'$  dir (88,102) (Şekil-4).



Şekil-4. Glikozun Yapısal Formülü (102).

**Fruktoz:** Levulase veya meyva şekeri olarak da adlandırılır (88,102). Glikoz ile aynı kapalı formül gösterilir ( $C_6H_{12}O_6$ ). Yapı olarak glikoza çok yakın olmasına karşılık farklı olup tüm şekerlerin en tatlısıdır. Glikozla birlikte balda, meyvelerde ve mısır şurubunda bulunur. Fruktoz vücutta glikoza çevrilerek kullanılır (102).

**Galaktoz:** Laktozun hidrolizinden oluşur, bitki polisakkaritlerinin yapıtaşıdır. Laktasyon sırasında insan vücudu meme dokusunda glikozu galaktoza çevirir, böylece anne sütündeki laktoz sentez edilir (88).

**Mannoz:** Aldoheksodur. Bitki kaynaklarında bulunur (88).

#### 1.4.2. Disakkaritler ve Trisakkaritler:

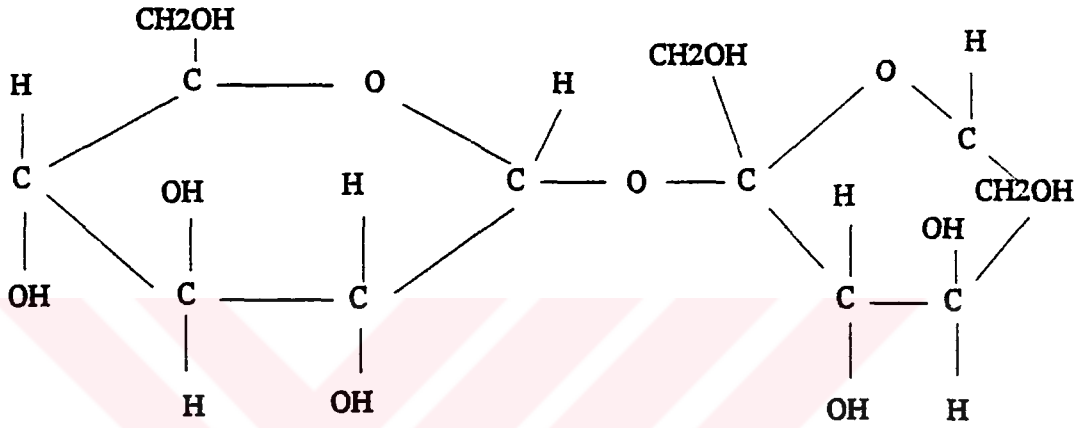
**Sakkaroz, laktoz, maltoz** iki monosakkaritin birleşmesi sonucu oluşmuştur. Genel formülleri:  $C_{12}H_{22}O_{11}$  dir (Şekil-5). Asitlerin yada ilgili enzimlerin etkileri ile kendilerini oluşturan monosakkaritlere ayrılırlar. Disakkarit meydana gelirken, monosakkaritin birinden (H), diğerinden hidroksil grubu (OH) ayrılarak su çıkar (88,102).

**Sakkaroz (Şeker kamışı, şeker pancarı, akçaağaç şekeri, çay şekeri):**

Sakkaroz Arapçadan "sukkar" kelimesinden gelmektedir (87) ve bildiğimiz ev (sofra) şekeridir (88,102). Granül, toz, kahverengi ve saf şeker olarak bulunur. Ençok şeker pancarı ve şeker kamışında bulunan bir (87) disakkarittir. Bir molekül glikoz ve bir molekül fruktozun glikozid bağıyla birleşmesinden oluşur (88,102) (Şekil-5). Sakkaroz, asitlerle kaynatılarak yada bazı enzim faaliyetleriyle (invertase) glikoz ve fruktoza hidrolize olur ve "invert şeker" meydana gelir. Invert şeker sakkarozdan biraz daha tatlıdır (87,88). Invert şeker



negatif optik rotasyona sahiptir. Sakkaroz, tüm yeşil bitkilerde bulunur. Fotosentezin erken bir ürünü olup karbonun bitkinin diğer bölümlerine transloke olmasından sorumludur. Sakkaroz, indirgenmiş bir disakkarit olup pozitif optik rotasyona sahiptir ve kolayca hidrolize olmaktadır. Sakkaroz fermente edilebilir bir şeker olup bakteriyel dekompozisyona rezistandır (87).



**Şekil-5. Sakkarozun Yapısal Formülü (102).**

**Laktoz (Süt şekeri):** Taze sütteki katıların % 40' ını oluşturur. Ca ve diğer minerallerin vücuttaki emilimini artırır. Hidroliz ile glikoz ve galaktoza ayrılır (88). Tat verici etkisi sakkarozdan ve glikozdan azdır (102).

**Maltoz:** Nişastanın enzimatik yıkımıyla meydana gelir. Maltoz hidroliz edildiğinde 2 glikoz molekülü çıkar. Biraya malt tadı verir (88,102).

**Rafinoz:** Glikoz, fruktoz ve galaktozdan oluşan trisakkarittir. Şeker pekmezinde bulunur (88,102).

#### 1.4.3.Polisakkaritler:

10' dan fazla monosakkaritin birleşmesiyle meydana gelirler ve şekerlerin aksine tatsızdırlar. Nişasta, glikojen, dextran ve insülin enerji depolanmasında, seluloz, pektin, agar yapısal fonksiyonlarda kullanılır (88).

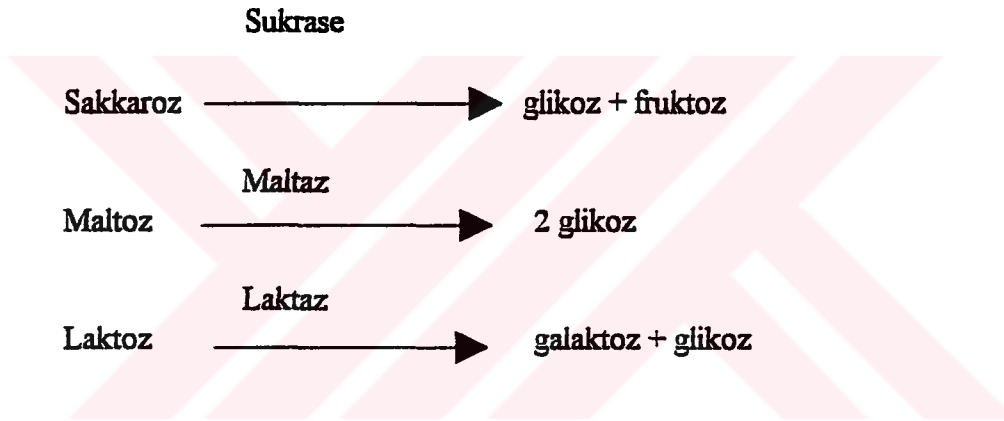
Nişasta total alınan karbonhidratın % 50' sini oluşturur, ana enerji kaynağıdır. Nişasta bitkilerde depo maddesi (rezervi) olarak doğal meydana gelmektedir . Bitkiden elde edilen taze nişasta suda erimez ama ısıtılırsa solüsyon oluşur ve soğudukça jöle kıvamını alır. Nişastayı dextrin veya oligosakkaritlere çeviren enzimler vardır. Sonra oligosakkaritleri maltoz, son olarak glikoza parçalayan enzim ile nişasta sindirilir. Pirinç, buğday, mısır, çavdar % 70 nişasta içerir (88).

olarak glikoza parçalayan enzim ile nişasta sindirilir. Pirinç, buğday, mısır, çavdar % 70 nişasta içerir (88).

**Mukopolisakkaritler:** Hexosamin içeren polisakkaritlerdir. Hiyaluronik asit, kondroidin sülfat bağ dokusunda bulunur. Heparin, asidik mukopolisakkarit olup antikoagülandır (88).

#### 1.4.4. Karbonhidratların Sindirim ve Emilimi:

Nişastanın sindirimi ağızda tükürük amilazı (pityalin) ile başlar. Bu enzim en iyi nötral pH' da çalışmakta ve mide asidi ile inaktive olmaktadır. İnce barsaklarda yiyecek nişastasını amilaz ile disakkaritlere parçalanmaktadır (88).



Son ürünler fosforile formda portal kan dolaşımında emilirler. Glikoz kana direkt geçerken, fruktoz ve galaktoz ince barsaktan geçerken kısmen glikoza çevrilmektedir (88).

#### 1.4.5. Çürük Oluşumunda Rol Oynayan Diğer Organik ve İnorganik Besin Maddesi:

##### 1.4.5.1. Lipidler :

Suda erimeyen eter, alkol ve kloroform gibi organik çözücüler içinde eriyen uniform yapıya sahip bileşiklerdir. Yağlarla çürük arasındaki ilişki aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

1. Yağlar sayesinde diş yüzeyi kaygan bir hal alır, yiyecek parçacıkları tutunamaz.
2. Plak üzerinde oluşan yağ, koruyucu tabaka olarak fermente olabilen şekerlerin asite dönüştürülmesini engeller.
3. Yağ asitlerinin yüksek konsantrasyonları karyojenik bakterilerin üremesini etkiler.

4. Diyette bulunan yağ, diyetteki fermente olabilen karbonhidrat alınımının azalmasına neden olur (88).

Yağlarla çürük arasındaki ilişkiyi açıklayan çalışmalarda, çukolata ve karamela (kaynamış şeker ile yapılan şekerleme) kıyaslandığında, çikolatanın daha az çürük yapıcı etkisi olduğu görülmüştür. Araştırmacılar, çikolatada fazla yağ bulunması nedeniyle şekerin çürük yapıcı etkisini azalttığını öne sürmüşlerdir (87).

#### 1.4.5.2. Fosfatlar :

Fosfatların çürük önleyici etkileri, insan ve hayvan çalışmalarıyla incelenmiş ve farelerin çürük yapıcı diyetlerine inorganik fosfatlar ilave edildiğinde önemli derecede çürük önleyici etkisinin olduğu görülmüştür (87).

Fosfatların çürük azaltıcı olarak tam etkisinin ne olduğu bilinmemekle birlikte yapılan araştırmalar sonucunda sindirimle sistematik bir etkiden çok, ağızda lokal etkisinin olduğu anlaşılmaktadır. Fosfatların lokal etkileri şu şekilde özetlenmektedir.

1. Fosfat iyonları, minenin hidroksiapatitinin çözülme hızını azaltabilir.
2. Fosfat iyonlarının çok sulandırılmış solüsyonları, özellikle minenin kısmen demineralize olduğu kısımlarda, kalsiyum fosfatın tekrar birikimini sağlar.
3. Fosfatlar, plak mikroflorasının fermentasyonu ile oluşan organik asitlere karşı tampon etkisi yaparlar.
4. Mine yüzeyinden proteinlerin "desorbe" edilmesini sağlarlar (87).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, fosfatların çürük azaltıcı etkisini göstermişse de, insanlarda aynı etkinin olacağı şüphelidir. Çünkü, kemirici hayvanların tükürük pH' ı insanlardakinden daha yüksek ve tükürük fosfatı ise daha düşüktür, bu nedenle etki farklı olabilir. Bir diğer fark, kemiricilerin tüm diyetine fosfatlar homojen olarak konabilirken, insan araştırmalarında yalnızca diyetin bir kısmına (pişmiş yiyecekler, sakız ve tatlılar vb.) fosfat ilavesi yapılabilir. Sonuç olarak; fosfatların insanlarda da çürük azaltıcı etkisi biliniyorsa da henüz tam açıklanamadığı ve tüm yiyeceklere fosfat ilavesi konusunda daha araştırmalara gerek olduğunu söyleyebiliriz (87).

#### 1.4.5.3. Proteinler:

Aminoasitlerden oluşmuş kompleks bir moleküldür. Yumurta, süt ve etten sağlanan hayvansal proteinler gerekli aminoasitlerin yeterli miktarda içerirler. Proteinden fakir bir diyetle beslenenlerde, dişler normal boyutta gelişirken, çene

gelişmez ve çapraşıklık meydana gelir (geç diş sürmesi ve hipoplaziler). Sürme öncesi dönemde proteinden fakir bir diyetle beslenen hayvanlarda çürük olasılığı artış göstermiştir. İnsanda çürük ve protein arasındaki ilişki tam gösterilmesede proteinle zayıf beslenenlerde karbonhidrat tüketimi artış gösterecek ve çürük artacaktır (88).

### 1.5. DENEYSEL ÇÜRÜK OLUŞTURMA

İnsan ve hayvan arasında, tükürüğün yapısı ve dişlerin morfolojileri gibi bazı farklılıklar bulunmaktadır. Kemirgenler arasında bile yiyecek alışkanlıkları ve genetik yapıya bağlı farklılıklar görülebilmektedir (89). Stephan; birçok insan yiyeceğini ratların ana diyetlerine ek olarak vererek karyojenitelerini incelemiştir. Bu ana diyet kuru süt ve kuru karaciğerden oluşmuştur ve günde 2 kez birer saat yendiğinde karyojenik olmadığı tespit edilmiştir. Sakkaroz ilavesi en yüksek karyojeniteyi göstermiştir (113).

Sakkarozdan başka diğer şekerler de çürük yapma yetenekleri bakımından incelenmiştir. Hamster deneylerinde diyetin çürük yapma yeteneğinin, glikoz, laktoz veya maltoza oranla, en fazla sakkarozla bağlı olduğu belirlenmiştir. Sıçanlarda da sakkarozun glikozdan fazla çürük yapma etkisi olduğu kanıtlanmıştır; bazı çayımlarda ise glikoz ve sakkarozun çürük yapma yetenekleri eşit bulunmuştur. Çürük yapan streptokoklar, sakkarozlu diyetle beslenen hamsterlerin ağız boşluğundan daha fazla sayıda, glikozlu bir diyetle beslenenlerden ise daha az sayıda elde edilmiştir. Akide şekeri şeklinde verilen sakkaroz ile beslenen hayvanlarda çürük insidansı, toz şekerle beslenenlere oranla yüksek bulunmuştur (26,33,38,67,68,101,104,105).

İnsanlarda hangi besinlerin çürük için elverişli olduğu sorusu insan besin kullanımı ile ilgili kontrollü deneysel çalışmalar yapmak çok güç olduğundan genellikle, yüksek miktarda şeker içerenler diye cevaplandırılır. Çok kariyojen olan besinlerin şeker miktarda yüksek olup rafine şeker, sakkaroz, dekstroz ve belirli meyvalar yüksek çürük değerleri vermektedir (87,89).

Bakteriler olmaksızın diş çürüğünün oluşmayacağı, küçük laboratuvar hayvanlarının bakterisiz bir ortamda yetiştirildiği bir teknikte saptanabilmektedir. Mikropsuz şekilde üretilen sıçanlarda, normal yöntemlerle üretilenlere yakın üreme, gelişme ve genel metabolizma gözlenir. Bu iki çeşit sıçanlara çürük yapıcı (kariyojen) bir diyet uygulandığında, mikropsuz sıçanlarda mikroskopik düzeyde bile diş çürüğü hiç bulunmamaktadır (26,38,40,46,47). Diğer taraftan mutad şekilde yetiştirilen hayvanlarda birçok çürük lezyonları oluşmaktadır. Mikropsuz hayvanlara normal sıçanların çürük lezyonlarından üretilen bakteri

suşları inoküle edildiğinde ise, bazı bakteriler çürük oluştururken; çoğu çürüğe yol açmamıştır (5,6,64,103). Mikropsuz hayvanlarda çürük oluşumu ile sonuçlanan enfeksiyon en başarılı olarak, etkin çürüklü insanlardan alınan çeşitli streptokok suşları ile sağlanmıştır (5,6,7,46,47,48,52). Mikropsuz hayvanlarda bir enterokok ve bir laktobasil suşu ile de çürük oluşturulmuştur (89).

## 1.6. DİĞER TATLANDIRICILAR

Diş çürükleri insidansını azaltmak için asidojenik şekerin yerine geçebilecek tatlandırıcı ajanlar 4 kategori içinde toplanmaktadır.

1. Yoğun tatlandırıcılar
2. Hipoasidojenik şekerler
3. Oligosakkaritlerin daha gelişmiş hypo- veya non-asidojenik türevleri (şekerler bağlanarak oluşur).
4. Şeker alkolleri

Son 3 grup çoğunlukla şeker yerine geçen maddeler olarak isimlendirilmektedir (53).

### 1.6.1. Yoğun Tatlandırıcılar:

İki tip yoğun tatlandırıcı vardır.

- a. Cyclamate, sakarin, aspartam vb. sentetik tatlandırıcılar.
- b. Monellin, dihydrochalcones, glycyrrhizin vb. doğal kaynaklı tatlandırıcılar.

Bunlar, düşük kalorili yiyecek ürünlerinin üretiminde, içecek ve şekerleme ürünlerinde kullanıldıkları gibi de diabetikler için özel ilgi çekmektedirler. Sakkarin ve siklamat gibi kalorisi olmayan tatlandırıcılar ve aspartam, dihidrokalkon ve glisirhizin gibi düşük kalorili tatlandırıcılar, oral mikroorganizmalar tarafından metabolize edilememektedirler(53,54). Bunlar, telemetreyle ölçülen plak pH' sında nonasidojeniktirler ve insanlarda ve hayvanlarda karyojeniteleri gösterilememiştir. Ayrıca sakarin, glisirhizin ve dihidrocalkon ile yapılan in vitro çalışmalarda da; *S. mutans*' ların büyümesini inhibe ettiği açıklanmıştır. Bundan başka aspartam'ın in vitro plak formasyonunu azalttığı ve ratlarda, asitin sebep olduğu demineralizasyonu azaltmada etkili olduğu da açıklanmıştır (35,53,75,107).

### 1.6.2. Hipo-Asidojenik Şekerler:

Arabinoz, riboz, xyloz (pentoz), tagatoz, sorboz (hexos), melibioz, isomaltuloz (palatinos) (12 karbonlu poliol), rafinoz ve polidextroz gibi şekerler, oral bakteriler tarafından yavaş bir şekilde fermente edilmektedirler ve bunların

plak pH telemetresinde hipo asidojenik oldukları da saptanmıştır (53). Çoğu hipo-asidojenik şekerler, toksikolojik ve ekonomik nedenlerden dolayı uygun olmamalarına rağmen, sorboz, xyloz, polidextroz ve palatinoz, dişlere daha az zarar vermelerinden, dolayı tatlı ürünlerde, şekerin yerini alacak alternatifler olarak değerlendirilmektedir (11,53,75).

### 1.6.3. Oligosakkarit Türevleri:

Glikozilsukroz, oligosakkaridler için genel bir terimdir. Siklodextrin glikozil transferaz enzimi (*Bacillus megaterium*' dan elde edilir) nişasta ve sakkaroz üzerine etki ettiğinde, monosakkarit, glikozilsukroz, maltosilsukroz, oligosakkaritlerden oluşan bir karışım oluşur. Bu karışım "coupling sugar" adını alır ve Japonya' da birçok yerde kullanılmaktadır (11,53). Tatlılığı sakkarozun % 50-60' ı kadardır ve ucuzdur. Isıya dayanıklı olduğundan finnlarda kullanılabilir. pH' ı stabil olup diaye neden olmaz. Birçok oral mikroorganizma tarafından fermente edilmesine rağmen, asit üretimi glikoz ve sakkarozdan daha azdır. *S. mutans* ile enfekte edilmiş sıçanlara verilen coupling sugar, sakkarozla oranla daha az çürük oluşturmaya karşılık karyojenik olarak kabul edilmektedir (53,75,87).

**Nişasta Hidrolizatları:** Sakkaroz yerine geçen dextrin bazlı maddeler yulaf ve patates gibi maddelerin nişastasını kullanılarak geliştirilmiştir. İstenilen derecede polimerizasyon oluşturmaya açısından asit ve/veya mikrobiyal enzimler kullanılarak nişastalar hidrolize edilerek son ürünler genellikle dextrin, maltoz ve glikoz içeren şuruplar olarak satılırlar (87).

Bu alanda daha ileriki gelişmeler, glikozun sorbitole konverte edilmesini içeren kısmi hidrojenasyon ve glikoz isomeroz kullanılarak glikozun fruktoza çevrilmesidir. Mısırdan elde edilen tatlandırıcılar karyojenik olarak değerlendirilmelidir (87).

**Yüksek - Fruktoz Mısır Şurupları (HFCS):** Bunlar, hidrolize mısır nişastasından, glikozizomeroz enzimi ile üretilirler. Bu enzim glikozun bir kısmını fruktoza döndürür. Fruktoz, glikozdan 4 kat daha tatlı olduğundan, ürün mısır şurubu yada sakkaroz solüsyonlarından daha tatlıdır. Gittikçe daha fazla HFCS, (% 55 fruktoz içereni), sakkaroz yerine, invert şekerler yerine yada glikoz şurupları yerine kullanılmaktadır. Şimdilik glikoz sadece içeceklerde kullanılmaktadır, ancak her geçen gün kullanım alanları genişlemektedir (87).

Tablo-6. Bazı Önemli Poliollerin Özelliklerinin Karşılaştırılması (53).

Poliol	Ticari Şekli	Fiyatı (1 kg/İsviçre Frangı)	Tatlılığı (sakkaroz= 1)	Kalorisi (kcal/q)	Diabetikler için uygunluğu	Gıda teknolojisinde kullanım alanları
Xylitol	Kristal	9.45	0.9-1.0	4	evet	Şekerlemeler, çukulatalar, dondurma, drajeler, tıbbi şuruplar, konserve meyveler, reçeller
Sorbitol	Kristal veya şurup	3.90	0.5-0.6	4	evet	Yukarıdakilere ilaveten diş macunları ve pastacılık
Mannitol	Kristal	5.15	0.5-0.6	4	evet	Sorbitolle aynıdır. Hygrokopik değil, kaplama olarak ve pudra şeklinde kullanılabilir.
Maltitol (malnit)	Kristal veya şurup	6.00	0.9-0.6	≈ 2	evet	aynı; dezavantajı yüksek oranda hygrokopik.
Lycasin	Şurup	3.10	0.75	4	hayır	aynı; özel avantajı kristalleşmeyi önler. Avantajı hygrokopik değildir.
Palatinol	Kristal	5.10	0.45	≈ 2	evet	Sorbitolle aynı; özel avantajı hygrokopik değil.

#### 1.6.4. Şeker Alkolleri:

Polioller veya polialkoller, karbonhidrat olmalarına karşılık, birinci karbon üzerinde herhangi bir aldo veya ikinci karbon üzerinde keto grup olmadığından tam anlamıyla şeker değillerdir. Yapılarındaki her bir karbon, bir alkol grubuna sahiptir. Genel olarak şekerlerin hidrojenasyonu ile üretilirler. Polioller, çürüğü önlemek amacıyla tatlı ürünlerde özellikle sakkarozun yerine kullanılmaktadırlar (11,12,17,53,54,94,97). En iyi bilinen polioller; Xylitol (pentitol), sorbitol, mannitol (hezitols), maltitol, laktitol (12. karbon polioller), lycacin ve palatinin (12 karbon polioller karışımı) dir (11,36,53,59,75,91,118). (Tablo-6).

Bu şeker alkollerinin hayvan deneylerinde ve insan klinik çalışmalarında hiç veya çok az karyojenik etki gösterdikleri ispatlanmıştır(10). Ayrıca plak pH telemetresinde ve otomatik titrasyon metodu ile (10) nonasidojenik veya hypoasidojenik oldukları tespit edilmiştir (10,53). Oral bakteriyel kolonizasyonda, şeker alkollerinin etkisinin diet karbonhidratlarınıninkine benzer olduğu belirtilmiştir. Ayrıca oral floranın ana karbon ve enerji kaynağı olarak poliollere adaptasyon riskinin oldukça düşük olduğu gösterilmiştir (7,10,11,12, 15,35, 39,53,57,71,91).

Günümüzde asidojenik ve karyojenik olmayan tatlandırıcılar ve şeker yerine kullanılan maddeler, sıklıkla tüketilen tatlı tipi yiyeceklerin karyojenik etkilerini düşürmek amacıyla, bu tip gıda ürünlerinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (11,12,53,54,75,76). 1969 yılında İsveç Sağlık Örgütü tarafından çıkarılan kanuna göre üreticiler, "diş için emniyetlidir" logosunu ancak pH telemetre testinde, kullanım esnasında veya bunu takip eden 30 dakika içinde bakteriyel fermentasyon yoluyla interdental plak pH' ını 5.7 nin altına düşürmediği kanıtlanan ürünlerinde kullanabilmektedir. Tüketicilerin bilinçlenmesi ve bu tip ürünleri kabul etmesi amacıyla İsviçre' de de "Diş için emniyetli" logosu tescilli olmak kaydı ile ürünlerde kullanılmaktadır. Şeker yerine geçen ürünlerin pazar payı da gelişmektedir. Özellikle şeker alkolleri içeren sakızlar İsviçre' de ciklet pazarının % 50' sini oluşturmaktadır (53).

Sakkoroza alternatif olabilecek tatlandırıcılar konusunda, son yıllarda çok çalışmalar yapılması dişhekimliğinde bu konuları önemli hale getirdiğinden sakkarozun yerini alabilecek maddeler konusunda birçok klinik çalışma, hayvan deneyleri ve pek çok laboratuvar çalışmaları yapılmıştır(4,7,10,14,15,34,35,36, 37, 39,45,46,47,48,55,57,58,59,60). Tüm dikkatler kalori yapan sakkaroz yerine geçen maddelere çevrilmiştir, fakat besleyici olmayan tatlandırıcılar ile de umut



verici gelişmeler saptanmıştır. Ksilitol ve aspartam bunlara verilebilecek örneklerdir (73).

Çürük profilaksisinde hem besleyici hemde besleyici olmayan tatlandırıcıların önemi vardır. Şeker alkollerini hem tıbbi, hemde beslenmeye ait çalışmalara konu olmuştur (72). Bu çalışmalarda bu karbonhidratların yiyeceklere katkı maddesi olarak ve araştırma maddesi olarak değerli bir madde oldukları fikri kabul edilmektedir (11,34,35,39,46,55,71,73).

#### 1.6.5. Şeker Değişkenlerinin Kriterleri:

Şeker değişkenlerinin karyojenik olup olmadığının bakteriyolojik açıdan tespit edilmesi için birçok metot kullanılmaktadır (11). En sık kullanılanlar ;

**a. Asit Üretimi:** Bu, bir organizmanın saf kültürünün kullanılmasıyla uygun bir sıvı ortamda in vitro olarak kolaylıkla incelenebilir. Eğer bakteriyel asit üretimi meydana gelirse sıvı ortamın pH' ını etkileyecektir. Saf bakteriyel boya veya dental plak boyama materyali kullanarak asit üretimi alkali ile titrasyon yapılarak ölçülebilir. Mikroorganizmaların durdurulması bir değişken ile sağlanır ve pH' ı sabit tutmak için 1 ünite/süre için gerekli alkali miktarı tespit edilir. Şeker değişkeninin asit üretme hızı glikoz veya sakkaroz ile ölçülen aktiviteye göre ifade edilmektedir. Fermentasyon sonucu ortaya çıkan ürünlerin kantitatif ve kalitatif tespiti enzimatik ve kromatografik metodlar kullanarak veya radioaktif işaretlenmiş substratlar kullanarak elde edilebilir (11).

**b. Metabolik Yol:** Esas olarak enzimatik metotlarla bakteri ile şeker değişkenlerinin metabolik yolunun değişik evreleri araştırılabilir (11).

**c. Mikrobiyal İnhibisyon:** Bazı şeker değişkenlerinin başka bir ilginç mikrobiyal etkisi, mono ve disakkaritlerin mikrobiyal metabolizması üzerindeki inhibitör etkisidir. Bu tür etkiler, hem şeker değişkeni hemde sakkaritlerin varlığında, organizmaların asit üretme hızı veya büyüme hızı tespiti ile incelenebilir (11).

**d. Mikrobiyal Adaptasyon:** Bu olay şeker değişkenlerinin metabolizmasından sorumlu enzimlerin in vitro üretiminin incelenmesiyle şeker değişkenlerini fermente eden mikroorganizmaların sayısına göre, dental plakların kompozisyonunun bakteriyolojik araştırmaları yapılmaktadır. Şeker değişkenlerinin sıklıkla kullanılmasından sonra bu durum in vivo incelendiği zaman değer kazanmaktadır (11).

**e. Hayvan Çalışmaları:** Şeker değişkenleri ile beslenen hayvanlarda oral bakterilerin çürük başlatma yeteneği ve çürük başlatan mikroorganizmalar *S. mutans* ile aşılmasında başka bir kriterdir. Bunun için mikropsuz veya spesifik

patojensiz hayvanlar kullanılabilir. Mikropsuz hayvanlar, herhangi yaşayan bir bakteriyi barındırmaz ve spesifik hayvanlar deneyin başında belli bir patojenik bakteriden yoksundur (11).

#### **1.6.6. Ksilitol (Xylitol):**

Ksilitol, çilek, erik, marul, karnıbahar, mantar, kestane gibi değişik meyve ve sebzelerde düşük konsantrasyonda bulunan 5 karbonlu bir şeker alkolüdür (Çeşitli meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan bir pentoz alkolüdür) (11). Tabiatta erik, çilek ve bazı tür mantarların 100 gr. kuru ağırlıklarında 0.3-1.0 gr konsantrasyonda bulunmaktadır (87).

Diabetik hastalar için uygun bir şeker benzeri olduğu düşünülmüştür, ancak yüksek dozlarda insanlarda ve sıçanlarda diyare yapabilmektedir. Ksilozun hidrogenasyonu ile elde edilir (11). Suda kolay çözünen, renksiz, kokusuz bir maddedir. Sakkarozla eşdeğer kalori verir ve aynı tatlılık derecesi ( $\approx 1$ ) gösterir. Çözünürlüğü ise 39 bulunmuştur. Diğer şeker alkolleri gibi ksilitol de karamelizasyon göstermez (87).

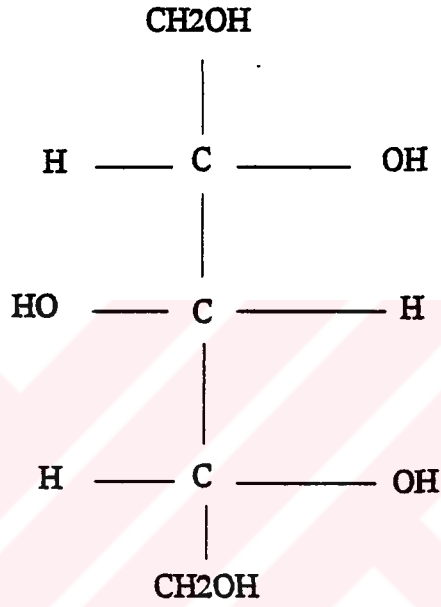
Tabiatta bol oranda bulunan ksilan ham madde olarak kullanılmaktadır. Bu polisakkarit 5 C içeren bitkilerde, örneğin odun, ot, tohum veya çiçek zariğinde vardır. Ksilan bunlardan hidroliz yoluyla ksiluloza dönüştürülür. Bundan sonra yüksek basınç altında katalitik hidrasyon ile ksilülozdan ksilit elde edilir. Ksilite, esansiyel pentozüri üzerindeki araştırmalar sırasında, glikuronik asit ksilüloz siklusunda ara ürün olarak saptanmıştır. Karaciğerin mitokondri hücrelerinde gerçekleşen bu olayda ksilit, L-ksilülozdan D-ksilüloza değişimi sağlayan bağlayıcı madde olarak rol alır (87).

Son yıllarda sakkarozun yerine kullanılan maddeler ile ilgili çalışmalar, şeker alkolleri grubunun (polioller) çok sayıda tatlı karbonhidratları içermesi, diş sağlığı açısından bunların önemli olduğunu göstermektedir. Doğal karbonhidratlardan biri olan xylitolün çürük önleyici etkisi olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (15,53,55,58,75,76,77,94,96). Bazı Dünya Sağlık Teşkilatının da yetkisi altında olan uzun süreli insanlı klinik deneyler, gençlerde ve çürük olasılığı fazla olan çocuklarda, xylitolün çürük önlediği gösterilmiştir (62,93,97,98,99,116). Xylitolün en fazla araştırılan ve en ümit verici kalorili sakkaroz değişkeni olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (11,55,58,76,77,85).

##### **1.6.6.1. Xylitolün Yapısı ve Genel Özellikleri:**

Xylitol kimyasal olarak şeker alkolü diye gruplandırılan doğal bir karbonhidrattır. Xylitol ve sakkaroz eşit derecede tatlıdır. Benzer aldoz ve

ketozlarla (örn: fruktoz, glikoz, ksiloz) karşılaştırıldığında xylitol ve sorbitol daha fazla hidrojen içerir. Aldoz ve ketozların tersine xylitolün başka indirgeyici subgrupları yoktur. Kimyasal olarak, xylitolün OH molekül grupları uygun bir geometrik yapıda bulunan bir hidrofilik polioksi sistemdir (Şekil-6) ki bu OH molekülüleri tükürük ve plakta bulunan kalsiyum gibi polivalan metal katyonları ile etkileşir (87).



Şekil-7. Xylitolün Yapısal Formülü (87).

Xylitol 5 karbon atomu olduğu için pentitoldür (Sorbitol ise 6 karbon atomuyla hexitoldür). Meyve ve meyve ürünlerinde ve memeli metabolizmasında az miktarlarda oluşur (87).

#### 1.6.6.2.Xylitolün Memeli Metabolizması:

İnsan vücudunda, oral xylitol önceden var olan fizyolojik yollarla metabolize olmaktadır. Emilimi yavaş, pasif bir işlemdir. Xylitol için hiç aktif taşıyıcı belirlenememiştir. Emiliminden sonra, öncelikle karaciğerde metabolize olmaktadır. Xylitol metabolizmasının ilk basamakları insülin gerektirmedikinden xylitol birçok ülkede diabetik hastalar tarafından rahatlıkla kullanılmaktadır (76,87).

Xylitol, sakkaroz ile ortalama aynı miktarda kalori verdiği için infüzyon tedavisinde (parenteral beslenme) enerji kaynağı olarak kullanılması uygundur. Xylitolün ağızda güvenilirliği, insanlar ve hayvanlarda incelenmiş, U.S. F.D.A.

1963' te xylitolü özel diyet maddesi olarak kabul etmiş ve yiyecek, kozmetik ve farmosotik amaçla kullanımına birçok ülkede kullanımına izin verilmiştir (76).

### 1.6.6.3. Xylitol ile Çürük Önleme Mekanizması:

Xylitol ile etkili çürük önlenmesi için diyetde sakkaroz ile tamamen yer değiştirmesi gerekmemektedir. Çeşitli çalışmalar xylitolün günde 4-10 gr kullanılmasının çürükten korunmak için yeterli olduğunu belirtmektedir (55,58,96,97). Bu tür çürük azaltıcı etkiler özel bir mekanizmanın varlığını belirtmektedir. Bu mekanizmanın kimyasal detayları her ne kadar hala tam olarak bilinmiyorsa da; xylitolün etkisi üç ayrı olayın birleşmesiyle açıklanabilmektedir (76).

1. Tükürük etkisi
2. Mikrobiyolojik etkisi
3. Bioinorganik etkisi.

**1.6.6.3.1. Tükürük Etkisi:** Xylitol tatlı olması sebebi ile tükürük akış hızını stimüle etmektedir. Bu şekilde oluşan tükürük, tükürüğün yapılamayan karakteristik kimyasal savunma faktörlerini ve artmış tampon kapasitesini de içermektedir. Xylitol, tükürüğün en önemli tampon maddesi olan bikarbonat iyonlarının oluşumunu ve sekresyonunu da stimüle etmektedir (76).

Bütün tatlı karbonhidratların tükürük sekresyonunu stimüle etmesine karşılık xylitol asit oluşturmadığından, tamponlama kapasitesi ve tükürüğün diğer savunma faktörleri fazla etkili olamamaktadır. Xylitolün bu özellikleri, bu faktörlerin engellenmeden görevlerini yapmalarını sağlar. İlk yapılan çalışmalar, xylitolün tüketiminin tükürükteki peroksidad ve amilazın seviyesinin artmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu enzimler oral kavitenin tüm kimyasal savunması ile ilgilidir, fakat bunların bulunmamalarının sebepleri henüz belirlenmemiştir (76).

### 1.6.6.3.2. Mikrobiyolojik Etki:

Xylitol herhangi bir şekilde karyojenik mikroorganizmalar tarafından kullanılamamaktadır. Birçok insan ve hayvan deneylerinde, *S. mutans*' in büyümesinin xylitol tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir. *S. mutans*' lann saf kültürleri ile ilgili çalışmalar, radyoaktif olarak işaretlenmiş xylitolün hücrelerle birleştiğini göstermemiş yada çok az göstermiştir, yani xylitol inert bir karbonhidrat gibi hareket etmektedir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş, xylitolun hücre içine alınımı ile ilgili çalışmalarda; xylitolun intrasellüler olarak daha fazla metabolize edilmeyen xylitol fosfata (tahminen xylitol 5 fosfat) dönüştürülmüş

olduğu gösterilmiştir. Bu ara ürününde hücreyi inhibe edici olabileceği dşnlmektedir (11,73,76,100).

Karışık ağız florasında (dental plak) *S. mutans* ve birçok oral bakterilerin büyümesi, xylitol tarafından bir dereceye kadar inhibe edilmektedir. Xylitolün kısmi durdurucu ve kısmi engelleyici etkisinin dental plakta birçok önemli sonuçları vardır. Buna göre xylitol plağı, sakkaroz plağından daha gevşek ve dişlere daha az zararlıdır (76).

#### 1.6.6.3.3. Bioinorganik Etkileri:

Bütün şeker alkoller; Ca iyonları ile zayıf kompleksler veya şelatlar oluştururlar. Bu kompleksler, polioller ağızdaki yaygın olaylar altında demineralize edici ajanlar olarak kabul edilmediklerinden stabil değildirler (4,76) ve dental plak-mine yüzeyinde ve çürük lezyonlarında Ca kullanımının kontrolünde rol oynayabilir (polioller sağlam ve çürük dokulara difüz ederler) (73,75).

İlk olarak, artılmış tüm tükürük (santrifüjü veya filtre edilmiş) oda ısısında bırakıldığında birkaç dakika veya saatte bulanıklaşır. Bu reaksiyon, bakteriyel büyüme meydana gelmeden önce olmaktadır. Bulanıklaşma oluşum oranı, bireylerin tükürük bezlerinde oluşturulan tükürüğün tipine bağlıdır. Tükürüğün bu bulanıklılığı onun en önemli özelliklerinden birisidir ve normal tükürüğün presipitasyon noktasına yakın ortaya çıkan proteinleri içerdiğini göstermektedir. Tespiti zor olan fiziksel ve kimyasal etkiler son ve dönüşümü mümkün olmayan presipitasyonu başlatabilmektedir. Bu presipitasyon kısmen pelikül oluşumuna katkıda bulunabilmektedir. Presipite edilmiş materyalin belli bir kısmı oldukça fazla miktarlarda Ca içerir. Bu Ca artık serbest hidrat şeklinde değildir, sadece su molekülleri ile çevrilidir fakat Ca proteinatı da denen tuz proteinleri ile serbest bir formda kalmaz (73,76)..

Bu Ca remineralizasyonu için uygun değildir ve bu kayıp olarak nitelendirilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar sakkaroz konsantrasyonlarının bu Ca eliminizasyonunu ya stimüle ettiğini yada reaksiyon üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını göstermiştir (73,76).

Xylitol ve sorbitol varlığında oldukça uzun bir gecikmeden sonra bile hiç presipitasyon oluşmamaktadır. Xylitol ve sorbitol böylece presipitasyonu inhibe ederek solüsyondaki Ca iyonlarını muhafaza etmektedir. Bu kalsiyum eninde sonunda Ca-fosfat oluşumu için kullanılmaktadır. Bu anlamda xylitol ve sorbitol, Ca-fosfat presipitasyonunu inhibe eden ilgili diğer tükürük peptitleri gibi hareket edebilir (73,76).

Tükürük ilginç bir sekresyondur, remineralizasyon için tamamlanmamış yönlendirici kuvvet içerir. (Ca ve fosfatın aşırı doyurulduğu fazdır). Tükürük aynı zamanda bu fazı kontrol eden faktörleri de içerir, böylece aşırı mineralizasyon bezlerde, kanallarda ve ağızda meydana gelmez; xylitol bu mekanizmaları engellemez, fakat aktive eder (76).

#### 1.6.6.4. Xylitol ve Periodontal Hastalıklar:

Xylitol tüketiminin ilerlemiş periodontal hastalıklarla ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir. Şu belirtiler; xylitolün periodontal yönden zararsız olduğunu veya bazı durumlarda xylitolün periodontal riski ortadan kaldırdığını gösterir (76).

1- Önemli bir enerji kaynağı olarak xylitolü kullanan hiç periodontopatik organizma bilinmemektedir.

2- Xylitol birçok periodontopatojenlerin büyümesini engeller .

3- Xylitol tüketimi dental plağın yapışkanlığını (tutunabilirliğini) ve büyümesini azaltır (109,111).

4- Hamster yanak torbasının mikrosirkülasyon sistemini kullanarak yapılan in vivo çalışmalarda; xylitol kullanan bireylerden elde edilen plak parçaları, sakkaroz veya fruktoz kullanan bireylerden alınan parçalardan daha az enflamasyon gösterir (76,111,116).

5- Kemik kültürü ile ilgili çalışmalarda; xylitol sakızı kullanan bireylerden elde edilen dental plak, sakkaroz kullanan bireylerden elde edilen plaktan daha az yangısaldır (76).

6- Beş günlük plak kullanan bir çalışma xylitol plağının kemik ve makrofaja, sakkaroz plaktan daha az irritan olduğunu gösterir (76).

7- İnsanlarda deneysel gingivitis içeren bir başka çalışmada xylitol ağız çalkalayıcısının, sakkaroz çalkalayıcıdan periodontal olarak daha az zararlı olduğunu gösterir (116).

8- Çocuklarda yapılan çalışmalarda, xylitol içeren çiğneme tabletleri veya şekerler plak oluşumunu ve dişeti kanamasını azaltır (76,110).

#### 1.6.6.5. Hedef Gruplar ve Uygun Xylitol Ürünleri:

Xylitol sakız programları çürüğün aktif olduğu yaştaki çocuklarda etkilidir. Xylitol diyet ve xylitol sakız genç erişkinlerde dental çürük insidansını önemli ölçüde azaltmıştır (4,12,55,58,71,77,96).

Bozulmuş tükürük bezi fonksiyonu nedeniyle geriatric ve gerodontik hastalarda çürüğe veya periodontal sorunlara neden olmayan ürünlerle tükürük alımını stimüle etmek gerekir. Çerezlerde veya hafif yiyeceklerde bulunan fermente tatlandırıcılar bu tür hastalarda zararlı olabilir ve sakkaroz yerine

kullanılan maddeler tercih edilebilir. Bazı ilaçlar veya başa radyasyon uygulanması sonucu kuru ağız sendromuna sahip kişilerde bu gruptandır. Bu durum da ideal tükürük stimulanları xylitol içeren sakızlar, pastiller veya çiğneme tabletleri veya sorbitol ile xylitol karışımları veya diğer zayıf fermente tatlandırıcılardır. Xylitolün diğer ürünlerde de kullanılma potansiyeli vardır (74,76).

Kronik hastalıklar için kullanılan tatlı ilaçlar xylitol kullanılarak dental yönden daha uygun hale getirilebilir. Xylitol içeren dişmacunlarının daha iyi oral hijyen sağladığını gösteren çalışmalar vardır (73,74,91,92).

Çürüğün daha fazla görüldüğü çocuklarda xylitol ve florid içeren ürünler daha kuvvetli koruyucu olabilir daha ekonomiktir. Florid ve xylitolün etkileri birbirini tamamlar, birbirinin etkisini inhibe etmez (76,92,95,99).



## 2.GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel çalışmamızda, deney hayvanları belirli bir zaman periyodu içinde, diş çürüklerinden sorumlu mikroorganizma olan *Streptococcus mutans* CCUG 6519 serotip c suşu ile inoküle edilerek, çeşitli yem grupları ile beslenmişlerdir. Bu farklı yem grupları ile diş çürükleri arasındaki ilişki, mikrobiyolojik yöntemlerle ve mikroskopik analizlerle karşılaştırmalı olarak irdelenmiştir.

### 2.1. GEREÇLER:

#### 2.1.1. Deney Hayvanları:

Araştırmamızda, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarında üretilen 22-24 günlük, ortalama 25-30 gr. ağırlığında, anne sütüyle beslenmesi yeni tamamlanmış 50 adet Swiss albino ratları kullanılmıştır.

#### 2.1.2. Mikroorganizma:

Araştırmamızda "Culture Collection, University of Göteborg", Klinik Bakteriyoloji Bölümünden temin edilen liofilize formda bulunan *S. mutans* CCUG 6519 Bratthall' s serotip c suşu kullanılmıştır.

#### 2.1.3. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri:

##### 2.1.3.1. Tryptone Soya Agar:

İçerikleri:	Tripton	: 15 gr
	Soya pepton	: 5 gr
	Sodyum klorür	: 5 gr
	Agar	: 15 gr
	Distile Su	: 1 Litre
	Final pH (25°C'de)	: 7.3±0.2

Çalışmamızda ticari olarak hazırlanmış OXOID Tripton Soy Agarından 40 gr 1 litre distile suda çözüldükten sonra otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edilmiştir (32,52).

##### 2.1.3.2. Tripton Soya Broth:

İçerikleri:	Pankreatik enzimle parçalanmış kazein	: 17 gr
	Papaik enzimle parçalanmış soya unu	: 3 gr
	Sodyum klorür	: 5 gr



Dibazik potasyum fosfat	:	2.5 gr
Glikoz	:	2.5 gr
Distile su	:	1 Litre
Final pH (25°C'de)	:	7.3±0.2

Çalışmamızda ticari olarak hazırlanmış OXOID Tripton Soya Brothdan 30 gr 1 litre distile suda çözüldükten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir (90,101,111 ).

#### 2.1.3.3. Kan Agarı:

İçerikleri:	Et ekstraktı	:	10 gr
	Pepton	:	10 gr
	Sodyum klorür	:	5 gr
	Agar	:	15 gr
	Distile su	:	1 Litre
	Final pH (25°C'de)	:	7.3±0.2

Besiyeri içerikleri 1 litre distile suda tamamen çözülmeye kadar kaynatıldıktan sonra, otoklavda 121°C' de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra besiyeri 50°C' ye kadar soğutulup içine aseptik koşullar altında % 3 oranında insan kanı ilave edilip, iyice karıştırılarak petri kaplarına dökülmüştür (5,6,7,113).

#### 2.1.3.4. Mitis Salivarius Basitrasin (MSB) Agar:

##### Mitis Salivarius Agar İçerikleri:

Triptoz	:	10 gr
Proteoz pepton No.3	:	5 gr
Proteoz pepton	:	5 gr
Bacto dextroz	:	1 gr
Sakkaroz	:	50 gr
Dipotasyum fosfat	:	4 gr
Tripan mavisi	:	0.075 gr
Kristal viyole	:	0.0008 gr
Agar	:	15 gr
Distile su	:	1 Litre
Final pH (25°C'de)	:	7.0±0.2

Çalışmamızda ticari olarak hazırlanmış DIFCO Mitis Salivarius Agar'dan 90 gr 1 litre suda çözülmüş ve buna % 20 oranında sakkaroz ilave edilerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra besiyeri 50°C'ye soğutulup içine % 1'lik potasyum tellurit çözeltisinden 1 ml ve steril olarak hazırlanmış basitrasın çözeltisinden (20 unit/ml) ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra petri kaplarına dökülmüştür (27,32,56,71 ).

#### **2.1.4. Araştırmada Kullanılan Çözeltiler:**

##### **2.1.4.1. Ampisilin Çözeltisi:**

Bu çözeltiyi hazırlamak için beher kapsülde 250 mg ampisilin içeren alfasilin kapsülleri kullanılmıştır. Çözelti 1 litre çeşme suyunda 200 mg olan ampisilin bulunacak şekilde hazırlanmıştır.

##### **2.1.4.2. 0.05 M (pH = 7.1) Fosfat Tampon Çözeltisi:**

A çözeltisi; 0.78 gr.  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  100 ml distile suda çözülür.

B çözeltisi; 1.79 gr.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  100 ml distile suda çözülür.

33 ml A çözeltisi + 67 ml B çözeltisi + 100 ml distile su karıştırılarak 0.05 M fosfat tampon (pH: 7.1) çözeltisi hazırlanmıştır (83,122).

##### **2.1.4.3. İzotonik NaCl Çözeltisi (Serum Fizyolojik):**

% 0.85 NaCl çözeltisi kullanılmıştır. 100 ml distile suda 0.85 gr NaCl çözülerek, tüplere paylaştırılmış ve 121°C' de 15 dakika sterilize edilmiştir.

##### **2.1.4.4. Basitrasın Çözeltisi:**

Bu çalışmada, Basitrasın B-0125 0.78 g. 65.000 unit/g (SIGMA Chemical Co. P.O. Box. St. Louis, USA) kullanılmıştır.

Basitrasın çözeltisi aseptik koşullar altında önceden steril edilmiş distile su kullanılarak 20 unit/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

##### **2.1.4.5. % 1'lik Potasyum Tellürit Çözeltisi ( $\text{K}_2\text{TeO}_3$ ):**

1 g. Potasyum Tellürit 100 ml suda çözüldükten sonra membran filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir.

##### **2.1.4.6. Formol Çözeltisi:**

Deney hayvanlarının diseksiyonundan sonra, çenelerin saklanması için % 4'lük formol çözeltisi hazırlanmıştır.

### 2.1.5. Deney Hayvanlarının Beslenmesinde Kullanılan Yemler ve İçerikleri:

Deney hayvanlarının beslenmesinde içerik olarak farklı toz ve pellet formunda dört çeşit yem kullanılmıştır. Toz formundaki yemler E.Ü. Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Yemler ve Hayvan Beslenme A.B.D. Yem Ünitesinde hazırlanmıştır. Yem içerikleri önce steril edilmiş, daha sonrada bu bölüm laboratuvarlarında 25 kg.' a kadar madde içine alan büyük blenderlarda (yem karıştırıcılarında) maddeler homogen bir hal alıncaya kadar karıştırılmışlardır. Pellet formundaki yemler, Tarış Yem Fabrikasından temin edilmiştir ve bu yemler rutinde albino ratlar ve kobaylar için laboratuvarlarda kullanılmaktadır.

#### 2.1.5.1. Toz Yemlerin Hazırlanması:

İçerik olarak birbirinden farklı olan toz yemlerde standardizasyonu sağlayabilmek ve ratların besinsel ihtiyaçlarını karşılayabilmek için "bazal yem" hazırlanmıştır.

##### 2.1.5.1.1. Bazal Yemin İçerikleri:

Deney I, II ve III' de kullanılan toz formundaki yemlerin % 50' sini oluşturan ve karbonhidrat içermeyen "bazal yemin" hammadde içerikleri ve besin değerleri Tablo-8 ve 9' da gösterilmiştir.

**Tablo 8. Bazal yemin hammadde içerikleri.**

Hammadde	%
Süt tozu	42.00
Soya küspesi	15.00
Talaş	10.00
Silisyum dioksit	5.40
Soya yağı	9.00
Ayçiçek yağı	4.00
Dikalsiyum fosfat	6.40
Potasyum klorür	1.82
Sodyum klorür	0.74
Sodyum karbonat	0.90
DL. Methionin	0.20
Vitamin ve mineral karışımı	4.54

**Tablo 9. Bazal yemin besin değerleri.**

Besin Maddeleri	%
Kuru madde	88.97
Ham protein	22.00
Ham yağ	12.00
Ham sellüloz	9.20
Kalsiyum	1.98
Fosfor	1.61
Metabolik enerji (kcal/kg)	2528.40

Mineral karışımı her 1 kg' ında, 80.000 mg manganez, 60.000 mg demir, 60.000 mg çinko, 5.000 mg bakır, 200 mg kobalt, 1.000 mg iyot, 150 mg selenyum, 446.925 mg kalsiyum karbonat içermektedir.

Vitamin karışımı her 2.5 kg' ında 15.000.000 IU Vitamin A, 1.500.000 IU Vitamin D<sub>3</sub>, 40.000 mg Vitamin E, 5.000 mg Vitamin K<sub>3</sub>, 3.000 mg Vitamin B<sub>1</sub>, 8.000 mg Vitamin B<sub>2</sub>, 25.000 mg niasin, 15.000 mg kalsiyum D-pantotenat, 5.000 mg Vitamin B<sub>6</sub>, 20 mg Vitamin B<sub>12</sub>, 1.000 mg folik asit, 70 mg D-biotin, 200.000 mg kolin klorit, 15.000 mg Vitamin C içermektedir.

#### 2.1.5.1.2. Bazal Yeme Katılan Karbonhidratlar:

**SAKKAROZ (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>):** Ticari olarak 1 kg'lık paketlerde bulunan Sakkaroz (Merck) kullanılmıştır.

**GLİKOZ (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>.H<sub>2</sub>O):** Ticari olarak 1 kg'lık paketlerde bulunan Glikoz (Merck) kullanılmıştır.

**XYLİTOL (Xylite) (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>):** Ticari olarak 500 gr'lık paketlerde bulunan xylitol (Sigma) kullanılmıştır.

**NİŞASTA (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)<sub>n</sub>:** Açık ambalajda olmak üzere toz halde, piyasadan temin edilmiştir.

#### 2.1.5.1.3. Toz Yemlerin Karbonhidrat Oranları:

##### 2.1.5.1.3.1. Deney I' de Kullanılan Toz Yem:

% 50 Bazal yem + % 50 Nişasta

**2.1.5.1.3.2. Deney II' de Kullanılan Toz Yem:**

% 50 Bazal yem + % 25 Nişasta + % 20 sakkaroz + % 5 Glikoz

**2.1.5.1.3.3. Deney III' de Kullanılan Toz Yem:**

% 50 Bazal yem + % 25 Nişasta + % 15 Sakkaroz + % 5 Glikoz +  
% 5 Xylitol

**2.1.5.2. Pellet Yemler:**

Deney IV ve V' de kullanılan pellet formundaki yemlerin hammadde içerikleri ve besin değerleri Tablo-10 ve 11 de gösterilmiştir.

**Tablo 10. Pellet yemlerin hammadde içerikleri.**

Hammadde	ton/kg
Arpa	300.00
Mısır	250.00
Razmol	200.00
Ayçiçeği küspesi	180.00
Balık unu	30.00
Melas	28.00
Mermer tozu	6.00
Tuz	5.00
Rovimix 301-F	1.00

**Tablo 11: Pellet yemlerin besin değerleri**

Besleyici Maddeleri	%
Protein	16.761
Enerji	2490.700
Selüloz	6.781
Yağ	3.032
Kül	4.700
Kalsiyum	0.515
Top. Fosfor	0.516
Haz. Fosfor Tav.	0.226
Haz. Fosfor Civ.	0.200
Lysine	0.675
Methionine	0.363
Meth + Cyst	0.698
Sodyum	0.279
Nişasta değeri	66.600

## **2.2. YÖNTEM**

### **2.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması:**

Deneysel çalışmalara başlamadan önce hayvanların vücut ağırlıkları ölçülerek füksin ile işaretlenmiştir, ayrıca dişi ve erkek olarak cinsiyet gruplandırılmaları yapılmıştır. Her bir kafeste 5 adet olmak üzere 50 deney hayvanı deneysel çalışma kapsamına alınmıştır.

Deneysel çalışmamızda, hayvanlar için kullanılan kafesler, 30 cm. eninde, 30 cm derinliğinde ve 20 cm yüksekliğinde olup, galvanize saçtan ve sık delikli kalın tel örgüden yapılmış kapaktan oluşmaktadır. Kafeslerin içinde yataklık olarak saman kullanılmıştır.

Deney hayvanlarının içme suları, kafesin kapağından sarkıtılan şişe ile sağlanmış ve içme suyu olarak çeşme suyu kullanılmıştır. Su şişesinin ağzına kapatılan mantar tıpanın ortasına açılan bir deliğe metal boru yerleştirilerek hayvanların bu borunun ucundan sularını içmesi sağlanmıştır (24,80).

### **2.2.2. Deney Hayvanlarına Antibiyotik Verilmesi:**

Deney hayvanlarının oral floralarını baskılamak amacı ile, deneysel çalışmanın başlangıcından itibaren 2 gün süreyle hayvanlara ampisilinli (200 mg/lt) su verilmiştir. İkinci günden sonra normal çeşme suyuna geçilmiştir (81).

### **2.2.3. Mikroorganizma Kültürünün Hazırlanması:**

Tüm mikrobiyolojik işlemler E.Ü. Fen Fakültesi Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji A.B.D.' da gerçekleştirilmiştir.

### 2.2.3.1. Liyofilize Kùltürünün Açılması:

*S. mutans* CCUG 6519 serotip c liyofilize kùltürünü içeren cam tûp (Resim-1), aseptik koşullarda açılarak içindeki liyofilize kùltür daha önceden hazırlanmış olan tripton soya broth ile süspansiyon edilmiş ve 30 dakika çözünmeye bırakılmıştır. Daha sonra çözünen süspansiyondan tripton soya broth içeren tûplere ekim yapılarak 37°C' de % 95 N<sub>2</sub>+% 5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı içeren anaerobik ortam içinde 24 saat inkübe edilmiştir



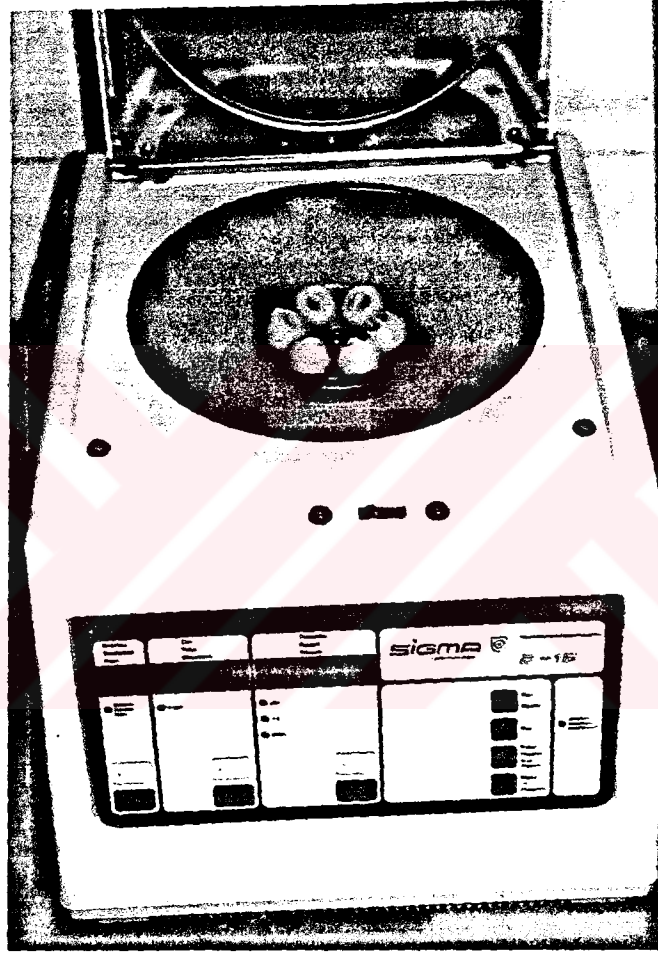
Resim-1. *S.mutans* CCUG 6519' un Liyofilize kùltürü

İnkübasyon sonunda üreyen bakteri kùltüründen tekrar tripton soya broth' a transfer edilerek yukarıda anlatıldığı şekilde 24 saat inkübasyonla bakteri kùltürü aktif hale getirilmiştir. Bu kùltürden, yatık olarak hazırlanmış tripton soya agara ekim yapıp aynı koşullarda inkübasyondan sonra stok kùltür olarak +4°C' de saklanmış ve stoklar her 15 günde bir transfer edilerek mikroorganizmanın canlılığı devam ettirilmiştir (32,52).

### 2.2.3.2. Aşı Kùltürünün Hazırlanması:

*S. mutans* suşundan aşı kùltürü hazırlanırken, aktif kùltürden 500 ml' lik erlen içerisindeki 300 ml Triptic Soy Broth'a ekim yapılmıştır (90,101,111). 37°C' de, % 95 N<sub>2</sub> + % 5 CO<sub>2</sub> gaz karışımında 18 saatlik inkübasyondan sonra

hücreler aseptik koşullar altında 5000 devirde 5 dakika santrifüj (SIGMA-Gmbh 2-15) edilerek sıvı ortamdan ayrılmış ve üstte kalan sıvı atılmıştır. Bundan sonra hücreler 10 ml izotonik NaCl çözeltisi ile yeniden süspansiyon haline getirilerek aynı şekilde santrifüj edilmiştir (64)(Resim-2). Bu yıkama işlemi 2 kez daha tekrarlandıktan sonra bakteri hücreleri 20 ml izotonik NaCl çözeltisinde bırakılmıştır.



**Resim-2. Bakterilerin Yıkama İşleminin Yapıldığı Santrifüj Cihazı**

Daha sonra standardizasyonu sağlamak amacıyla tüp karıştırıcısında (vortex) (NÜVE NM 110) (1,2,18,32,111) iyice karıştırılarak, spektrofotometrede (Pharmacia LKB. Novaspec II) 550 nanometrede absorban (Resim-3) ölçülmüştür (46,90). Spektrofotometrede absorbanı okunan bu hücre süspansiyonundan seyreltme plaka yöntemi ile yapılan canlı sayımlar sonucunda da mililitrede bulunan canlı bakteri sayısı  $6.8 \times 10^9$  -  $7.0 \times 10^9$  cfu/ml olarak belirlenmiştir (101).





**Resim-3: Spektrofotometre Cihazı**

#### **2.2.3.3. Test Organizmasının Deney Hayvanlarına Verilmesi:**

Deney hayvanlarına 2 gün antibiyotikli su içirildikten sonra, yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan hücre süspansiyonundan 0.1 ml hücre süspansiyonu direkt olarak bir pipet yardımı ile hayvanların ağızlarına inoküle edilmiştir (Resim-4). Ayrıca 1 ml hücre süspansiyonu da 200 ml içme suyuna ilave edilerek, bu su hayvanlara içirilmiştir (13,90).

#### **2.2.4. Deney Hayvanlarının Beslenmesi ve Bakımı:**

2.1. de anlatıldığı şekilde hazırlanan Swiss albino ratları, herbiri 10 adet olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Herbir grup 5 erkek 5 dişi olacak şekilde 2 ayrı kafeste beslenmiş ve denemeler için toplam 10 adet rat kafesi kullanılmıştır.



**Resim-4. Deney Hayvanlarına Pipetle Bakteri Süspansiyonunun Verilmesi**

Bütün deneme süresi boyunca deney hayvanlarının bakımları ve beslenmeleri E.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarlarında sürdürülmüştür.

**DENEY GRUPLARI:**

**I. grup:** *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek, % 50 Bazal yem + % 50 nişastadan oluşan toz diyetle beslenmiştir.

**II. grup:** *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek, % 50 Bazal yem + % 25 nişasta + % 20 Sakkaroz + % 5 Glikozdan oluşan toz diyetle beslenmiştir.

**III. grup:** *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek, % 50 Bazal yem + % 25 nişasta + % 15 Sakkaroz + % 5 Glikoz + % 5 Xylitol' dan oluşan toz diyetle beslenmiştir.

**IV. grup:** *S. mutans* CCUG 6519 suşu ie inoküle edilerek laboratuvar diyeti olan pellet yemle beslenmiştir.

**V. grup:** *S. mutans* CCUG 6519 suşu verilmeksizin, laboratuvar diyeti olan pellet yemle beslenmiştir.

Her bir deneysel çalışma 90 gün sürdürülmüştür. Deneme süresi boyunca deney hayvanları haftada bir tartılarak ağırlıkları bir çizelgeye işlenmiştir. Ayrıca hayvanların kanışmaması için vücutlarının farklı bölgelerine sürülen boyalar yenilenmiştir.

Hayvanların toz şeklinde hazırlanmış yemleri, sert plastikten yapılmış kaplara konarak, kafes içinde uygun bir köşeye yerleştirilmiştir, yemlerin ziyan olmaması için deney öncesi yapılan pilot çalışmada, hayvanların günde tükettikleri yem miktarı saptanmış, buna göre kontrollü bir şekilde yemler hergün aynı saatte hayvanlara verilmiştir. Pellet yemler de kontrollü bir şekilde kafes üzerindeki deliklere konmuştur ve bu yemler de hergün belirli saatlerde hayvanlara verilmiştir.

Hayvanların genel sağlık durumları ve dışıkları düzenli olarak kontrol edilmiştir. Hayvanların içme suları hergün değiştirilerek tazelenmiştir. Ayrıca içme sularının bulunduğu cam şişeler de herhangi bir enfeksiyona karşı sık sık dezenfekte edilmiştir. Yem kapları hergün, kafesler haftada bir temizlenerek yataklık samanlar değiştirilmiş ve ortam sık sık havalandırılmış ve haftada bir dezenfekte edilmiştir. Hayvanların herhangi bir enfeksiyona maruz kalmamaları için bakımlarına özen gösterilmiştir.

## **2.2.5. Mikrobiyolojik Analizler:**

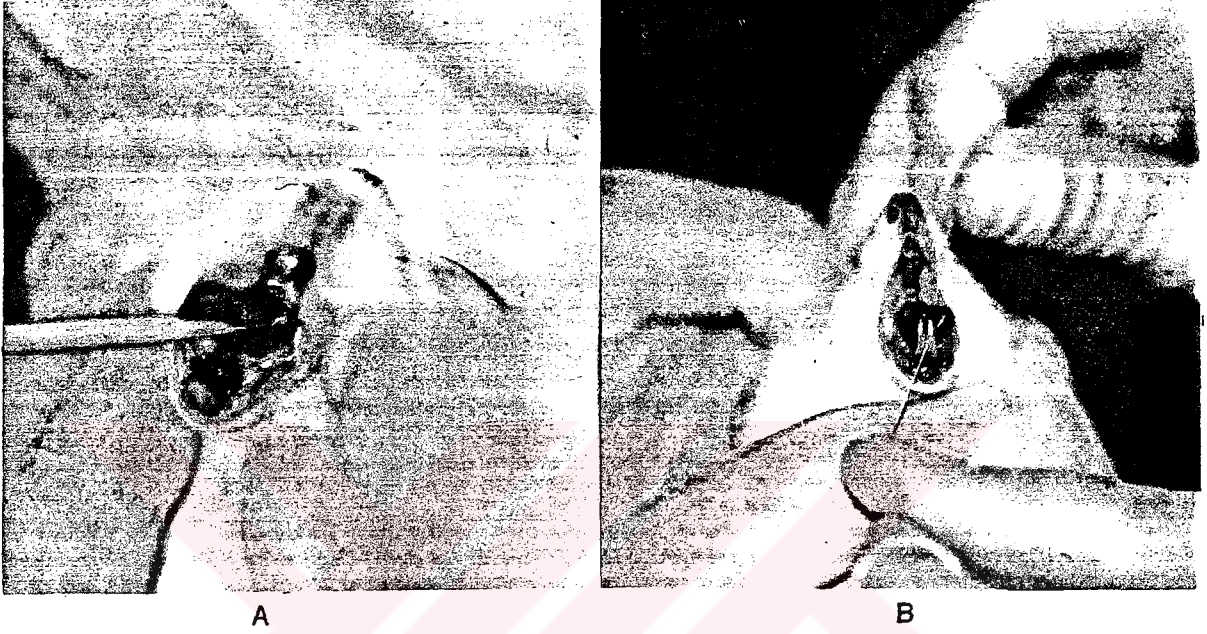
### **2.2.5.1. Deney Hayvanlarından Plak Alınması:**

Deneysel çalışmanın sonunda deney hayvanlarının dişlerinden plak örnekleri alınmıştır. Fissür ve interaproximal plak örnekleri alımı için önceden steril edilmiş ince uçlu tahta çubuklardan ve diş ipliklerinden yararlanılmıştır. Deney hayvanı henüz canlı iken bir yardımcı aracılığı ile ince uçlu tahta çubukla mandibuler azı dişlerinin fissürlerinden diş ipliği ile de alt kesicilerin interaproximalinden dental plak örnekleri toplanmıştır (48,52) (Resim-5).

Her bölgeden toplanan dental plak miktarının standart olarak ayarlanabilmesi zor olduğundan yukarıda belirtilen dişlerden dental plak örnekleri ip ve kürdanla 2 kez sıyırarak alınmıştır.

### **2.2.5.2.Seyreltme Plaka Yöntemi ile Bakteri sayımı**

Plak örneklerindeki kültür edilebilen toplam bakteri sayısı ve *S.mutans* CCUG 6519' un sayısının belirlenmesinde seyreltme plaka (dökme plaka) yöntemi uygulanmıştır (28).

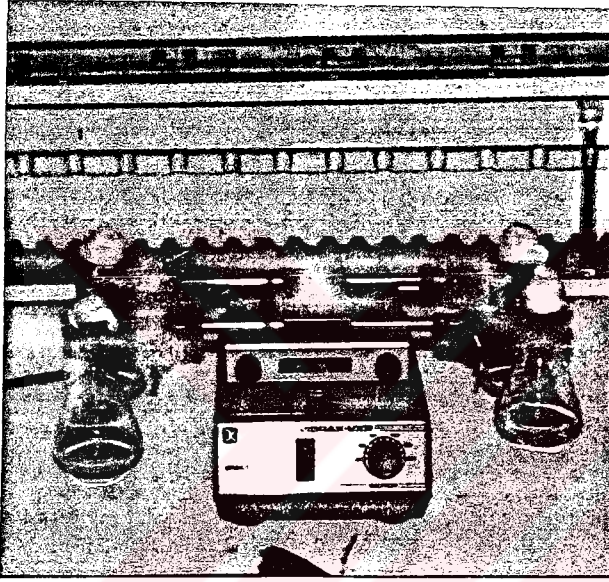


**Resim-5. Deney Hayvanlarından Fissür (A) ve İnteraproximal (B) Plak Örneklerinin Toplanması**

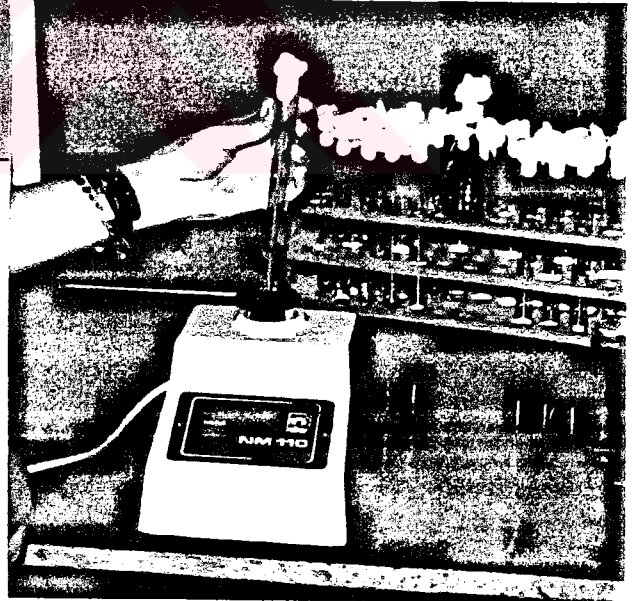
#### **2.2.5.2.1. Plak Örneklerinden Seyreltmelerin Hazırlanması:**

Aproximal bölgeden alınan dental plak örnekleri önceden hazırlanıp steril edilmiş ve numaralandırılmış 10' ar ml fosfat tampon içeren 100 ml' lik erlenlere konmuştur. Fissür dental plak örnekleri de aynı şekilde hazırlanmış 10' ar ml fosfat tampon içeren tüplere konmuştur. Bütün plak örnekleri hemen mikrobiyolojik analiz için mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Mikrobiyolojik işlemlere 1-2 saat içinde başlanıldığından transport ortamı kullanılmamıştır.

Laboratuvara getirilen erlenler 30 dakika mekanik karıştırıcıda (IKA-VIBRAX-VXR), tüpler ise vortexde 60 saniye iyice karıştırıldıktan sonra seyreltme işlemlerine geçilmiştir (Resim-6). Bir plak örneğinden 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000' lik seyreltmeler şekil de gösterildiği gibi hazırlanmıştır (Şekil 7).

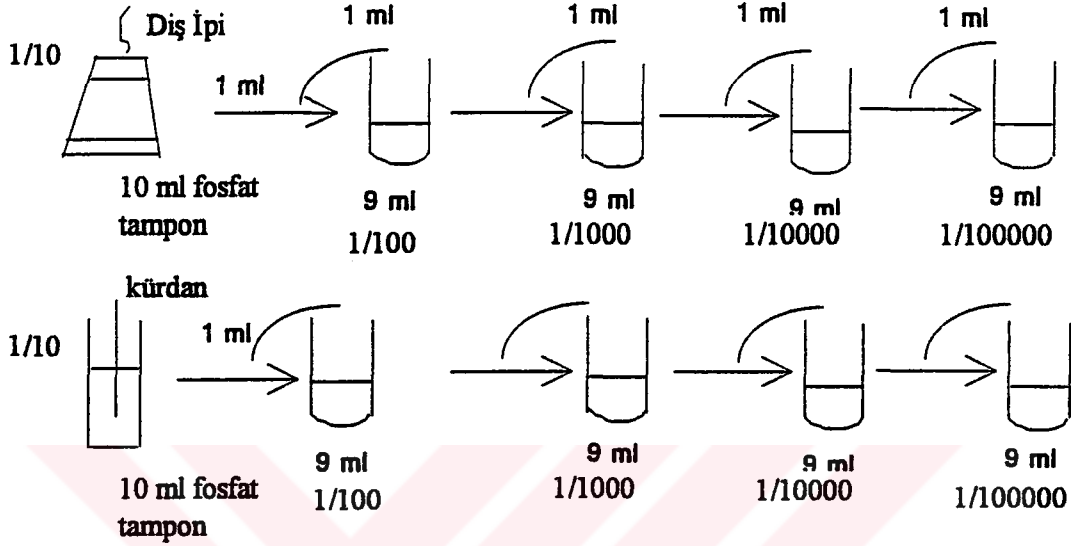


A



B

**Resim-6. Mekanik karıştırıcıda (A) erlenlerin, vortexte (B) tüplerin karıştırılması**



**Şekil-7. Plak Örnekleri için Hazırlanan Seyreltmeler**

#### 2.2.5.2.2. Seyreltmelerden Besiyelerine Ekimlerin Yapılması:

Hazırlanan bu seyreltmelerin herbirinden birer ml alınarak, boş steril petri kaplarına konmuştur. Daha sonra bu süspansiyonların üzerine katılaşma derecesine yakın bir değere kadar (45-50°C) soğutulmuş, yaklaşık 20 ml kan agarı ilave edilmiştir. Aynı işlemler, aynı şekilde seyreltmelerin herbirinden birer ml alınarak MSB agar için de tekrarlanmıştır. Plak süspansiyonunun agar içinde homojen olarak dağılmasını sağlamak amacı ile agar katılaşınca kadar elle rotasyon hareketi yaptırılmıştır (Resim-7). Agar katılaştıktan sonra petriler 37°C' de % 95 N<sub>2</sub> + % 5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı altında anaerobik etüvde 3 gün süreyle inkübe edilmiştir (5,6) (Resim-8).

### 2.2.5.3. Bakteriyel Sayımlar ve Değerlendirilmesi:

İnkübasyon sonucunda sadece 30-300 bakteri kolonisi (CFU, colony-forming units) içeren petripler sayılmıştır. Her bir plak örneğinin, her bir seyreltmesi için 2 petri ile paralelli çalışıldığından bakteri sayısı, uygun petriplerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

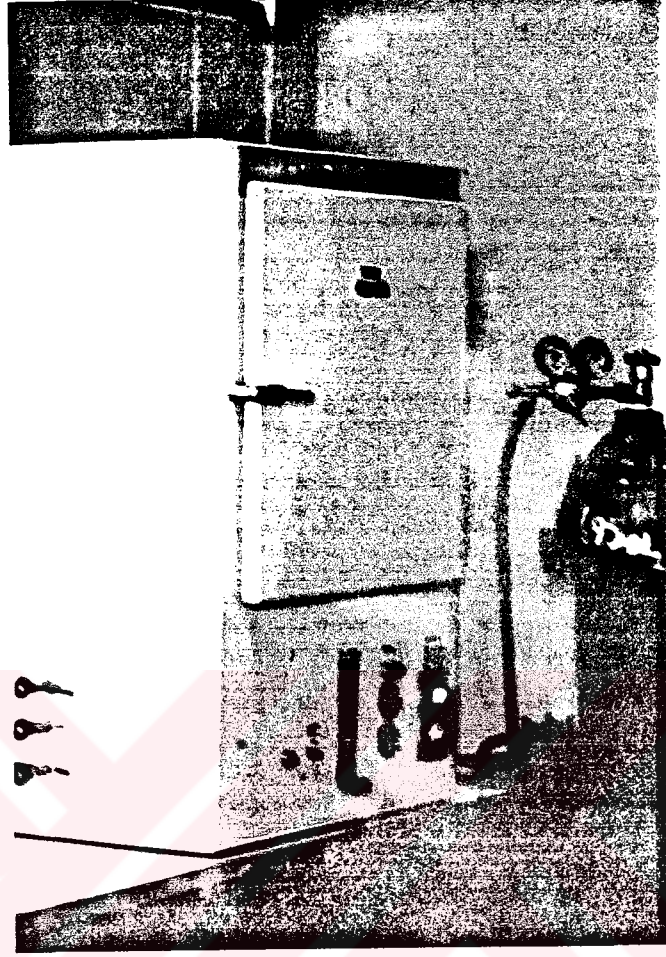
En iyi sayılabilen seyreltmeler olarak; Kan agarı için 1/10000 veya 1/100000' lik seyreltmeler, MSB agar için, fissür plak örneklerinde 1/10 ve 1/100' lük seyreltmeler, interaproximal plak örneklerinde ise 1/100 ve 1/1000' lik seyreltmeler belirlenmiştir (Resim-9).

Bunların dışındaki seyreltmeleri içeren petriplerde 30 ile 300 koloni sınırlarının dışında kaldıkları için sayım yapılamamıştır (Resim-10).

Bulunan ortalama bakteri sayıları, seyreltme faktörüyle çarpılarak, plak örneğindeki bakteri sayısı (CFU) hesaplanmıştır (122). Bu hesaplama işlemleri, fissür ve interaproximal plak örneklerinin hem kan agarındaki, hem de MSB agardaki bakteri sayımları için ayrı ayrı yapılmıştır.



Resim-7. Ekimleri yapılmış kan ve MSB agarlı petripler.

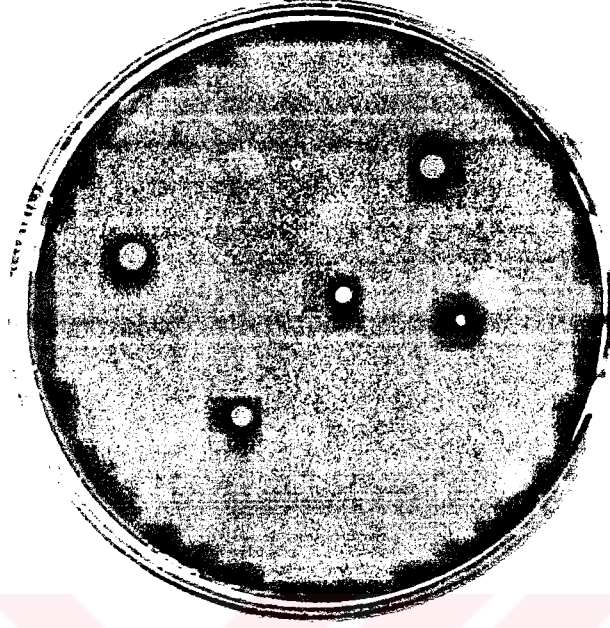


**Resim-8. Anaerobik Etüv**

#### **2.2.6. Deney Hayvanlarında Diş Çürüklerinin İncelenmesi:**

Deney süresinin sonunda, ratlar eter anestezisi altında dekapite edilmiştir. Hayvanların üst ve alt çeneleri diseke edilerek, kabaca etten arındırılmış ve % 4' lük formol içinde saklanmıştır. Daha sonra ratların tüm dişleri Lup altında (6.3 x 4 büyütmeyle) çürük yönünden incelenmiş ve her yarım çene kalıplar içinde polyestere gömülmüştür. Polyester sertleştikten sonra, örnekler, dişlerin yaklaşık bucco-lingual mesafesinin yarısına kadar aşındırılarak parlatılmıştır. Parlak kesitler 3 boyutlu binoküler ışık mikroskobunda ve (üstten aydınlatmalı) yansıtmalı ışık mikroskobunda detaylı bir şekilde incelenmiştir (Resim-11) .Mikroskobik incelemeler için Dokuz Eylül Müh. Fak. Makina Böl. Metalografi Laboratuvarındaki metal ve binoküler mikroskoplarından yararlanılmıştır.



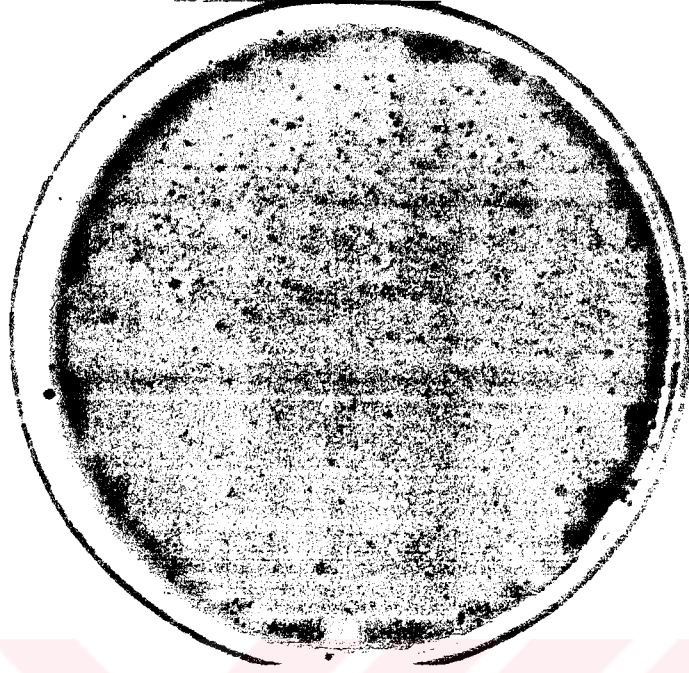


A



B

**Resim-9. Kan (A) ve MSB (B) agarda en iyi sayılabilen seyreltmeler.**



**Resim-10. MSB Agarda Sayılamayacak Kadar Fazla Koloni Oluşumu.**



**Resim-11. Polyestere Gömülmüş III. Gruptan Alınan Bir Yarım Çenenin Binoküler Işık Mikroskopundaki Görünümü (10x40 büyütme).  
d: dentin, p: pulpa, k: kemik, → mine**

### **2.2.7. İstatistik:**

Farklı yem grupları ile beslenen ratlardan interaproximal ve fissür olmak üzere farklı bölgelerden alınan plak örneklerinin hem birbiri ile hem de diğer gruplarla kıyaslanması için varyans analizi uygulanmıştır. Ayrıca farklı yemlerle beslenen ratların vücut ağırlıklarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları da yapılmıştır.

Deneysel çalışmanın sonucunda elde edilen tüm bakteriyal sayılar bilgisayarda  $\text{Log}_{10}$  değerlerine dönüştürülerek veriler arasındaki büyük farklılıklar azaltılarak gruplar arası irdeleme gerçekleştirilmiştir.

Tüm istatistiksel değerlendirmeler E.Ü. Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği bölümünde GENSTAT 5 İstatistik Paket Programı kullanılarak yapılmıştır. Grafikler ise Excel Programı ile çizilmiştir.

### 3. BULGULAR

Deneysel çalışmamız sonucunda, albino ratlardan alınan plak örneklerinin, **KAN** ve **MSB** agarlarındaki inkübasyonları sonucu üreyen bakterilerin, her deney grubu için ayrı ayrı ortalamaları hesaplanmıştır. Bunun sonucunda bakterilerin, gruplar (farklı diyetlerle beslenmiş olan Grup 1, 2, 3, 4 ve 5), bölgeler (anterior ve posterior diş bölgeleri) ve grup-bölge etkileşimlerinin önemi araştırılmıştır. Deneysel albino ratların, deney süresince haftalık ağırlık artışları izlenmiştir. Her bir gruptaki albino ratların vücut ağırlıklarındaki artışlar, zamana göre ve gruplara göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca farklı diyet grupları ile beslenen albino ratlardan alınan diş kesitlerinin, binoküler ve yansıtmalı ışık mikroskobu ile diş çürükleri yönünden analizleri yapılmıştır.

#### 3.1. Kan Agarda Toplam Bakteri Sayıları:

Farklı diyet grupları ile beslenen albino ratların anterior ve posterior diş bölgelerinden alınan plak örneklerinin KAN agardaki toplam bakteri sayıları tablolarda gösterilmiştir (Tablo-12,13,14,15,16).

##### 3.1.1. Birinci Grubun Toplam Bakteri Sayıları:

Birinci grubun Kan agarındaki toplam bakteri sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-12 ve Grafik-1 de gösterilmiştir.

##### 3.1.2. İkinci Grubun Toplam Bakteri Sayıları:

İkinci grubun Kan agarındaki toplam bakteri sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-13 ve Grafik-2 de gösterilmiştir.

##### 3.1.3. Üçüncü Grubun Toplam Bakteri Sayıları:

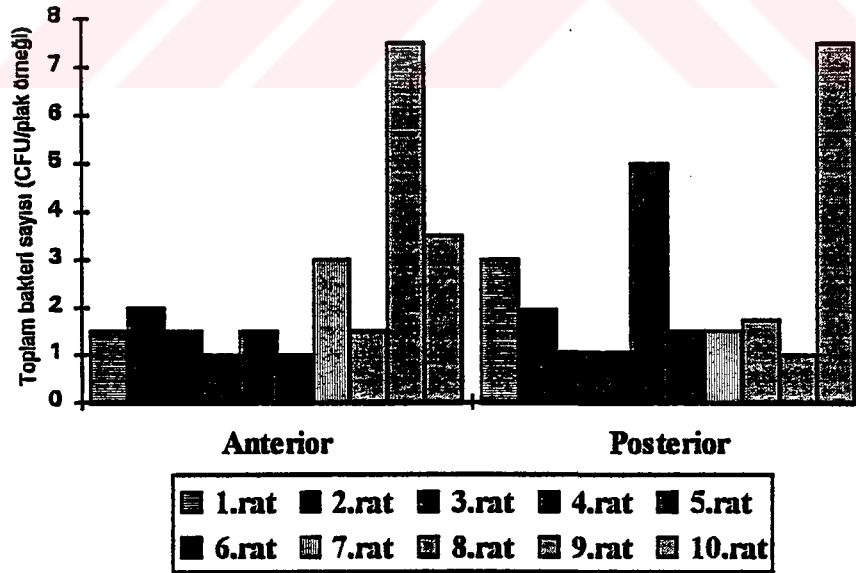
Üçüncü grubun Kan agarındaki toplam bakteri sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-14 ve Grafik-3 de gösterilmiştir.

##### 3.1.4. Dördüncü Grubun Toplam Bakteri Sayıları:

Dördüncü grubun Kan agarındaki toplam bakteri sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-15 ve Grafik-4 de gösterilmiştir.

**Tablo-12. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek % 50 Bazal diyet + % 50 Nişasta diyeti ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin kan agarında (37°C de 3 gün) toplam bakteri sayıları.**

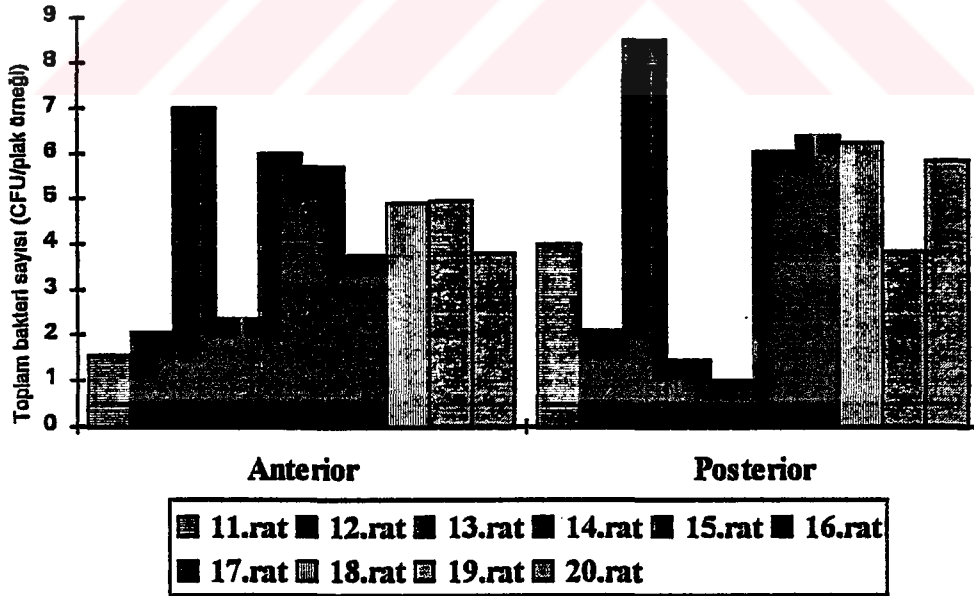
Rat No	Toplam Bakteri Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
1	$1.50 \times 10^5$	$3.00 \times 10^5$
2	$2.00 \times 10^4$	$1.95 \times 10^5$
3	$1.50 \times 10^4$	$1.05 \times 10^5$
4	$1.00 \times 10^4$	$1.05 \times 10^5$
5	$1.50 \times 10^3$	$5.00 \times 10^3$
6	$1.00 \times 10^5$	$1.50 \times 10^5$
7	$3.00 \times 10^4$	$1.50 \times 10^5$
8	$1.50 \times 10^4$	$1.75 \times 10^5$
9	$7.50 \times 10^4$	$1.00 \times 10^5$
10	$3.50 \times 10^4$	$7.50 \times 10^4$



**Grafik-1. Birinci Grubun Toplam Bakteri Sayıları.**

**Tablo-13. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek % 50 Bazal diyet + % 25 Nişasta + % 20 Sakkaroz + % 5 Glikoz diyeti ile beslenen ratlardan alınan plak örneklerinin kan agarında (37°C de 3 gün) toplam bakteri sayıları.**

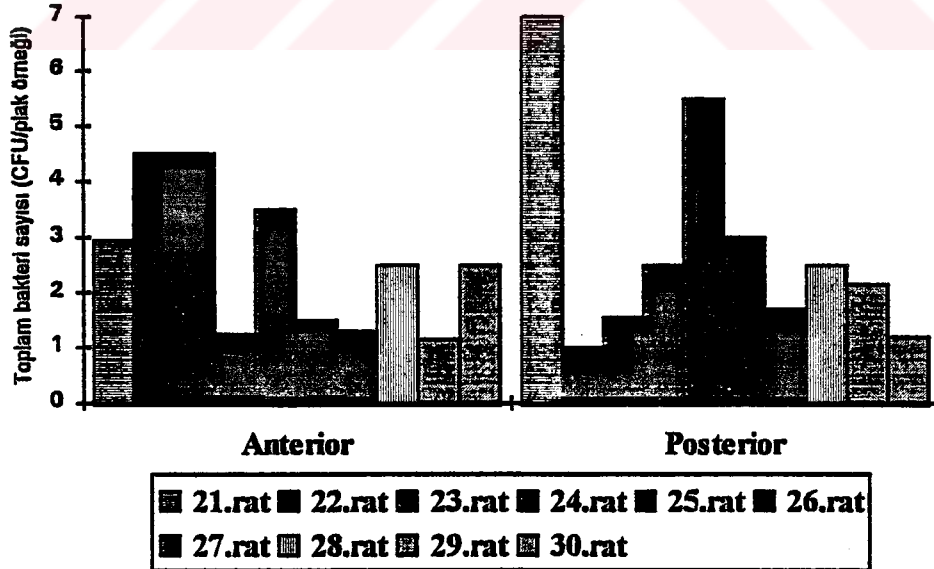
Rat No	Toplam Bakteri Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
11	1.55x10 <sup>5</sup>	4.00x10 <sup>5</sup>
12	2.05x10 <sup>5</sup>	2.10x10 <sup>6</sup>
13	7.00x10 <sup>4</sup>	8.50x10 <sup>5</sup>
14	2.35x10 <sup>5</sup>	1.45x10 <sup>6</sup>
15	6.00x10 <sup>5</sup>	1.00x10 <sup>6</sup>
16	5.70x10 <sup>5</sup>	6.05x10 <sup>5</sup>
17	3.75x10 <sup>6</sup>	6.40x10 <sup>6</sup>
18	4.90x10 <sup>6</sup>	6.25x10 <sup>6</sup>
19	4.95x10 <sup>5</sup>	3.85x10 <sup>6</sup>
20	3.80x10 <sup>6</sup>	5.85x10 <sup>6</sup>



**Grafik-2. İkinci Grubun Toplam Bakteri Sayıları**

**Tablo-14. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek % 50 Bazal diyet + % 25 Nişasta + % 15 Sakkarez + % 5 Glikoz + % 5 Xylitol diyeti ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin kan agarında (37°C de 3 gün) toplam bakteri sayıları.**

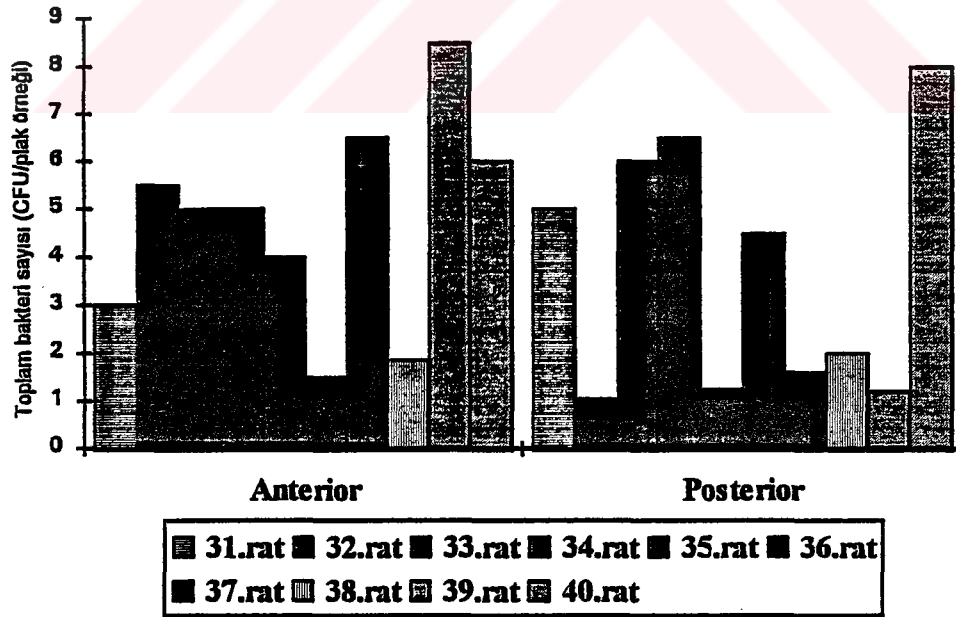
Rat No	Toplam Bakteri Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
21	$2.95 \times 10^5$	$7.00 \times 10^4$
22	$4.50 \times 10^4$	$1.00 \times 10^5$
23	$4.50 \times 10^5$	$1.55 \times 10^6$
24	$1.25 \times 10^6$	$2.50 \times 10^6$
25	$3.50 \times 10^5$	$5.50 \times 10^5$
26	$1.50 \times 10^4$	$3.00 \times 10^5$
27	$1.30 \times 10^5$	$1.70 \times 10^5$
28	$2.50 \times 10^5$	$2.50 \times 10^5$
29	$1.15 \times 10^5$	$2.15 \times 10^5$
30	$2.50 \times 10^4$	$1.20 \times 10^5$



**Grafik-3. Üçüncü Grubun Toplam Bakteri Sayıları**

**Tablo-15. *S. mutans* CCUG suşu ile inoküle edilerek, normal laboratuvar pellet yemleri ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin kan agarındaki (37°C de 3 gün) toplam bakteri sayıları.**

Rat No	Toplam Bakteri Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
31	$3.00 \times 10^5$	$5.00 \times 10^5$
32	$5.50 \times 10^4$	$1.05 \times 10^5$
33	$5.00 \times 10^4$	$6.00 \times 10^4$
34	$5.00 \times 10^4$	$6.50 \times 10^4$
35	$4.00 \times 10^4$	$1.25 \times 10^5$
36	$1.50 \times 10^4$	$4.50 \times 10^4$
37	$6.50 \times 10^5$	$1.60 \times 10^5$
38	$1.85 \times 10^5$	$2.00 \times 10^5$
39	$8.50 \times 10^4$	$1.20 \times 10^5$
40	$6.00 \times 10^4$	$8.00 \times 10^4$



**Grafik-4. Dördüncü Grubun Toplam Bakteri Sayıları**

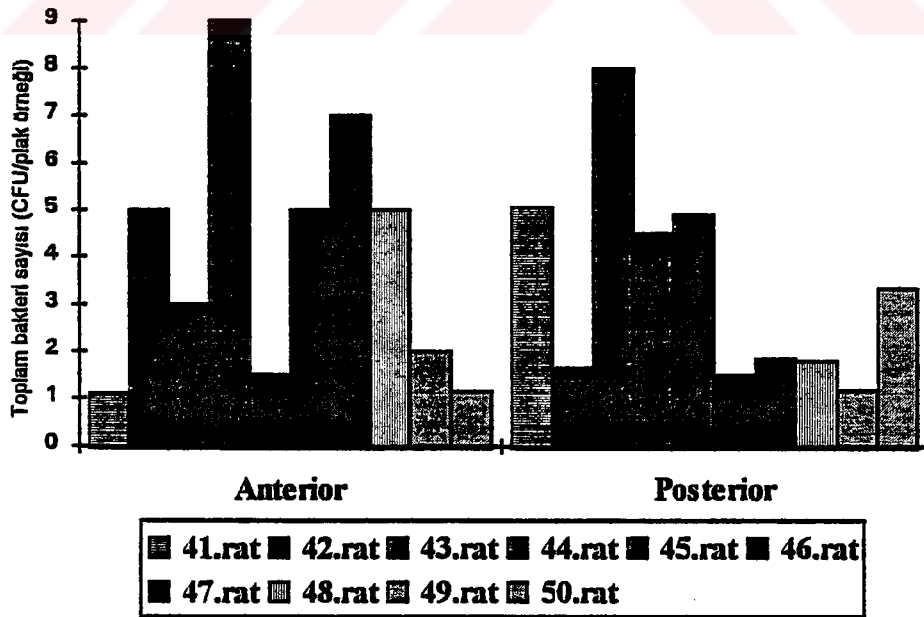


### 3.1.5. Beşinci Grubun Toplam Bakteri Sayıları:

Beşinci grubun Kan agarındaki toplam bakteri sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-16 ve Grafik-5 te gösterilmiştir.

**Tablo-16. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilmeden, normal laboratuvar pellet yemleri ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin kan agarındaki (37°C de 3 gün) toplam bakteri sayıları.**

Rat No	Toplam Bakteri Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
41	$1.10 \times 10^5$	$5.05 \times 10^5$
42	$5.00 \times 10^4$	$1.65 \times 10^5$
43	$3.00 \times 10^4$	$8.00 \times 10^4$
44	$9.00 \times 10^4$	$4.50 \times 10^5$
45	$1.50 \times 10^5$	$4.90 \times 10^5$
46	$5.00 \times 10^3$	$1.50 \times 10^4$
47	$7.00 \times 10^4$	$1.85 \times 10^5$
48	$5.00 \times 10^4$	$1.80 \times 10^5$
49	$2.00 \times 10^4$	$1.18 \times 10^5$
50	$1.15 \times 10^4$	$3.35 \times 10^4$



**Grafik-5. Beşinci Grubun Toplam Bakteri Sayıları**

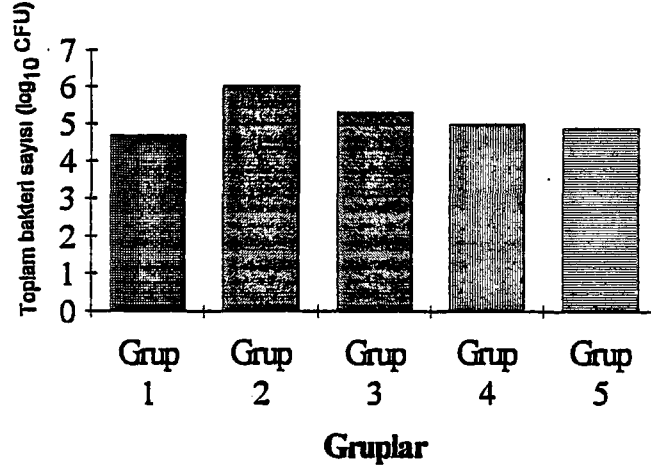
Tablolardaki bu değerlerin sayısal olarak büyük olmasında dolayı, veriler  $\log_{10}$  tabanına dntrlmtr. Buna göre; bakteri sayılarının ortalamaları ve standart hataları hesaplanmıştır (Tablo-17 ve Grafik-6).

**Tablo-17.** Kan agarında, herbir gruptaki toplam bakteri sayılarının ortalamaları  $\pm$  standart hataları.

Grup	Toplam bakteri sayısı ortalaması $\pm$ Standart hata		
	Anterior Bölge	Posterior Bölge	Anterior + Posterior Bölge
1	4.3902 $\pm$ 0.5756	4.9979 $\pm$ 0.4879	4.6940 $\pm$ 0.6057
2	5.7791 $\pm$ 0.6425	6.2752 $\pm$ 0.4470	6.0271 $\pm$ 0.5957
3	5.1564 $\pm$ 0.5999	5.4691 $\pm$ 0.5054	5.3127 $\pm$ 0.5632
4	4.9181 $\pm$ 0.4753	5.0549 $\pm$ 0.3020	4.9865 $\pm$ 0.3938
5	4.5953 $\pm$ 0.4641	5.1463 $\pm$ 0.5040	4.8708 $\pm$ 0.5498
Grupların Genel Ortalaması	4.9678 $\pm$ 0.7227	5.3887 $\pm$ 0.6468	5.1782 $\pm$ 0.7144

Gruplar arasında, bakteri sayılarının ortalamaları bakımından fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). En fazla toplam bakteri sayısı 2. grup, yani sakkorozlu diyetle beslenen grupta gözlenmiştir (Grafik-6). Bunu sırasıyla xylitollü diyetle beslenen grup, pellet diyetlerle beslenen grup ve niastalı diyetle beslenen grup izlemektedir.

Anterior ve posterior bölgeleri arasında bakteri sayılarının ortalamaları bakımından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Posterior bölgelerdeki bakteri sayısı, anterior bölgelere göre bütün gruplarda daha fazladır.

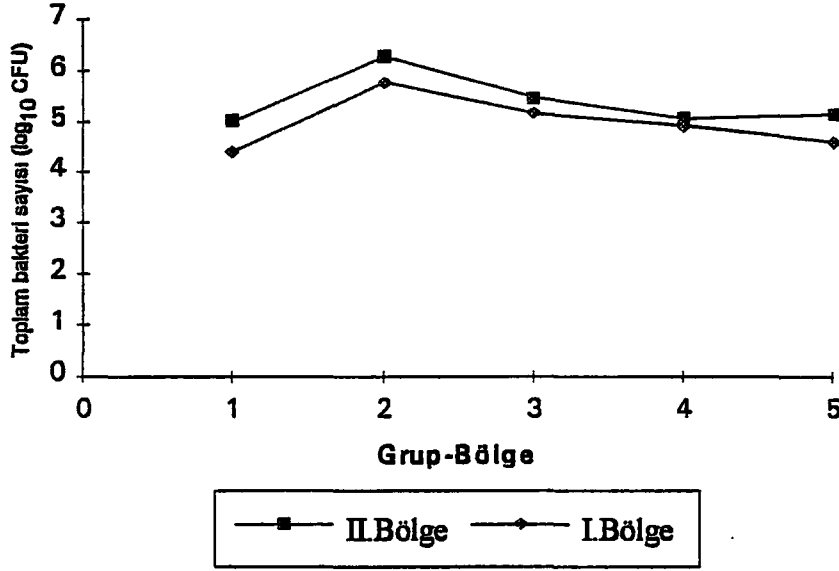


**Grafik-6.** Toplam Bakteri Sayılarının Gruplara Göre Dağılımı.

Grup 2 (sakkarozlu diyetle beslenen grup) ile Grup 3 (xyilitollü diyetle beslenen grup) karşılaştırıldığında, toplam bakteri sayıları açısından gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Ayrıca her iki grup için bölgeler arası fark ( $p < 0.001$ ) ve grup-bölge etkileşimleri istatistiksel olarak önemlidir ( $p = 0.033$ ).

Grup 4 (*S. mutans* inoküle edilen pellet yem grubu) ve grup 5 (*S. mutans* inoküle edilmeyen pellet yem grubu) birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arası fark önemli bulunmamıştır ( $p = 0.589$ ).

Kan agarında toplam bakteri sayıları bakımında Grup-bölge etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0.010$ ) (Grafik-7).



**Grafik-7.** Kan Agarda Toplam bakteri sayılarının Grup-Bölge etkileşimleri

### 3.2. MSB Agarda *S. mutans* CCUG 6519 Sayıları:

Farklı yem grupları ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin, *S. mutans* için özel seçici besiyeri olan MSB (Mitis Salivarius Basitrasin) agardaki bakteri sayıları tablolarda gösterilmiştir (Tablo-18,19,20,21,22).

#### 3.2.1. Birinci Grubun *S. mutans* Sayıları:

Birinci grubun MSB agardaki *S. mutans* sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-18 ve Grafik-8 de gösterilmiştir.

#### 3.2.2. İkinci Grubun *S. mutans* Sayıları:

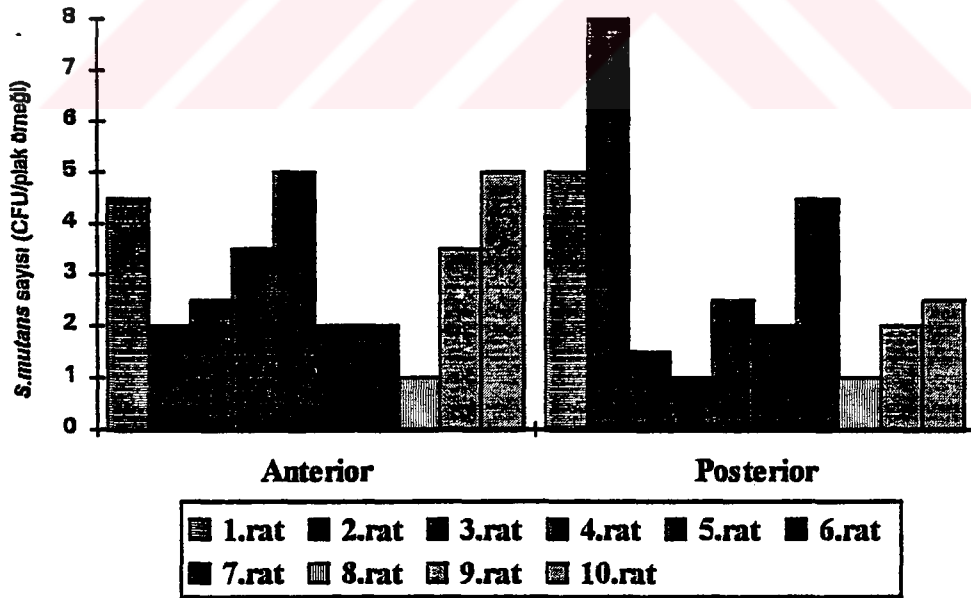
İkinci grubun MSB agardaki *S. mutans* sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-19 ve Grafik-9 da gösterilmiştir.

#### 3.2.3. Üçüncü Grubun *S. mutans* Sayıları:

Üçüncü grubun MSB agardaki *S. mutans* sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-20 ve Grafik-10 da gösterilmiştir.

**Tablo-18. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek % 50 Bazal diyet + % 50 Nişasta diyeti ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin MSB agardaki (37°C de 3 gün) *S. mutans* sayıları.**

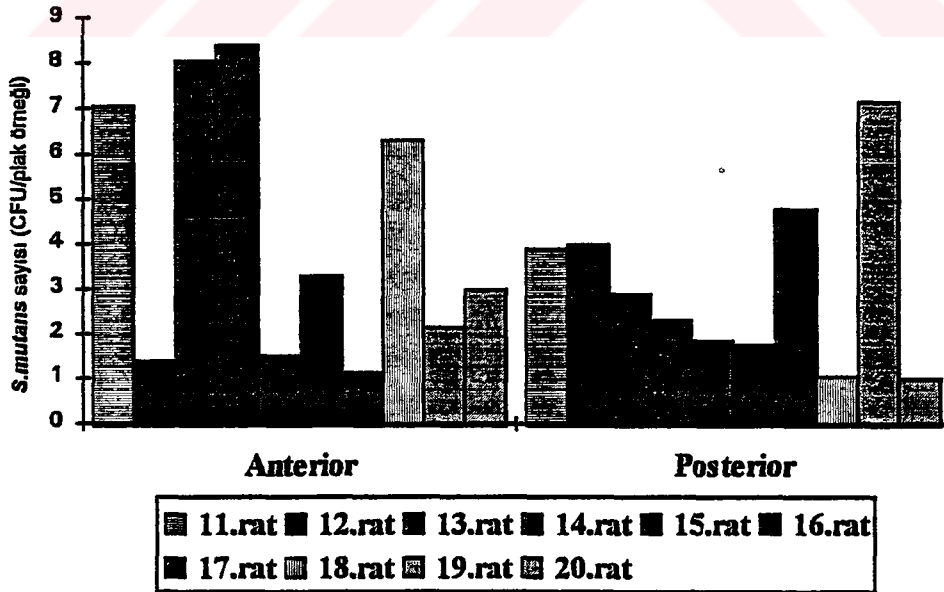
Rat No	<i>S. mutans</i> Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
1	$4.50 \times 10^2$	$5.00 \times 10^2$
2	$2.00 \times 10^2$	$8.00 \times 10^3$
3	$2.50 \times 10^2$	$1.50 \times 10^3$
4	$3.50 \times 10^2$	$1.00 \times 10^3$
5	$5.00 \times 10$	$2.50 \times 10^3$
6	$2.00 \times 10^2$	$2.00 \times 10^4$
7	$2.00 \times 10^2$	$4.50 \times 10^3$
8	$1.00 \times 10^2$	$1.00 \times 10^3$
9	$3.50 \times 10^2$	$2.00 \times 10^3$
10	$5.00 \times 10$	$2.50 \times 10^4$



**Grafik-8. Birinci Grubun *S. mutans* Sayıları**

**Tablo-19. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek %50 Bazal diyet + %25 Nişasta + %20 Sakkaroz + %5 Glikoz diyeti ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin MSB agardaki (37°C de 3 gün) *S. mutans* sayıları.**

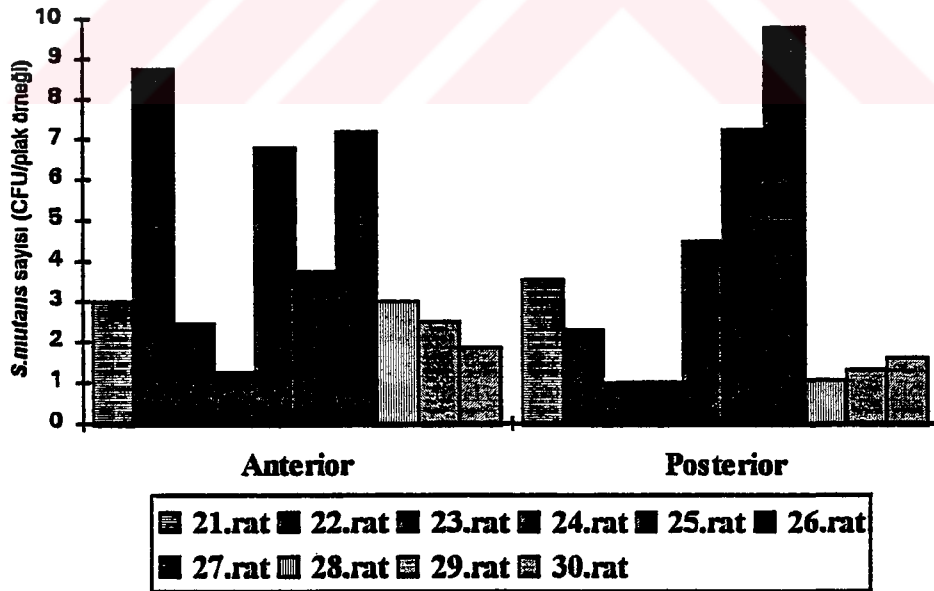
Rat No	<i>S. mutans</i> Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
11	$7.05 \times 10^3$	$3.90 \times 10^4$
12	$1.38 \times 10^4$	$4.00 \times 10^4$
13	$8.05 \times 10^3$	$2.90 \times 10^4$
14	$8.40 \times 10^4$	$2.32 \times 10^5$
15	$1.50 \times 10^4$	$1.85 \times 10^4$
16	$3.30 \times 10^2$	$1.75 \times 10^3$
17	$1.13 \times 10^3$	$4.80 \times 10^5$
18	$6.30 \times 10^3$	$1.05 \times 10^5$
19	$2.15 \times 10^3$	$7.15 \times 10^4$
20	$3.00 \times 10^3$	$1.00 \times 10^4$



**Grafik-9. İkinci Grubun *S. mutans* Sayıları**

**Tablo-20. *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek % 50 Bazal diyet + % 25 Nişasta + % 15 Sakkaroz + % 5 Glikoz + % 5 Xylitol diyeti ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin MSB agardaki (37°C 3 gün) *S. mutans* sayıları.**

Rat No	<i>S. mutans</i> Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
21	$3.00 \times 10^2$	$3.55 \times 10^3$
22	$8.75 \times 10^3$	$2.30 \times 10^4$
23	$2.45 \times 10^3$	$1.00 \times 10^4$
24	$1.24 \times 10^4$	$1.00 \times 10^3$
25	$6.80 \times 10^3$	$4.50 \times 10^3$
26	$3.75 \times 10^2$	$7.25 \times 10^3$
27	$7.20 \times 10^3$	$9.80 \times 10^3$
28	$3.00 \times 10^2$	$1.05 \times 10^3$
29	$2.50 \times 10^2$	$1.30 \times 10^3$
30	$1.85 \times 10^3$	$1.60 \times 10^3$



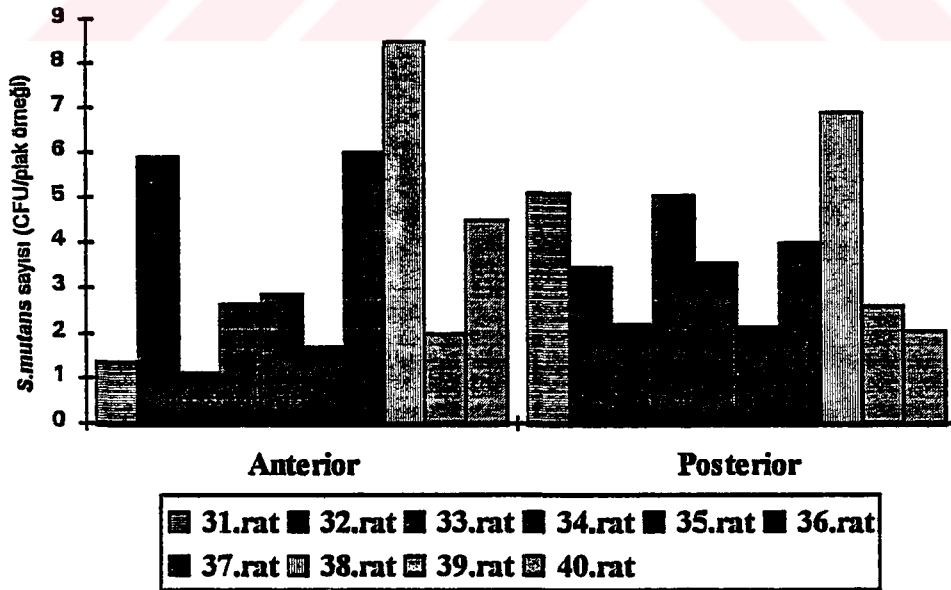
**Grafik-10. Üçüncü Grubun *S. mutans* Sayıları**

### 3.2.4. Dördüncü Grubun *S. mutans* Sayıları:

Dördüncü grubun MSB agardaki *S. mutans* sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-21 ve Grafik-11 de gösterilmiştir.

**Tablo-21.** *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilerek, normal laboratuvar pellet yemleri ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin MSB agardaki (37° de 3 gün) *S. mutans* sayıları.

Rat No	<i>S. mutans</i> Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
31	$1.35 \times 10^2$	$5.10 \times 10^3$
32	$5.90 \times 10^2$	$3.45 \times 10^3$
33	$1.12 \times 10^3$	$2.20 \times 10^3$
34	$2.65 \times 10^2$	$5.05 \times 10^3$
35	$2.85 \times 10^3$	$3.55 \times 10^3$
36	$1.700 \times 10^3$	$2.15 \times 10^3$
37	$6.00 \times 10^2$	$4.00 \times 10^3$
38	$8.50 \times 10^2$	$6.90 \times 10^3$
39	$2.00 \times 10^2$	$2.60 \times 10^3$
40	$4.50 \times 10^2$	$2.05 \times 10^3$



**Grafik-11.** Dördüncü Grubun *S. mutans* Sayıları

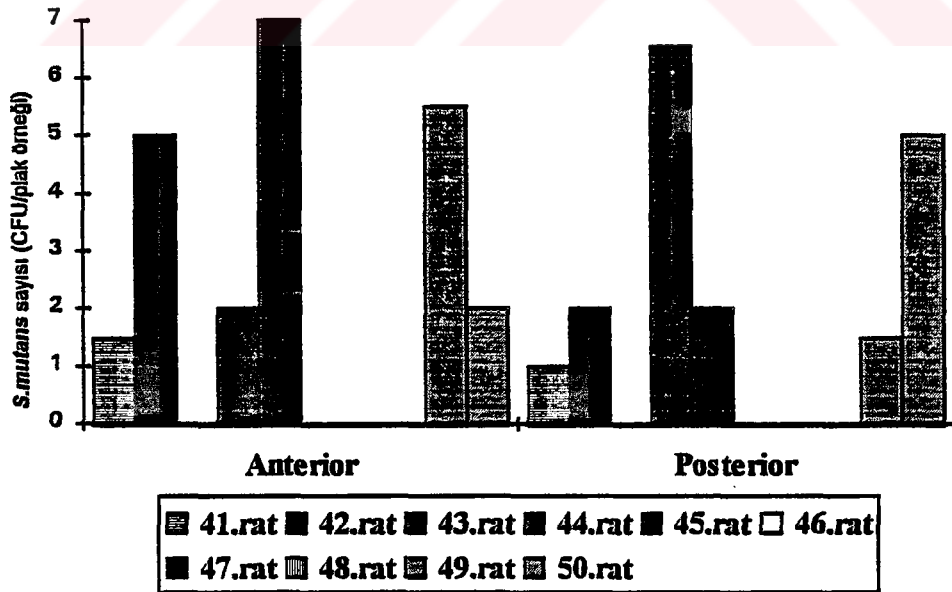


### 3.2.5. Beşinci Grubun *S. mutans* Sayıları:

Beşinci grubun MSB agardaki *S. mutans* sayıları (CFU/plak örneği) Tablo-22 ve Grafik-12 de gösterilmiştir.

Tablo-22: *S. mutans* CCUG 6519 suşu ile inoküle edilmeden, normal laboratuvar pellet yemleri ile beslenen albino ratlardan alınan plak örneklerinin MSB agardaki (37°C de 3 gün) *S. mutans* sayıları.

Rat No	<i>S. mutans</i> Sayısı (CFU/plak örneği)	
	Anterior Bölge	Posterior Bölge
41	$1.50 \times 10^2$	$1.00 \times 10^3$
42	5.00	$2.00 \times 10$
43	0	0
44	$2.00 \times 10^3$	$6.55 \times 10^3$
45	$7.00 \times 10$	$2.00 \times 10^2$
46	0	0
47	0	0
48	0	0
49	$5.50 \times 10$	$1.50 \times 10^2$
50	$2.00 \times 10$	$5.00 \times 10$



Grafik-12. Beşinci Grubun *S. mutans* Sayıları

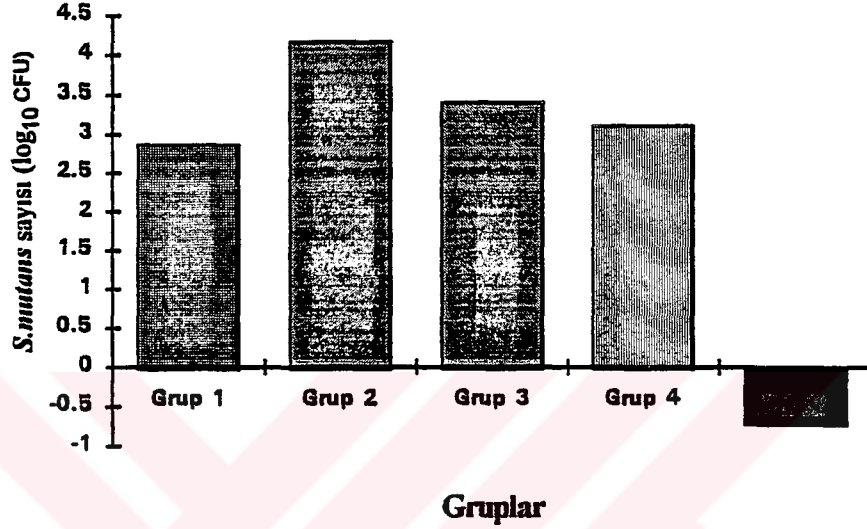
Kan agarında olduğu gibi, MSB agardaki *S. mutans* CCUG sayıları  $\log_{10}$  tabanına dönüştürülmüştür. Buna göre, bakteri sayılarının ortalamaları ve standart hataları hesaplanmıştır (Tablo-23 ve Grafik 13).

**Tablo-23.** MSB agarda, herbir gruptaki *S. mutans* sayılarının ortalamaları  $\pm$  standart hataları.

Grup	<i>S. mutans</i> sayısı ortalaması $\pm$ Standart hata		
	Anterior Bölge	Posterior Bölge	Anterior + Posterior Bölge
1	2.2440 $\pm$ 0.3391	3.4829 $\pm$ 0.5703	2.8635 $\pm$ 0.7826
2	3.7175 $\pm$ 0.6658	4.6088 $\pm$ 0.6934	4.1631 $\pm$ 0.8042
3	3.2308 $\pm$ 0.6906	3.5756 $\pm$ 0.4771	3.4032 $\pm$ 0.6042
4	2.6721 $\pm$ 0.5462	3.5341 $\pm$ 0.1818	3.1031 $\pm$ 0.5938
5	-0.8937 $\pm$ 3.5941	-0.5707 $\pm$ 3.8718	-0.7322 $\pm$ 3.6397
Grupların Genel Ortalaması	2.1941 $\pm$ 2.3029	2.9262 $\pm$ 2.4995	2.5601 $\pm$ 2.4192

Gruplar arasında, *S. mutans* sayılarının ortalamaları bakımından fark, istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.001$ ). En fazla *S. mutans* sayısı 2. grup yani sakkarozlu diyetle beslenen grupta gözlenmiştir. Bunu sırasıyla, xylitolü diyetle beslenen grup, bakteri inokülasyonlu pellet diyetle beslenen grup ve nişastalı diyetle beslenen grup izlemektedir. En az *S. mutans* sayısı bakteri inokülasyonsuz pellet diyet grubunda gözlenmiştir.

Anterior ve posterior bölgeleri arasında *S. mutans* sayılarının ortalamaları bakımından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Posterior bölgelerdeki *S. mutans* sayısı, anterior bölgelere göre son grup hariç daha fazladır. Son grup olan 5. grupta yani bakteri inokülasyonsuz pellet diyet grubunda *S. mutans*' in hiç veya çok az sayıda ürediği tespit edilmiştir.

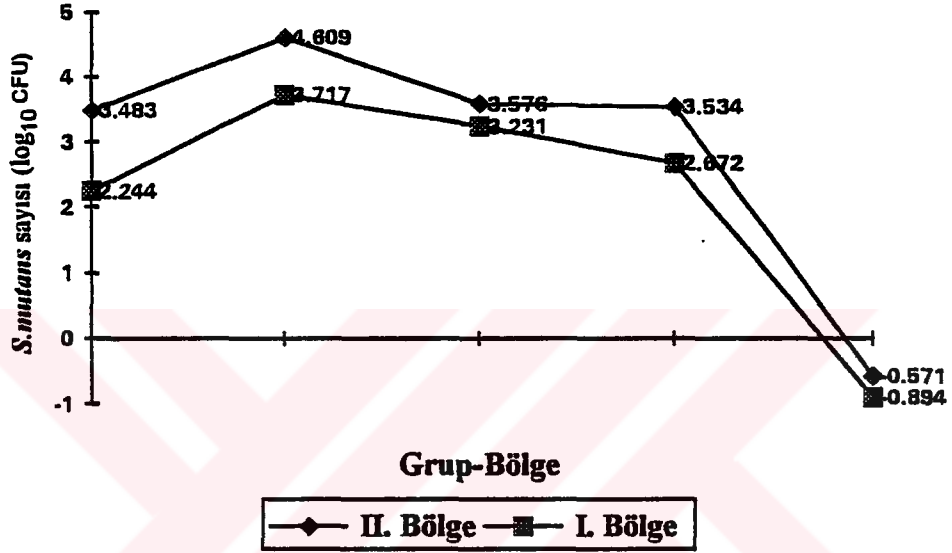


Grafik-13. *S. mutans* Sayılarının Gruplara Göre Dağılımı

Grup 2 (Sakkarozlu diyetle beslenen grup) ile Grup 3 (xylitollü diyetle beslenen grup) karşılaştırıldığında, *S. mutans* sayıları bakımından gruplar arası fark önemli bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Ayrıca her 2 grup için bölgeler arası *S. mutans* sayıları bakımından fark ve grup-bölge etkileşimleri önemlidir ( $p < 0.001$ ).

Grup 4 (*S. mutans* inoküle edilen pellet yem grubu) ve Grup 5 (*S. mutans* inoküle edilmeyen pellet yem grubu) birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arası *S. mutans* sayıları bakımından fark önemlidir ( $p < 0.001$ ). Buna karşılık *S. mutans* sayıları bakımından Grup 4' te bölgeler arası fark önemliyken ( $p < 0.001$ ) Grup 5' te önemsizdir ( $p > 0.05$ ).

MSB agarda *S. mutans* sayıları bakımından grup-bölge etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0.010$ ) (Grafik-14).



Grafik-14. MSB Agarda *S. mutans* Sayılarının Grup-Bölge Etkileşimleri

### 3.3. Deneysel Albino Ratlarn Vücut Ağırlıklarının Gruplara ve Zamana Göre Etkileşimleri:

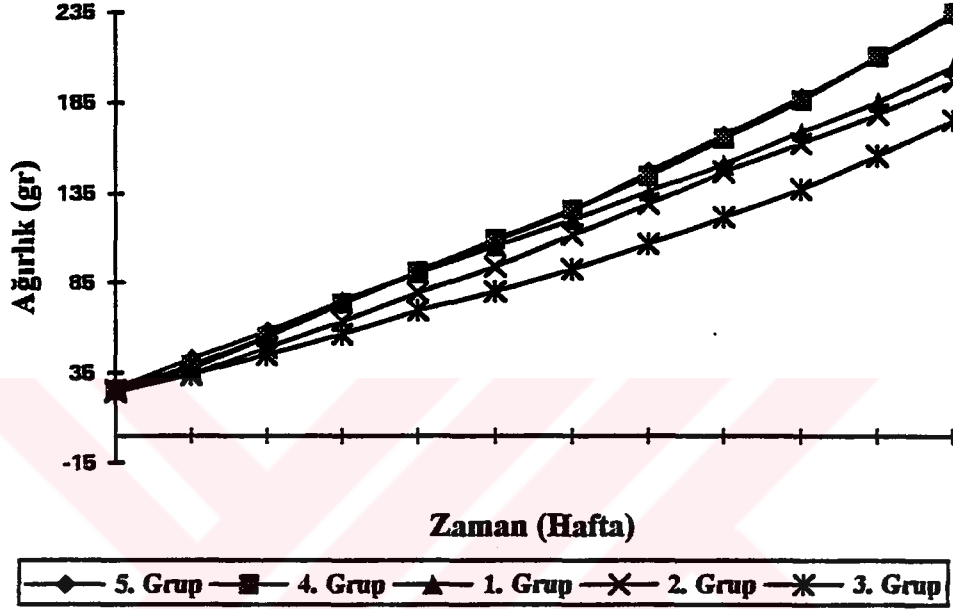
Deneysel albino ratların vücut ağırlıkları deney süresince (12 hafta) haftalık olarak izlenmiştir. Ağırlıkların ortalamaları alınmış ve zamana göre, gruplara göre ve grup-zaman etkileşimlerine göre istatistiksel önemi araştırılmıştır.(Tablo-24 ve Grafik-15)

**Tablo-24.** Deneysel albino ratların, haftalara göre vücut ağırlıklarının ortalamaları ve standart hataları.

Zaman	GRUPLAR (Ort±Standart Hata)					
	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	tüm grup
1. hafta	27.50± 2.64	25.50± 3.69	25.00± 3.33	25.50± 3.69	27.00± 3.50	26.10± 3.39
2.hafta	37.00± 3.50	34.00± 5.16	34.50± 3.69	39.00± 5.16	42.50± 4.25	37.40± 5.27
3.hafta	55.00± 4.08	49.00± 6.15	45.00± 4.08	55.00± 5.77	58.00± 5.37	52.40± 6.87
4.hafta	75.00± 5.27	63.50± 7.47	56.50± 5.80	73.50± 6.69	74.50± 7.25	68.60± 9.74
5.hafta	90.50± 5.99	79.50± 7.62	69.50± 5.40	91.00± 8.10	90.50± 8.96	84.20± 11.13
6.hafta	105.50± 7.25	94.00± 8.43	80.00± 7.07	109.50± 8.96	108.50± 10.81	99.50± 14.01
7.hafta	120.50± 7.98	112.00± 10.59	92.50± 7.17	126.00± 8.76	126.50± 10.01	115.50± 15.40
8.hafta	136.50± 7.84	129.50± 10.12	106.50± 8.84	144.50± 8.64	147.00± 11.60	132.80± 17.27
9.hafta	151.00± 8.43	147.00± 10.59	122.00± 9.49	165.00± 9.43	167.00± 11.60	150.40± 18.92
10.hafta	168.50± 9.14	162.50± 10.61	137.50± 10.34	186.50± 88.84	188.00± 12.52	168.60± 21.12
11.hafta	185.50± 8.64	178.50± 11.32	155.50± 11.41	211.00± 9.66	210.00± 13.12	188.10± 23.49
12.hafta	205.50± 8.32	197.50± 11.61	175.50± 12.12	235.00± 9.43	233.50± 12.70	209.40± 25.09
Genel ağırlık ort.sı	113.17± 56.45	106.04± 56.15	91.67± 47.44	121.79± 66.15	122.75± 65.54	111.08± 59.67

Yapılan istatistiksel analizler sonucu, albino ratların vücut ağırlıkları bakımından gruplar arası fark önemli bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Herbir grup için ağırlık artışlarının zamana göre etkileşimi istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.001$ ). Deney süresi sonunda, en fazla vücut ağırlığı pellet diyetlerle beslenen gruplarda saptanmıştır (Grup 4 ve 5). Bunu toz diyetle beslenen 1. grup yani nişastalı diyetle beslenen grup, 2. grup yani sakkarozlu diyetle beslenen grup

izlemektedir. En az vücut ağırlığı ise 3. grup yani xylitollü diyetle beslenen grupta saptanmıştır.



**Grafik-15.** Albino Ratların Vücut Ağırlık Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

### 3.4. Mikroskopik Bulgular:

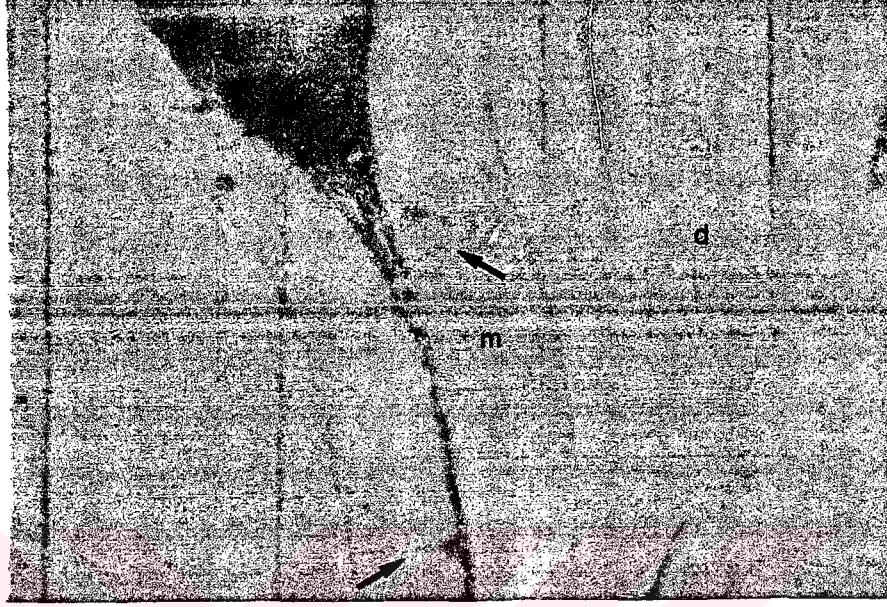
Gereç ve yöntemin 2.2.6. bölümünde anlatıldığı şekilde hazırlanan çenelerin binoküler ve yansıtmalı ışık mikroskobu ile detaylı bir şekilde incelenmesi sonucunda, bütün gruplarda dentine ulaşan derin lezyonlar gözlenmemiştir. Tesbit edilen çürüklerin mine dokusunda sınırlı kaldığı saptanmıştır. En fazla yüzeysel çürük, sakkarozlu diyetle beslenen 2. gruptaki ratların dişlerinin fissürlerinde gözlenmiştir (Resim-12, 13). Ancak, seyrek de olsa bazı dişlerin apromimallerinde sınırlı mine lezyonlarına rastlanmıştır (Resim-14).



**Resim-12. İkinci Gruptan Bir Ratın Molar Dişindeki Fissürlerde Yüzeyel Mine Çürüğünün Yansıtmalı Işık Mikroskopunda Görünümü (5x-50 büyütme). → mine çürüğü, m: mine, d: dentin, p: polyester**



**Resim-13. Aynı Gruptan Bir Başka Ratın Molar Dişlerindeki Yüzeyel Mine Lezyonlarının Yansıtmalı Işık Mikroskopunda Görünümü (5x-50 büyütme). → mine çürüğü, m: mine, d: dentin, p: polyester**

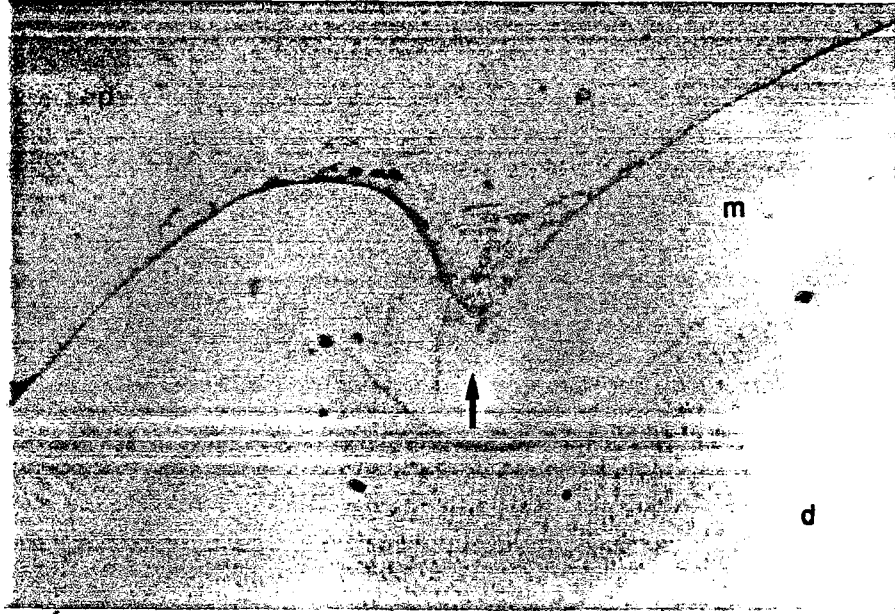


**Resim-14. Aynı Gruptan Bir Başka Ratın 2 Molar Dişinde Aproximal Mine Lezyonlarının Yansıtmalı Işık Mikroskobunda Görünümü (20x-200 büyütme).**

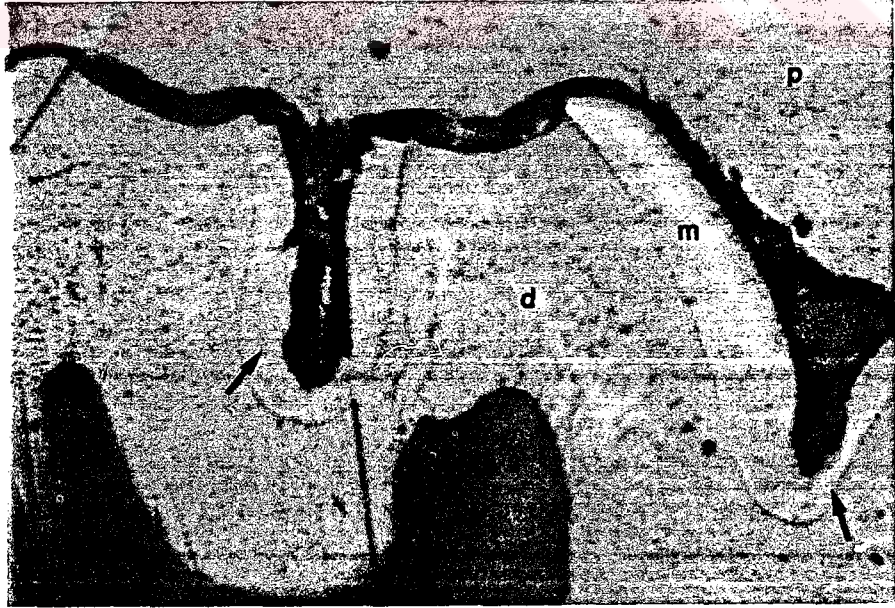
→ mine lezyonları, m: mine, d: dentin

Nişasta, xylitol ve pellet yemle beslenen 1., 3. ve 4. grupların incelenmesi sonucunda benzer bulgular saptanmıştır. Bu 3 grupta da mine lezyonlarının 2. grup olan sakkaroz grubuna kıyasla daha az olduğu gözlenmiştir. Buna ilaveten, bazı dişlerde çürüğe hiç rastlanmazken, bazı fissürlerde küçük sınırlı lezyonlar izlenmiştir (Resim-15, 16, 17).





**Resim-15. Üçüncü Gruptan (Xyllitol) Bir Ratın Molar Dişindeki Siğ Bir Fissürün Dibindeki Sınırlı Mine Lezyonunun Yansıtmalı Işık Mikroskopunda Görünümü (20x-200 büyütme). → mine lezyonu, m: mine, d: dentin, p:polyester**

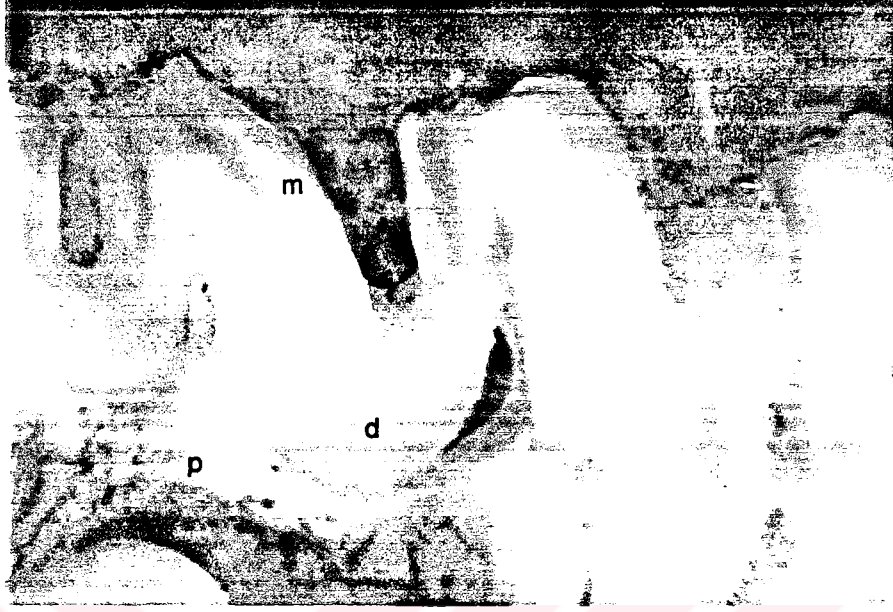


**Resim-16. Birinci Gruptan (Nişastalı) Bir Ratın Molar Dişinin 2 Fissüründe Sınırlı Mine Lezyonlarının Yansıtmalı Işık Mikroskopunda Görünümü (10x-100 büyütme). → mine lezyonu, m: mine, d: dentin, p: polyester**

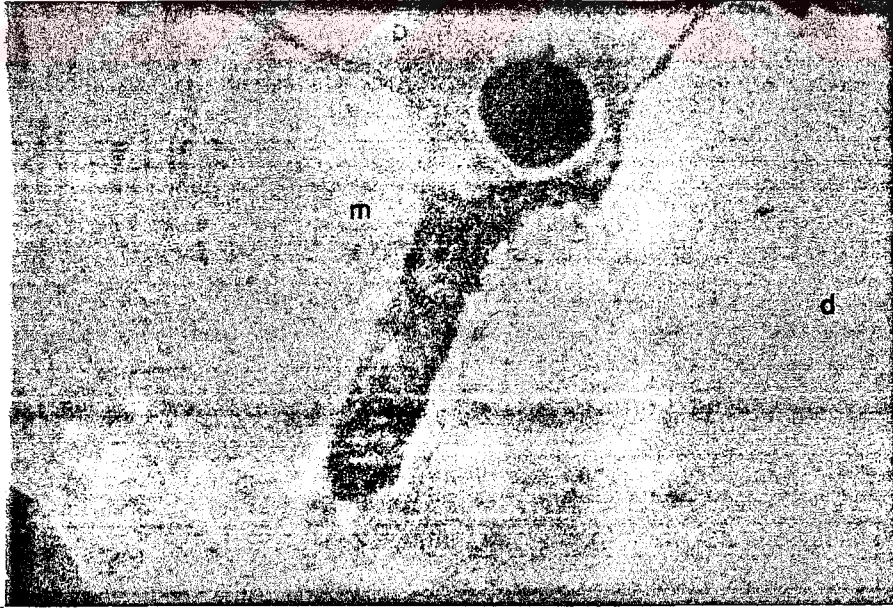


**Resim-17. Dördüncü Gruptan (Pellet) Bir Ratın Molar Dişindeki Sığ Bir Fissürde oldukça sınırlı Mine Lezyonunun Yansıtmalı Işık Mikroskopunda Görünümü (20x-200 büyütme). → mine lezyonları, m: mine, d: dentin, p: Polyester**

***S.mutans*** inoküle edilmeden pellet yemle beslenen 5. gruptaki ratların dişlerinin binoküler ve yansıtmalı ışık mikroskobu ile detaylı bir şekilde incelenmesinde herhangi bir çürüğe rastlanmamıştır (Resim-18, 19).



**Resim-18. Beşinci Gruptan Bir Ratın Molar Dişindeki Fissürlerin Binoküler Işık Mikroskobundaki Görünümü (40x-150 büyütme). m: mine, d: dentin, p:pulpa**



**Resim-19. Beşinci Gruptan Bir Başka Ratın Molar Dişindeki bir Fissürün Yansıtmalı Işık Mikroskobunda Görünümü (20x-200 büyütme). m: mine, d:dentin, p: polyester**

#### 4.TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanların hastalıklara karşı savaşında, bilimsel araştırma yapanlar deneylerinde insanları kullanmayı gerekli bulmaktadırlar. Bununla beraber, bir insanda deneylere girişmeden önce, deneyin insan sağlığı için zararsız olduğu saptanmalıdır, bu nedenle de uygun bir hayvanda gerekli deneylerin yapılması zorunludur. Bir hastalığın tedavisinde kullanılacak bir ilaç yada bir yöntem, insanda kullanılmadan önce, kural olarak hayvanlarda denenmekte ve ilacın toksik etkisi, hayvanlardaki deneylerle saptanmaktadır. Genetik, biyokimya, fizyoloji, farmakoloji, mikrobiyoloji, immunoloji ve psikolojide temel bilgilerin çoğu hayvanlardaki çalışmalarla elde edilmiştir (89).

Ağız mikrobiyolojisi alanında da laboratuvar hayvanları, ağız boşluğu hastalıklarını incelemek için kullanılmaktadır. Bu hastalıklardan diş çürükleri, geniş olarak incelenmiştir. Diş yapısının yerel, ilerleyici, moleküler parçalanması olarak nitelendirilen diş çürüklerinin genel görünümü insan ve kemirgenler arasında pek farklı değildir (89). Hayvan çalışmaları çürük incelemelerinde çok önemlidir. Kemirgenler küçük ve ekonomik olduklarından ve birkaç hafta içinde çürük meydana geldiğinden araştırmacılar tarafından çok tercih edilmektedir. Oysa insan ve maymunlarda tespit edilebilir çürük lezyonunun oluşması 6 ile 18 ay arasında gerçekleşebilmektedir (19,87). Küçük ve ekonomik olmaları ve kısa süre içinde çürük meydana gelmesi sebebiyle bu çalışmada da deneysel albino ratlar kullanılmıştır.

Çürük oluşumunda diyet faktörünü araştıran deneyler bugün de önemlidir. Ağız florasına ve konak direncine bağlı olmaksızın, deneğe uygun diyet verilmediğinde çürük gelişmeyecektir. Önceleri bu diyetlere "karyojen (çürük yapan) diyetler denmişken bugün daha uygun olarak çürük deneyi diyeti" terimi kullanılmaktadır (89.).

İnsanlarda diyet ve diyet komponentlerinin çürük yapıcı özelliğini önceden belirleyebilmek için dental incelemelerde ve özellikle çürüklerin incelenmesinde hayvan modelleri kullanılmaktadır. Hayvanlara verilen yiyecekler fiziksel, biyokimyasal veya organoleptik özelliklerine dayanarak şu şekillerde çürüğü başlatabilir veya durdurabilmektedir (86) :

**1.Fiziksel:** Partikül büyüklüğü, fissürlerde sıkışma, plağın dağılımı, yapışma gücü, sert ve yumuşak dokulardan diyetin retansiyonu veya bu dokulardan temizlenmesi ve eriyebilirlik.

**2.Biyokimyasal:** Bakteri kolonizasyonunun (plak oluşumunun) stimülasyonu, plağın metabolik aktivitesinin stimülasyonu, remineralizasyon reaksiyonları, antibakteriyel aktiviteler, immün özellikler ve oral doku sağlığına sistemik etkiler.

**3.Organoleptik:** Hayvanın içmesini ve yemesini etkileyen tat ve koku (86).

Yiyeceklerin bu üç özelliği hayvanlarda çürük oluşturabilmesine rağmen, insanlardaki çürük olayını tam etkilemeyebilmektedir. Bu nedenle hayvan deneyleri insanlardaki karyojenik olayın tüm özelliklerini kapsayacak şekilde hazırlanmalıdır. Yiyeceklerin çürük yapıcı özellikleri hakkındaki testler özel deneylerdir. Bu deneylerde, çürüğün etkisi partikül büyüklüğü veya organoleptik yan etkiler gibi (yiyecek alımının sayısını etkileyen) yapay faktörlere değil, yiyeceklerin gerçek intrinsek özelliklerine bağlıdır. Yiyeceklerin ve oral sıvıların, dişlerin içerisine girebilme imkanı belirli yerde kolonize olan flora için çok önemlidir (86).

Dental çürükler, maymunlar, fareler, sıçanlar, ratlar ve gerbiller gibi değişik hayvanlarda görülürse de çürük deneyleri ile ilgili yapılan araştırmalarda en çok ratlar kullanılmaktadır (86). Ratların kullanılmasındaki amaçlar,

1. Çürüğe hassasiyet ve klinik lezyonların gelişmesi için gereken süre,
2. Daha önceden bilinen bulgular,
3. Hayvanların bulunabilir olması,
4. Sağlık durumları (parazitsiz olması, bakteriyel ve viral enfeksiyon olmaması),
5. Genetik benzerlik ve mutant stoğu,
6. Oral floranın önceki durumunun bilinmesi (karyojenik bakterilerin bulunmaması),
7. Dış etkilere uyumu,
8. Ücret.

Bu özellikler nedeniyle çürük deneylerinde en çok ratlardan faydalanılmıştır (67,68,84,85,101,104,106,113,118,119,122). Bu nedenle yapılan deneysel çalışmamız ratlar üzerinde sürdürülmüştür. Ratların her yarım çenesinde bir kesici ve üç azı olmak üzere 4 dişi bulunmaktadır. Kesici dişler düz yüzeyli olup ender olarak çürükten etkilenmektedirler, molar dişlerde ise bütün okluzal yüzeyde mine ile örtülü dar ve derin oluklar bulunmaktadır. Ratların molar

dişlerinin anatomik yapısı, dar ve derin çatlakları nedeniyle besinlerin birikmesine yol açmaktadır, bunun sonucunda bunların parçalanması ile asit oluşmakta ve diş çürüğü gelişmektedir (89).

Bu tür çürük deneylerinde genellikle; 20-25 günlük, anne sütüyle beslenmesi tamamlanmış ratlar çalışma kapsamına alınmaktadır (34,45,46,47,48,69). Çalışmamızda da 22-24 günlük anne sütünden yeni kesilmiş Swiss albino ratları kullanılmıştır. Çürük araştırılması yapılan deneylerde, çalışma başlangıcında ratlara oral floralarını baskılamak amacıyla yüksek dozda antibiyotikler verilmektedir (45,46,47,48,81). Çalışmamızda, hayvanların oral floralarını baskılamak amacıyla gr (+) ve birçok gr (-) mikroorganizmaya karşı bakterisid etkinliği olan, geniş spektrumlu semisentetik bir penisilin olan Ampisilin kullanılmıştır. Ratların içme suyuna 200 mg/lt ilave edilerek iki gün süreyle içirilmiştir.

Kemirgenlerde yapılan pekçok çürük deneylerinde diyet 2000 ve diyet 580 kullanılmıştır (13,14,38,64,68,69). Pekçok modifikasyonu olmasına karşın (diyet 585, diyet 2700) bu diyetlerin şu ortak özellikleri bulunmaktadır (46):

a. Diyetin büyük bir kısmını sakkaroz (% 56-66), yağı alınmış süt tozu (% 28-32) ve buğday unu (% 6) oluşturmakta ve ciğer tozu, maya, protein ve sodyum klorid ile desteklenmektedir.

b. Bu diyetler, birkaç hafta içinde hamsterlerin ve ratların molar dişlerinde çok büyük lezyonlar meydana getirmektedir.

c. En önemlisi, yüksek karyojenik potansiyele sahip bu diyetler rat ve hamsterlerin yaşamsal beslenme gereksinimlerini, karşılamamaktadır. Bu bulgular 1977 yılında Uluslararası Bilim Akademisi tarafından ve çeşitli yazarlarca doğrulanmaktadır (46,47).

Havenaar ve arkadaşları (1983) (46) çalışmalarında diyet 2000 ve diyet 580 ile besledikleri ratların; çok sağlıklı olmadığından, hayvanların tüylerinin ince ve yer yer açık olduğundan, feçeslerinin çok yumuşaklığından ve çok az kilo artışlarından söz etmişlerdir. Bununla beraber dişlerde aşırı çürük değerlerine rastlandığını da belirtmişlerdir. Havenaar ve arkadaşları (1983) (46) ;diyet 2000 ile 42 gün beslenen ratlarda, çok sayıda ilerlemiş fissür lezyonlarına rastlamışlardır. Bu sonuçlar, diyet 580' i kullanan Karle ve Büttner (1971)'in (59) sonuçları ile uyumludur. Bu bulgular, diyet 2000 ve 580 gibi yüksek karyojenik potansiyelli diyetlerin karyojenitesindeki farklılıkların tespit etmeye uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Shaw ve Griffiths (1960); (104) diyet 2000' i % 20

kazein ve % 4.2 mısır yağı içeren diyet 2700 ile karşılaştırıldığında, daha yavaş bir büyüme gözlemlenmiştir.

Bu tür hayvan çalışmalarının amacı, insan klinik çalışmalarına örnek olmasıdır, fakat insanların günlük besin içeriklerinin büyük bir kısmını (% 60-70'ini) karbonhidratlar içermemekte, dolayısıyla ratlara uygulanan bu diyetler tam anlamı ile bilimsel çalışmanın amacına uymamaktadır. Bizim de bu tür nedenlerden ötürü, çalışmamızda çok yüksek karyojenik potansiyele sahip diyet türleri çalışma kapsamına alınmamıştır.

Çalışmamızda, koruyucu yöntemlerden biri olan diyetdeki karbonhidratın poliollerle değiştirilmesi ve bunun sonucunda da karyojenitenin saptanması amacıyla üzerinde çok çalışılan ve birçok araştırmaya konu olan xylitolu deney hayvanlarının diyetine ekleyerek karyojenik potansiyelin ratlarda irdelenmesi hedeflenmiştir. Şeker ve şeker değişkenleri ile ilgili hayvan deneyleri genellikle ratlarda uygulanmaktadır. Havenaar ve arkadaşları (1983); diyet 2000 ve diyet 580 gibi yüksek karyojenik potansiyele sahip diyetlerin, şeker alkollerini test etmek için uygun olmadığını belirtmişlerdir (46). Bu karyojenik diyetlerdeki sakkarozun şeker alkollerini ile kısmi değiştirilmesi sonucu, ratlarda şiddetli diyarelere, kilo alımında gerilemeye, hayvanların genel sağlığında bozulmaya ve bazende aşırı ölümlere neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenlerden dolayı, bilim adamları hayvanların genel sağlığına dikkat ederek ve diyet 2000 ve 580 ile karşılaştırıldığında daha düşük çürük skorları elde edilerek, şeker alkollerini test etmek için, daha uygun bir diyet geliştirmek arayışına girmişlerdir(45,46,47,48). Diyet 580 ve diyet 2000' in tanıtılmasından beri, bu diyetler modifiye edilmiş veya edilmemiş olsunlar sıçanlarda ve ratlarda ve hatta gerbillerde ve son zamanlarda farelerde denenmiştir (13,14,38,64 , 68, 69, 105, 106,118,119). Her ne kadar 580 ve 2000 diyetlerinin özellikle kısa süreli çürük deneylerinde değerli oldukları ispatlanmışsa da, şeker değişkenleri ile ilgili çalışmalarda uygun olmadıkları belirtilmektedir (45,46,47,48).

Ratların nutrisyonel gereksinimlerini karşılayan ve nişasta, şeker ve şeker değişken oranları değiştirilebilen diyetin % 50 bazal kısmını oluşturan saf toz diyet (SSP) Havenaar ve arkadaşları tarafından 1983 yılında denenmiş olup, bu diyetin içeriği (46);

Kazein	% 18.2
Soya proteini	% 4.5
Sellüloz	% 10.5

Tix-o-sil	% 2.7
Soya yağı	% 4.5
Lard	% 2.3
BHT	% 0.009
Di Ca Fosfat	% 3.2
KCl	% 0.91
NaCl	% 0.37
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	% 0.45
Methionin	% 0.09
Kolin klorit	% 0.29
Vitamin ve Mineral	% 2.3

Havenaar ve ark. (1983) bu diyete, diyareye neden olmaksızın ve genel sağlığı etkilemeksizin, mantıklı sınırlarda poliollerin eklenebileceğini belirtmişlerdir (46).

Bu çalışmada, hayvanların genel sağlıklarını bozmayacak şekilde, nutrisyonel gereksinimlerini tam anlamıyla karşılayan, Havenaar ve arkadaşlarının (1983) geliştirdikleri SSP diyeti modifiye edilerek yeni bir bazal diyet hazırlanmıştır. Ratların diyetinin % 50'sini oluşturan ve karbonhidrat fraksiyonlarını istenilen oranlarda kullanmaya imkan veren bu standart bazal yem deney hayvanlarına uygulanmıştır. Bu diyet ratların genel sağlığı için gerekli tüm besleyici maddeleri içermektedir. Hazırladığımız bu bazal yem; hayvanların protein ihtiyacını karşılamak amacıyla süt tozu ve soya küspesi, selüloz için talaş, enerji ihtiyacı için soya ve ayçiçek yağı, Ca ve P için dikalsiyum fosfat, potasyum için potasyum klorür, tuz ihtiyacı için NaCl, Na ve mineral karışımı ihtiva etmektedir (24,29,80 ).

Çeşitli çalışmalarda, *S. mutans* inoküle edilmeden beslenen ratlardan alınan plak örneklerinin bakteriyolojik analizlerinde hiç veya çok az *S. mutans'* a rastlanmamıştır. Bu nedenle araştırmacılar , çürük deneylerine genellikle hayvanları çürüğe neden olan mikroorganizmalarla enfekte ederek başlamaktadırlar (5,6,13,45,46). Diş çürükleriyle *S. mutans'*lar arasındaki ilişkiyi göstermek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (20,21,31,43,49). Sakkaroz bakımından zengin diyetle beslenen çürüğe direçli hamsterlara diğer kemiricilerden izole edilen *S. mutans* türleri inoküle edildiğinde çürüklerin oluştuğu belirtilmiştir (26,67). Bu bulgular daha sonra, mutans streptokokların çürük oluşturabilmelerini değerlendiren ve insan izolatları kullanan benzer çalışmalarla devam ettirilmiştir (20,26,41,45,46,47,48,52,123). Deneysel hayvan



çalışmalarında hayvanlar, yüksek sakkaroz diyeti ile beslendiklerinde; *S. mutans* diş çürüklerine neden olurken, diğer bakterilerin daha düşük oranlarda diş çürükleri meydana getirdikleri gösterilmiştir (5,6,63,64,91,103). Bu sebeplerden ötürü, mutans streptokoklar diş çürüklerinin başlamasından sorumlu mikroorganizmalar olduğu için, çalışmamızda da *S. mutans* türü kullanılmıştır. Araştırmalarda, *S. mutans*' ların insanların ağızından elde edilen suşlarının değişik hayvan gruplarında karyojenik olduğu saptanmış ve çürük deneylerinde, insan orijinli *S. mutans* suşları ile hayvanlar enfekte edilmiştir (45,46,47, 103,119,121,123). Ençok kullanılan *S. mutans*'in c ve d suşlarıdır (45,46,47,48, 52,90,91,123). *S. mutans* suşları hayvanlarda düzgün yüzey, tüberkül-fissür çürükleri oluşturmakta ve genel olarak genç hayvanlar çürük ataklarından daha çabuk etkilenmektedirler. Mutans streptokoklar hem fissürlerde, hem de düzgün yüzeylerde yaygın çürüklere neden olurken, diğer mikroorganizmalar genellikle fissürlerde çok az çürüğe neden olmuşlardır (41,72).

Gnotobiyotik ratlarda *S. mutans* serotip c daha ciddi buccal lezyonları gösterirken, serotip d daha fazla aproksimal çürüklere neden olmuştur.(41) Serotip e ise en az seviyede çürüğe neden olmuştur. Araştırmalarda kullanılan test türleri laboratuvardaki stok kültürlerinden kullanıldığında, bunların tekrarlanan transferlerde virulansları azalma göstermektedir (72). Virulansın daha doğru ölçülebilmesi için suşlar insanlardan taze izole edilmeli yada gnotobiyotik ev sahibi hayvanlar seçilmelidir (87). Deney hayvanlarında, *S. sobrinus*' un, *S. mutans* suşlarından hem daha çok, hem de daha az karyojenik olduğu saptanmıştır (70,72). Ratlar, hamster ve farelerde serotip c, e, veya f ve serotip d organizmaları ile enfeksiyon sonucu gelişen çürük lezyonlarının farklılıkları araştırılmış ve *S. mutans* serotip c 'nin farelerde orta derecede dental çürükler oluşturduğunu, rat ve hamsterlarda ise belirgin çürüklere neden olduğu belirtilmiştir (41,72).

Ooshima ve arkadaşları 1981' de; *S. mutans*' in c ve d serotipleri tarafından gelişen çürük lezyonlarına karşı, ratların, hamsterlerin ve farelerin duyarlılığını kıyaslamışlardır. *S. mutans* serotip c 'nin inokülasyon sonucu ratlarda ve hamsterlerde 68, 82 ve 98 günlük deneysel periodlar sonunda benzer çürük lezyonları oluşturduğunu, ratların molar dişlerinin okluzal sulcuslarında çürük lezyonlarının geliştiğini, buna rağmen serotip d 'nin sadece okluzal sulcuslarda değil, düzgün yüzeylerde de belirgin dental çürüklere neden olduğunu belirtmişlerdir. Bununla beraber *S. mutans* serotip d 'nin daha zayıf çürük aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. (90)

Yine aynı araştıncılar, hamsterlerde her iki suşun da, sadece okluzal yüzeyde değil, buccal ve lingual yüzeylerde de belirgin çürükler oluşturduğunu belirtmişlerdir (90). Fareler, çürük formasyonunu araştırmak için deney hayvanı olarak kullanılmaktadır, yine de farelerle ilgili literatürler sayıca azdır. Farelerde serotip c suşu geniş diş çürüklerine ve plak akümülyasyonuna sebep olmuştur. Enfekte olmamış kontrol fareleri, çürük diyeti (diyet 2000) ile beslendiğinde bile çürüksüz kalmışlardır (90). Bu deneylerden; kullanılan hayvan örnekleri arasında ratların, *S. mutans* enfeksiyonuna en hassas hayvanlar olduğu anlaşılmaktadır.

Huis in' t Veld ve ark. (1982); ratların oral kavitesinde *S. mutans* serotip topluluklarının lokalizasyonunun araştırıldığı çalışmasında; serotip c 'nin diğer serotipler üzerinde baskın olduğunu belirtmişlerdir. Deney periyodunun sonunda *S. mutans* serotip c 'nin dental plakta predominant mikroorganizma olduğu ortaya çıkmıştır. *S. mutans* serotip d 'nin her ne kadar 4. günde dişlerde görüldüyse de, çok çabuk ortadan yok olduğunu, 24. günün sonunda interaproximal ve fissürlerde görümediğini belirtmişlerdir. *S. mutans* c ve d ayrı ayrı inokule edildiğinde, her iki grubun da ratların oral kavitelerinde görüldüğünü, serotip c 'nin, ratların oral kavitelerinde sakkaroz yokluğunda dahi kolonize ve akümüle olabildiğini, sakkaroz varlığında bu kolonizasyon ve akümülyasyonun daha fazla olduğu belirtilmektedir. Serotip d 'nin ise, glikoz ile beslenen hayvanlardan alınan plak örneklerinde, deneyin geç safhalarına dek görümediğini, serotip d 'nin plak oluşturabilmek için sakkaroz gereksinim duyduğunu belirtilmiştir (52). Michalek ve arkadaşları, (1977) serotip c suşunun ratlarda pit ve fissür çürüklerine neden olduğunu, d suşunun ise sadece pit ve fissür çürükleri değil, buccal ve lingual yüzeylerde de düzgün yüzey çürüklerine neden olduğunu belirtmişlerdir (81).

Araştıncıların bir kısmı, çürük deneylerinde ratları *S. mutans* 'in d suşu ile inoküle ederken (13,14,52 ) büyük bir çoğunluğu da, *S. mutans* 'in c suşunun diğer suşlardan baskın olduğunu ve dental plakta predominant olduğunu belirterek çürük deneylerinde ratları *S. mutans* 'in c suşu ile inoküle etmişlerdir (5,6,7,46,49,52,64,90,107,118). Bazı araştıncılar ise her iki türün kombinasyonu ile ratları inoküle etmişlerdir (46). Bu türlerin çoğu insan izolatlarından elde edilmiş olan ve liyofilize formdaki mikroorganizmalardır (13,14,91,107,118 ). Bu çalışmada da liyofilize formdaki insan orijinli (İsveç' ten temin ettiğimiz) *S. mutans* c suşu (*S. mutans* CCUG 6519) ratlara inoküle edilmiştir.

*S. mutans*' ların tükürükteki konsantrasyon çalışmalarında,  $10^6$ - $10^7$  CFU/ml (colony forming units/ml), ortalama  $10^5$  CFU/ml arasında değişmekte olduğunu belirtmişlerdir (87). *S. mutans* yetişkin ve çocukların tükürüklerinde yaklaşık  $10^4$ - $10^7$  hücre/ml olarak saptanabilmiştir (40). Tükürüğün mililitresi başına  $50 \times 10^3$  CFU/ml *S. mutans* sayısının kritik bir seviye olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalarda tükürükteki ve dişler üzerindeki organizmaların yaygınlığı arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (41,61,70,87) .

Hayvan çalışmalarında; bakterilerin hayvanlara inokulasyonu değişik şekillerde uygulanmaktadır. Van Der Hoven (1980); ratlara *S. mutans* c suşununun 16 saatlik kültürünü 0.1 ml' lik şırınga (16,100,117) ile vermiştir. Hücrelerin sayısı  $2-4 \times 10^8$  CFU/ml dir (118).

Ooshima ve ark.(1981); de, mikroorganizma kültürlerini santrifüj etmiş, hücreler serum fizyolojik ile 3 kez yıkanmışlar, 5 ml lik suda süspansiyon edilerek yaklaşık  $10^{10}$  CFU/ml içeren hücre süspansiyonununun 0.1' ml si hayvanların ağızlarına pipet ile direkt olarak inoküle edilmiştir. Ayrıca hücre süspansiyonununun 1 ml side hayvanların içme sularına ilave edilmiştir (90).

Huis in't veld ve ark (1982);  $5 \times 10^9$  CFU/ml sayıdaki insan orijinli bakterileri pamuk parçaları ile inoküle etmişlerdir. (52)

Havenaar ve arkadaşları (1983), deneyin ikinci gününde insan kaynaklı *S. mutans*' ların  $125 \mu\text{l}$  yıkanmış süspansiyonunu pamuk peletlerle hayvanlara inoküle edildiğini ve süspansiyonların en az  $10^8$  CFU/ml koloni içerdiğini belirtmişlerdir(46).

Ooshima ve ark.(1990); *S. mutans* c hücrelerinin santrifüj ile toplandığını, 3 kere steril serum fizyolojik ile yıkandığını, yıkanan hücrelerin daha sonra 10 ml serum fizyolojik içine katıldığını, ratlara inokülasyon için ml başına  $4 \times 10^{10}$  hücre içeren süspansiyonun mikropipet aracılığıyla verildiğini belirtmişlerdir (91).

Kobayashi ve ark (1992); gnotobiyotik ratları, *S. mutans* c suşu ile  $10^7$  CFU/ml olacak şekilde inoküle etmişlerdir (64).

Araştırmamızda, *S. mutans* c suşu tripton soya brothda 18 saatlik inkübasyondan sonra, santrifüj ile toplanarak, steril izotonik NaCl çözeltisi ile 3 kez yıkandıktan sonra spektrofotometrede 550nm dalga boyunda absorbansı 2,1'e ayarlanmıştır. Hücre sayısı  $6.8 \times 10^9$  -  $7.0 \times 10^9$  CFU/ml olarak belirlenen *S. mutans* serotip c kültüründen ratlara pipet yardımı ile 1'er ml verilmiştir. Ayrıca içme suyuna da 1ml ilave edilerek ratların bu suyu bir gün süreyle içmesi sağlanmıştır.

Araştıncılar, ratlarla ilgili çürük deneylerinin periyotlarını 30, 60 ve 90 gün olarak belirlemişlerdir (33,46,47,48 ). Bu çalışmada da deney süresi 90 gün olarak belirlenmiş ve ratlar 90 gün süresince tarafımızdan hazırlanan diyetle beslenmişler ve bu süre zarfında genel sağlıkları düzenli bir şekilde izlenmiştir.

Ratlarda yapılan ve xylitolun çürük önleyici etkilerini açıklayan çeşitli araştırmalar günümüze değin yapılmıştır (14,34,37,45,46,47,48,59,60,69,84). Yapılan çalışmalarda, yüksek oranlarda xylitol kullanılmasının, ratlarda şiddetli ozmotik diyareye neden olduğu belirtilmiştir (45,46,47,48,84 ).

Mühlemann ve arkadaşları (1970); ratlara uygulanan diyetle % 15-25 xylitol ilave edildiğinde, hayvanlarda belirgin bir diyareye sebep olduğunu belirtmişlerdir. Bunun sonucu olarak da ratlarda diyareye bağlı olarak kilo kayıpları meydana gelmiş ve mortalite değerleri artmıştır (85). Çeşitli araştıncılar, % 10-20 xylitol ilave edilen SSP diyeti ile beslenen ratlarda yemek yenmesinin ve kilo alımının geçici olarak düştüğünü belirtmişlerdir. Bununla beraber % 30 luk ksilitolün diyareye ve düşük gıda alımına bağlı, önemli kilo kayıplarına neden olduğunu belirtmişlerdir (46,47,69,84).

Yapılan araştırmalara göre % 3 veya % 6' lık xylitolün ratlar tarafından tolere edilen bir sınır olduğu belirtilmiştir (46,69). Bu nedenlerden dolayı, çalışmamızda sakkarozun % 5 oranı ile xylitol yer değiştirilerek, deney hayvanlarının beslenmesinde kullanılmış ve diğer diyet grupları ile karşılaştırılmıştır.

Havenaar ve arkadaşları (1983); ratların genel sağlıkları bakımından diyet SSP 'nin diyet 2000 de gözlenen herhangi bir bozucu etki göstermediğini belirtmişlerdir ve bu yemle beslenen ratların tüylerinin temiz ve parlak olduğunu, dışkı yoğunluğunun da normal olduğunu gözlemişlerdir (46). Bizim çalışmamızda kullandığımız modifiye SSP diyeti ile beslenen ratlarda genel sağlıklarında bir bozulma gözlenmemiştir, bu da hayvanların tüylerinin parlak, dışkılarının normal olması ve orantılı bir şekilde büyümesiyle anlaşılmıştır.

Havenaar ve arkadaşları (1983) ve (1984); ratların feçeslerinin xylitolden etkilendiğini ve hafif rekürrent diyareye rastlandığını belirtmişlerdir (46,47). Oysa bizim çalışmamızda xylitol grubundaki ratlarda daha az kilo artışının dışında herhangi bir patolojik bulguya, örneğin diyarelere rastlanmamıştır.

Aynı araştıncılar, diyet SSP ile beslenen hayvanların feçeslerinin, laboratuvar diyetleri ile beslenenlerin feçeslerinden daha farklı olduğunu belirtmişlerdir (46,47). Bizimde çalışmamızda, laboratuvar pellet yemleri ile

beslenen ratların feçesleri, diğer toz yemlerle beslenenlerin feçeslerinden daha koyu renkte ve daha koyu kıvamdaydı.

Havenaar ve arkadaşları (1983); yaptıkları çalışmalarında hayvanların test diyetleri ile kilo artışlarının, laboratuvar diyetleri ile alınan kilo artışlarından düşük olduğunu bulmuşlardır (46). Bizim de çalışmamızda, laboratuvar pellet yemleri ile beslenen ratlarda gözlenen kilo artışları, diğer toz yemlerle beslenen gruplara oranla daha düşük olduğu bulunmuştur.

Aynı araştırmacılar, diyete xylitol ilave edilmesinin yeme miktarı ve dolayısıyla kilo alımları bakımından test grupları arasında çok fazla fark göremediklerini belirtmişlerse de yine de garanti edememişlerdir (46).

Mühlemann (1977); içme sularında % 10 xylitol alan ratlarda, deney periodu süresince kontrol gruplarına göre daha düşük sıvı alınımları ve vücut ağırlığında azalma olduğunu belirtmişlerdir (85).

Leach ve Green (1980) de diyete % 6 xylitol ilavesinin diğer kontrol diyetlerine oranla bir miktar kilo kayıplarına neden olduğunu belirtmişlerdir (69). Ayrıca Grunberg ve arkadaşları (1973) da deney süresi sonunda karyojenik diyetle beslenen Swiss albino ratların şeker alkollerini ile desteklenmiş diyetle beslenen ratlara göre daha fazla kilo alınımları saptamışlardır (37).

Araştırmacıların bir kısmı (34,69,85) ratlara uygulanan çürük deneylerinde diyete düşük oranlarda xylitol uygulanmasıyla bile kontrol diyetlerine oranla biraz daha düşük kilo alımları olduğunu belirtmişlerdir. Bazı araştırmacılar ise (46,47) uygun oranlarda xylitolün diğer test diyetleri ile karşılaştırıldığında kilo artışlarından etkilenmediğini belirtmişlerdir.

Van Der Hoeven (1980), poliollerle ilgili yaptığı hayvan çalışmasında, ratların bu maddeleri sevmediklerini, hatta hayvanlara seçme şansı verilseydi, polioller içermeyen diyetleri seçeceklerini belirtmektedir (118). Bizim de çalışmamızda, toz diyetler içinde xylitol ilaveli diyet ile daha az kilo alımı gözlenmekle beraber, hayvanların genel sağlıklarında bozucu herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmamıştır.

Hayvanlarla ilgili mikrobiyolojik araştırmalarda, ağız florasından örnek almak için kullanılan yöntemler arasında ağız boşluğuna bir ekuyiyonun bastırılarak dolaştırılması, dişlerin çekilip toz haline getirilmesi, pipetle belirli miktar salya alınması ve hatta hayvanın başının masere edilmesi sayılabilir (89). Son yıllarda bu tür çalışmalarda, insan çalışmalarında sık kullanılan steril tahta çubuklar ile dişlerin fissür plak örnekleri, diş iplikleri ile de interaproximal dental plak örnekleri toplanmaktadır (46,47,52,82,118).

Bu çalışmada da, bu yöntemler doğrultusunda, ratların dişlerinin fissürlerinden steril tahta çubuklarla, interaproximallerinden de diş iplikleri ile dental plak örnekleri toplanmıştır.

*S. mutans*'ların izolasyonu için birçok seçici ortam geliştirilmiştir (13,32,55,120), *S. mutans*' lar için seçici olmayan ortam, tamamlayıcı metotlar kullanılmadıkça, kolonilerin identifikasyonuna olanak vermemektedir. Yaygın şekilde kullanılan ortamın seçiciliği, yüksek konsantrasyonunda sakkarozun ve antibakteriyel maddelerin eklenmesi üzerine dayandırılmıştır. Sakkaroz sadece seçici madde olarak hizmet etmeyip, aynı zamanda tipik morfolojili *S. mutans* kolonilerini de vermektedir (20). "MSB agarı", *S. mutans*' lar için seçiciliği birçok araştırmacı tarafından kabul edilmiş olup, günümüze değin gerek insan ve gerekse de bu tür hayvan çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır. (32,50,114,115,121,122) Seçiciliği ise yüksek sakkaroz konsantrasyonu, bacitrasin, tellürit ve tripan mavisi ile gerçekleşmektedir (115). Kültür edilebilen toplam bakteri sayısının hesaplanmasında ise, genellikle kan agarı kullanılmaktadır. (2,5,6,7,114) Bu çalışmada da, *S. mutans*' lar için MSB agarı, toplam bakteri kolonileri içinde kan agarı kullanılmıştır.

Mutans streptokoklar fakültatif anaerob mikroorganizmalar olduklarından atmosferik koşullar altında büyümektedirler, fakat yüksek oranda azot ve az miktarda CO<sub>2</sub> gazı altında daha zengin bir büyüme gösterdikleri belirtilmektedir (5,6,32,121 ). Bu nedenle çalışmamızda besiyerleri % 95 N<sub>2</sub> + % 5 CO<sub>2</sub> gazı altında anaerobik etüvde inkübe edilmiştir. 30-300 arasında koloni oluşturan petri ler sayılmıştır. Diğerleri sayıma alınmamıştır (32,64).

Araştırmacılar (46,47), fissür dental plak örneklerinden elde edilen bakterilerin, aproksimal plak örneklerinden elde edilen bakterilerden daha fazla sayıda olduğunu belirtmişlerdir. Bizim de çalışmamızda posterior dişlerin fissür dental plak örneklerinde hem *S. mutans*' lar, hem de toplam bakteriler yönünden daha fazla sayıda bakteriye rastlanmıştır. Bunun nedeni olarak da posterior dişlerde çürüğün gözlenmesi ve bu çürüğün de yüzeysel fissür lezyonları şeklinde olmasıyla açıklanabilir.

Havenaar ve ark (1983); deney sonunda organizma inoküle edilmemiş ratların plak örneklerinde *S. mutans*' a rastlanmadığını belirtmiştir. (46) Bizim de çalışmamızda diğer araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi *S. mutans* inoküle edilmeyen grupta *S. mutans*' lara ya hiç rastlanmamış veya çok az rastlanmıştır. Ve bu grupta orantılı olarak çürük lezyonları da gelişmemiştir. Bu nedenle araştırmacılar, bu tür çürük deneylerinde ratları çürükten sorumlu

mikroorganizma olan *S. mutans*' lar ile inoküle etmişlerdir (46,91,101,103,118,119,123). Bizim de araştırmamızda deney grupları *S. mutans* serotip c suşu ile inoküle edilerek deneylerimiz gerçekleştirilmiştir.

Havenaar ve ark (1983) *S. mutans* oranlarının xylitolden etkilenmediğini ileri sürmüşlerdir (46). Oysa bizim çalışmamızda xylitol grubundan alınan plak örneklerinde, diğer gruplardan özellikle sakkaroz grubundan daha düşük sayılarda *S. mutans*' a rastlanmıştır. Bunun nedeninin de; Havenaar ve arkadaşlarının, (1983) (46) yaptıkları çalışmalarında, dental plak örnekleri fazla seçici olmayan sakkaroz agarda ekim yapılmıştır ve buna bağlı olarak da *S. mutans*' lar için ideal inkübasyon oluşturamadıklarını söyleyebiliriz.

Bizim alışmamızda, ideal seçici ortam olan MSB agarı kullanılmıştır, bu nedenle daha doğru bir inkübasyon ve bunun neticesinde daha doğru bir üreme elde ettiğimizi düşünmekteyiz

Çürük etiyolojisinde, sakkarozun rolü, epidemiyolojik çalışmalar ile ortaya konmuştur (12,17,50,51,112 ). İnsan diyet ürünlerinin hayvanlarda denenmesinin yanısıra, (113) hayvan diyetine toz şeklinde farklı karbonhidratlar eklenerek; nişasta, sakkaroz, maltoz, laktoz, fruktoz ve glikozun karyojeniteleri karşılaştırılmıştır. Böyle durumlarda sakkarozun, düzgün yüzey lezyonlarında en etkili karbonhidrat olduğu saptanmıştır. Sakkarozun, diğer karbonhidratlardan daha fazla ürge neden olduğu bildirilmiştir (26,67,86,101,104,105,119 ). Bu durum özellikle *S. mutans* gibi karyojenik bir mikroorganizma ile enfekte edilen hayvanlarda görülmüştür (26,67,101,119).

Bizim de çalışmamızda, araştıncıların ortak görüşü doğrultusunda, sakkaroz grubunda en yüksek *S. mutans* sayıları belirlenmiştir. Sakkaroz grubunda ayrıca toplam bakteri sayısının da daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bunun neticesi olarak da, sakkaroz grubu ile beslenen ratlarda fissür lezyonlar daha fazla görülmüştür.

Havenaar ve ark (1983); (1984) deney sonunda gözlenen çürüklerin fissür çürük lezyonları şeklinde olduğunu belirtmişler ve gözlenen lezyonların birbirine benzemediğini belirtmişlerdir (46,47). Buda bizim çalışmamızla benzer şekildedir. Bizim de çalışmamızda derin çürük lezyonlarına rastlanılmamıştır. Bunun nedeni olarak diyetimizin yüksek karyojeniteye sahip olmadığını söyleyebiliriz.

Havenaar ve arkadaşları (1983); sakkaroz diyet grubunda *S. mutans* sayılarının önemli derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir (46). Fakat sakkaroz konsantrasyonu ile *S. mutans* oranları arasında herhangi bir

korelasyon bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda sakkaroz grubunda *S. mutans* sayıları, diğer gruplara göre daha fazla sayıdadır. Havenaar' ın aksine sakkaroz konsantrasyonu ile *S. mutans* oranları arasında bir korelasyon mevcuttur. Aynı şekilde fissür lezyonlarının da sakkaroz grubunda, bütün diğer gruplardan daha fazla olduğu bulunmuştur.

Aynı araştırmacılar, katılaştırılmış tablet formunda hazırlanan SSP diyeti ile toz formda hazırlanan SSP diyeti arasında *S. mutans* ve çürüklük bakımından bir fark bulamamışlardır (46,47). Bizim çalışmamızda da bu nedenle hazırladığımız diyetler ratlara diğer yazarların da deneylerinde kullandığı gibi (45,46,47,48,69 ) toz formda verilmiştir. Ayrıca karşılaştırma yapmak amacıyla, laboratuvar pellet yemlerinin kullanıldığı bakteri inoküle edilmiş ve edilmemiş iki grupta *S. mutans* sayıları ve çürük oluşumu incelenmiştir. Toz formda hazırlanan sakkaroz diyeti ile beslenen ratlarda *S. mutans* sayıları diğer toz formda hazırlanan diyetler ve *S. mutans* inoküle edilerek verilen normal laboratuvar diyetleri ile beslenenlere göre daha fazladır. Buna bağlı olarak çürük sayısı da bu grupta daha fazla sayıdadır. Diğer toz formda hazırlanan diyetler ile (sakkaroz dışındaki) pellet formda bulunan diyetler ile beslenen ratlarda, *S. mutans'* lar bakımından bir fark bulunmakla beraber, çürüklük bakımından bir fark bulunamamıştır.

Çeşitli yazarlar, glikozun potansiyel karyojenitesinin sakkarozdan oldukça düşük olduğunu belirtmişlerdir. Hamsterlerde, çürüğe neden olan streptokokların yüksek glikoz diyetlerinde, yüksek sakkaroz diyetlerinden daha az etkili olduğunu belirtmişlerdir (26,33,67,105).

Van Houte ve arkadaşları (1976), benzer etkileri, farelerde *S. mutans'* lar için kaydetmişlerdir (119). Bu nedenlerden ötürü, çalışmamızda glikoz diyet içinde düşük oranda kullanılmıştır.

Havenaar ve ark (1983), deneysel şartlar altında glikozun da karyojenik olduğunu, glikozla beslenen ratların sakkarozla beslenenlere oranla daha az sayıda çürük lezyonu olmasına rağmen, lezyonların ciddiyetinin sakkarozla oluşan lezyonlara benzediğini, bunula beraber bu gruptaki *S. mutans* yüzdelerinin nişasta grubundaki kadar düşük olduğunu, bunun neticesinde de glikoz diyetinin fazla karyojenik olmadığını belirtmişlerdir (46).

Çeşitli araştırmacılar, karyojenik mikroorganizmaların yüksek sakkaroz diyetlerinde, yüksek glikoz diyetlerinden daha kolay ürediğini gözlemişlerdir. Benzer şekilde, çürük aktivitesinin, sakkarozlu diyetlerde yüksek, glikozlu diyetlerde daha düşük olduğu saptanmıştır (26,33,67). Deney hayvanlarına



sakkaroz verildiğinde kalın plak kolonileri, glikoz verildiğinde ince plak kolonileri, fruktoz verildiğinde daha da ince plak tabakası oluştuğu bulunmuştur (105).

Guggenheim ve ark (1966) da; farklı karbonhidratların karyojenitelerini araştırmak amacıyla, yaptıkları çalışmalarında, nişastanın çok fazla karyojen olmadığını, glikozun sakkarozdan daha az karyojen olduğunu belirtmişlerdir (38).

Havenaar ve arkadaşları (1983); yaptıkları çalışmalarında nişastayla beslenen ratların çürük aktivitelerinin daha yavaş olduğunu belirtmişlerdir. Nişasta diyetindeki düşük çürük aktivitesi, büyük nişasta moleküllerinin plağa yavaş difüze olması nedeniyledir. Bunun sonucunda da nişasta yavaş parçalanarak maltozun yavaş açığa çıkmasına ve derin plak tabakalarında asit oluşum hızının düşük olmasına sebep olmaktadır (46) .

Bizim çalışmamızda da, nişasta diyeti ile beslenen ratların plak örneklerinde *S. mutans* oranları sakkaroz grubuna oranla daha düşük bulunmuştur. Aynı şekilde yüzeysel çürük lezyonları da sakkaroz grubuna kıyasla daha az sayıda gözlenmiştir.

Çürük deneyleriyle ilgili yapılan araştırmalarda, *S. mutans'* in sakkarozlu diyetlerde en fazla sayıda olduğu gözlenmiştir (26,46,67,101,119). Çürük aktivitesi, test diyetlerindeki sakkaroz konsantrasyonuna bağlıdır ve yüksek sakkaroz konsantrasyonlarında daha fazla çürük beklenmektedir. Bizim çalışmamızda da sakkarozlu diyetlerde en fazla *S. mutans* bulunması ve dolayısıyla daha fazla çürük lezyonunun gözlenmesi diğer araştırmacılar ile uyum içinde olduğunu göstermektedir.

Havenaar ve ark. (1983), tüm çürük lezyon tiplerinin xylitol grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğunu belirtmiştir (46). Yine çeşitli yazarlar, diyete xylitol ilavesinin önemli bir çürük azalmasına neden olduğunu söylemişlerdir (7,34,37,45,46,69,84). Mühleman ve arkadaşları (1970); diyet 2000 ve % 15-25 xylitol ilavesi ile fissür lezyonlarında azalma olduğunu (84), Leach ve Green (1980); Stephan 580 diyetini % 6 xylitol ile destekleyerek modifiye ettiklerini ve sakkarozdan daha az oranlarda çürük oluştuğunu belirtmişlerdir (69). Bizimde çalışmamızda, diyete %5 xylitol ilavesinin, özellikle sakkaroz grubuna kıyasla daha az oranlarda diş çürüklerine neden olması diğer araştırmacılarla uyum içinde olduğunu göstermektedir.

Havenaar ve arkadaşları, 1984 yılında yaptıkları çalışmalarında, xylitolun antikaryojenik ve remineralize edici özelliklerini ratlarda, *S. mutans* inokülasyonu ile araştırmışlar ve % 20 sakkaroz, % 5 glikoz ve % 5 xylitolden oluşan diyetin, diğer gruplara oranla daha az fissür lezyonları oluşturduğunu

belirtmişlerdir. Başlangıçta sakkaroz diyeti uygulayıp, daha sonra sakkaroz-xylitol diyeti uygulananlarda dahi çürük düzeylerinde azalma olduğunu, sakkaroz-xylitol diyetinden sakkaroz diyetine geçişte ise hızlı bir çürük gelişimi gösterdiğini gözlemişlerdir (47). Bizim de çalışmamızda, %15 sakkaroz, %5 glikoz ve %5 xylitolden oluşan diyetin *S. mutans* inokülasyonu ile ratlarda çok az düzeyde (özellikle sakkaroz grubuna kıyasla) yüzeyel lezyonların oluşması bu araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Xylitolun remineralize edici etkisi, Leach ve Green (1980) tarafından araştırılmıştır. Kısa süreli olan bu çalışmada % 6 xylitol destekli düşük karyojenik etkili nişasta diyeti ile beslenen ratlarda başlangıç durumundaki lezyonlara engel olunabileceğini, ileri safhada çürüklere bir etkisi olmadığını belirtmişlerdir (69).

Scheinin ve Makinen (1975) (96) tarafından ortaya atılan xylitolün anti-karyojenik ve remineralize edici özellikleri çeşitli araştırmacılar tarafından desteklenmiştir (4,14,34,47,94,100).

Leach ve Green (1980); diyetle xylitol kullanılmasının çürükte önemli derecede gerilemeye neden olduğunu, bunun da xylitolun ağıza alındığı an, tükürük salgısı, pH ve Ca konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu değişikliklerin, geçici non-asidojenik plak altındaki reverzibl bir lezyonun remineralizasyonunu desteklediğini, xylitolun sadece non-karyojenik ajan değil, aynı zamanda çürük üzerinde tedavi edici etkisi olan bir madde olduğunu belirtmişlerdir (69 ). Scheinin ve Makinen (1975); diyet sakkarozunun xylitol ile değiştirilmesinin sadece bir yıl sonra bile çürük insidansında çok önemli azalmalara neden olduğunu, sakkarozun xylitol ile sadece yemekler arası çiğnenen sakız olarak değiştirilmesinin bile insanlarda çürük insidansını azalttığını belirtmişler ve xylitolun bu şekilde verilmesini önermişlerdir (96). Xylitolun dental plağın florası tarafından metabolize edilmediği ve plakta stimüle tükürüğün pH'sının artmasını sağladığı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (15,69,85). Grunberg ve arkadaşları ( 1973); xylitolun, çürük oluşumunu azaltmada, sorbitol veya mannitolden daha etkili olduğunu ve xylitolun oral mikroorganizmalarca fermentasyonunun mümkün olmadığını belirtmişlerdir. Xylitolun diş çürüğünün önlenmesinde ve azaltılmasında bir sakkaroz değişkeni olarak kabul edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir (37).

Karle ve ark. (1975); sakkaroz, sorbitol, xylitol ve fruktoz içeren diyetlerle besledikleri ratların deney sonunda plaklarını toplayıp, mikrobiyolojik yönden incelediklerinde, sakkarozlu yemle beslenen hayvanların plaklarında *S. mutans*

çoğunlukla bulunurken xylitol ile beslenen hayvanların plak örneklerinde *S. mutans* saptanamamıştır (60). Bizim çalışmamızda, xylitol ilaveli diyetle beslenen ratların plak örneklerinin bakteriyolojik incelenmesinde, sakkaroz grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde *S. mutans*'ların sayısının düşük olduğu saptanmıştır.

Turku şeker çalışmalarında; kişilerin diş plaklarındaki *S. mutans* sayısının sakkaroz ve xylitol kullanımı ile olan ilişkisi incelenmiştir (93,94,96). Kültür ortamlarının inkübasyondan sonraki pH değerleri ölçülmüştür. Xylitolun düşük çürük yüzdesi gösterdiği bulunmuştur. pH ölçümlerinde xylitol değerlerinin kritik pH olarak kabul edilen 5.5 altına düşmediği görülmüştür (31,62,110).

Birçok araştırmacı xylitolun çürük önleyici etkisini pekçok çalışmalarla göstermişlerdir (4,39,95,96,97,98,99,116). Moleküler ve mikrobiyolojik yönden incelenen xylitol, karyostatik etkisi bilinen tek doğal karbonhidrat olarak tanımlanmaktadır. Bu etkinin oluşmasından, şu mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır:

- a. Molekül büyüklüğü ve uzunluğunun hekzitolere oranla kısa olması, açık zincir yapısı ve indirgenebilen karbonil grubunun eksik olması,
- b. Birçok ağız mikroorganizmasında xylitolu diş plağı içersine bağlayacak olan faktörün eksikliği veya kısmen bulunması,
- c. Bakteri genlerinin xylitolu fermente edebilecek enzimleri üretememesi veya bu amaç için genlerin indüklenememesi,
- d. Çürük olayında rol alan enzimlerin inhibisyonu,
- e. Xylitolun, hekzoz ve disakkaritler ile karşılaştırıldığında daha yüksek ozmotik basınç göstermesi,
- f. Xylitolun plak pH' sını değiştirmeden tükürük içerisinde elektrolit konsantrasyonu oluşturabilmesi,
- h. Xylitolun kullanımıyla tükürükteki laktoperoksidaz ve amilazın seviyesinin artması (11,73,75,76,85).

In vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda, oral bakterilerin büyük bir kısmının xylitolü asidik ürünlere çevirme yeteneğinden yoksun oldukları gösterilmiştir. Xylitolun oral bakterilerin saf kültürleri üzerinde büyümeyi engelleyici etkisi olduğu görülmüştür (11,39,93).

Xylitol sitoplazmada gluktoz fosfattransferaz ile parçalanmaktadır. Hücre xylitolü daha fazla katabolize edememekte ve bu da xylitol-5P' in birikmesine

neden olmaktadır (73,76). Bazı deneylerde, xylitolün glikoz içeren ortamdaki saf *S. mutans* kültürlerine ilavesi hücrelerin büyümesini geciktirmekte veya engellemekte olduğu ve glikozdan asit üretiminin etkilendiği gösterilmiştir. Ayrıca *S. mutans'* in bir suşu ile xylitole bağlı olarak sakkarozdan asit oluşturma hızında bir azalma olduğu da belirtilmiştir (7,85). Bu çalışmamızda, diyetin %5 sakkaroz oranı ile yer değiştirildiği xylitollü diyetle beslenen ratların plak örneklerindeki *S. mutans* sayısının, sakkarozlu diyete kıyasla daha az sayıda bulunmasının sebebinin, diyetteki xylitole bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuçta; xylitolun oral mikroorganizmalarca enerji ve karbon kaynağı olarak kullanılabilirdiği buna karşılık xylitol ile tatlandırılmış yiyecekler kullanıldığında oral ekosistemin xylitolu fermente etmeye adaptasyonunun nadir rastlanılan bir olay olduğu kanısına varılmıştır (11).

Çalışmamızda xylitol ilaveli diyetle beslenen ratların plak örneklerinin bakteriyolojik incelemesinde *S. mutans'* ların, özellikle sakkarozlu diyetle beslenenlere göre daha düşük sayıda olması ve buna bağlı olarak da daha düşük oranlarda çürüklere rastlanması, bu konuda araştırma yapan diğer araştırmacıların bulduğu sonuçlarla uyum içindedir (7,14,34,37,45,46,47,59,60).

Bu konuda daha fazla sayıda klinik ve laboratuvar çalışmaları yapılmasıyla, diyet değişikliklerinin çürükten korunmada etkili bir yöntem olacağı düşünülmektedir.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada, 50 adet Swiss albino ratlara, *Streptococcus mutans* serotip c suşu inoküle edilerek, sakkaroz, glikoz, xylitol ve nişasta oranlarının değiştirilebildiği toz formdaki bazal diyet ile hayvanların rutinde kullandığı pellet formundaki diyetler kullanılarak *S. mutans* oranları ve diş çürükleri analizleri bakteriyolojik ve mikroskopik yöntemlerle araştırılmıştır.

Beslenme ile ilgili ilaveler, ratların yeme şeklini değiştirmekte ve ratlarda çürük deneylerinin sonuçlarını etkilemekte ve ayrıca daha fazla su alımına neden olan diyare ve sağlığın kötü olmasında sonuçları açıklamayı güçleştirmektedir. Bu çalışmada, ratların, sadece beslenme gereksinimlerini karşılamakla kalmayıp, aynı zamanda dışkı üzerinde, kilo alımı üzerinde minimum etkisi olan, mantıklı oranlarda şeker değişkenlerinin ilave edilebildiği ve karbonhidrat fraksiyonlarının istenilen oranlarda değiştirilebildiği standart bir bazal yem geliştirilerek bu sorunlar çözülmeye çalışıldı. Hazırlanan bu toz diyetin, ratlarda çürük deneylerinde ve özellikle poliollerin denenmesinde rahatlıkla kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu diyetin şu özellikleri bulunmaktadır:

1. Bu diyetin bazal kısmı, ratların tüm yaşamsal gereksinimlerini karşılayabilmek için gerekli besleyici maddeleri içermektedir.
2. Mantıklı sınırlar içinde polioller, ozmotik diyareye neden olmadan diyete ilave edilebilir.
3. *S. mutans* ratların oral kavitelelerinde iyi bir şekilde kolonize olmuştur.
4. Bu diyet, *S. mutans* inoküle edilen ratlarda yüzeysel mine lezyonlarına neden olmuştur.
5. Değişik yiyecek ilaveleri ile diyetler arasındaki potansiyel karyojenitedeki küçük farklılıkları tespit etmede uygun olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada, tüm deney gruplarındaki hayvanlarda genel sağlığı bozucu herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

Laboratuvar pellet yemleri ile beslenen ratlarda kilo artışları, toz diyetle beslenen ratlardan biraz daha fazla olduğu saptanmıştır.

*S. mutans* inoküle edilmeyen gruptan alınan plak örneklerinde *S. mutans*'a hiç veya çok az sayıda rastlanmış ve aynı zamanda bu gruptaki ratların dişleri çürük yönünden incelendiğinde çürük lezyonları tespit edilmemiştir.

Diyetler yüksek karyojenik potansiyele sahip olmadığından tüm gruplarda gözlenen çürükler yüzeysel lezyonlar şeklindedir.

Bu çalışmada, hayvanların dental plaklarında en fazla *S. mutans*'a rastlanılan grup, sakkaroz grubudur. Aynı zamanda sakkaroz grubunda, diğer gruplara oranla daha fazla sayıda yüzeysel lezyonlar gözlenmiştir. En az *S. mutans* sayısı, *S. mutans* inoküle edilmeyen grupta saptanmıştır. Toplam bakteri sayısı da en fazla sakkaroz grubunda gözlenmiştir. Toplam bakteri sayısı bakımından sakkaroz ve xylitol grubu irdelendiğinde, xylitol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bakterilerin daha az sayıda olduğu tespit edilmiştir.

Diş çürüklerinin mikroskopik analizleri sonucu, en fazla diş çürüğünün sakkarozla beslenen grupta olduğu, bakteri inoküle edilmeyen grupta hiç görülmediği, nişastalı, xylitolü ve pellet yemli grupta çok az lezyonlara rastlandığı gözlenmiştir.

Ratların, anterior dişlerinin aproksimallerinden alınan plak örneklerindeki bakteri sayısı, posterior dişlerinin fissürlerinden alınan plak örneklerindeki bakteri sayılarından daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu sayılar hem *S. mutans*'lar için, hem de toplam bakteriler için aynı şekildedir.

Üçüncü grupta, sakkarozun % 5 oranı ile değiştirilen xylitolün, ratlarda düşük kilo alımı dışında herhangi patolojik bulguya neden olmadığı gözlenmiştir. Aynı zamanda xylitol ilaveli diyet ile beslenen ratlardan alınan plak örneklerinin mikrobiyolojik incelemeleri sonucu salt sakkaroz diyeti ile beslenenlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde *S. mutans* sayılarının daha az sayıda bulunduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yine xylitol grubunda sakkaroz grubuna göre, daha az sayıda yüzeysel çürük lezyonları gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre; xylitolun mantıklı sınırlarda diyete ilavesi ile, ***S. mutans*** sayılarının ve buna bağlı olarak da çürük lezyonlarının azaldığı görülmektedir.

Bu konuda daha fazla deneysel ve klinik çalışmalarının da yapılması ve diğer koruyucu yöntemlerin de kullanılmasıyla, diyet değişikliğinin toplumumuzun diş çürüklerinden korunmasında önemli rol oynayacağı düşünölmektedir.



## 5.ÖZET

Bu çalışmada, diş çürüklerinden sorumlu mikroorganizma olan ***Streptococcus mutans*** serotip c suşu ile inoküle edilerek farklı diyet grupları ile beslenen 50 adet Swiss albino ratlarındaki ***S. mutans*** sayıları ve diş çürükleri yönünden ilişki bakteriyolojik ve mikroskopik yöntemlerle araştırılmıştır.

Ratların beslenme gereksinimlerini karşılayan nişasta, şeker ve şeker değişkenlerinin oranlarının değiştirilebildiği toz formda bir bazal diyet geliştirilmiştir. Albino ratlar, 90 gün süresince yüksek karyojenik potansiyele sahip olmayan diyetler ile beslenmişlerdir. Deney süresi boyunca, ratlarda genel sağlığı bozucu herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

***Streptococcus mutans*** serotip c inokülasyonu neticesi, ***S. mutans***'lar ratların oral kavitealarında iyi bir şekilde kolonize olmuşlardır. ***S. mutans*** oranları ve toplam bakteri sayısı sakkaroz grubunda en fazla saptanmıştır. Aynı şekilde, orantılı olarak çürük lezyonları da bu grupta, diğer gruplara kıyasla daha fazla sayıda bulunmuştur.

***Streptococcus mutans*** inoküle edilmeyen grupta, plak örneklerinde ***S. mutans***' a çok az veya hiç rastlanmadığı gibi, yine bu grupta diş çürükleri de gözlenmemiştir.

Diyete % 5 sakkaroz yerine xylitol ilavesinin ratlarda bir miktar düşük kilo alımına neden olduğu gözlenmişse de herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Bununla beraber diyete xylitol ilave edilmesiyle, ratlardan alınan plak örneklerinde özellikle sakkaroz grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ***S. mutans*** sayısının daha düşük olduğu ve aynı zamanda çürük lezyonlarının da daha az sayıda olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmamızla, diyete uygun oranlarda xylitol ilavesinin, çürükten korunmada etkili bir yöntem olabileceği düşünülmektedir. Diyet değişiklikleri ile ilgili olarak daha fazla çalışmaların yapılması ile, diğer koruyucu yöntemlerle birlikte toplumumuzun da bu konuda bilinçlendirilmesiyle diş çürüklerinden korunmada önemli adımlar atılacağı umulmaktadır.



## 6.SUMMARY

In this study, the comparison of *S. mutans* counts and dental caries with bacteriological and microscopic investigations were performed on 50 Swiss albino rats inoculated with *Streptococcus mutans* serotype c.

A powdered form basal diet sufficient for rats nutritional needs, in which percentages of starch, sugar and sugar substitutes, could be changed, was used. Albino rats were fed on a noncariogenic diet for 90 days. No pathological findings were found in general health of the rats throughout the experimental period.

*S. mutans* serotype c inoculation was successful in rats oral cavity colonization. *S. mutans* rates and total bacteria counts were the highest in sucrose group. Similarly, caries lesions were higher in this group when compared with the others.

*S. mutans* was very few or not detected in plaque samples and there were no caries cavities observed in the group which were not inoculated with *S. mutans*. Rats gained a little less weight when 5 % sucrose was substituted by xylitol however there was not any pathological findings. With addition of xylitol to diet, *S. mutans* counts were statistically lower in plaque samples and caries lesions were less when compared with the sucrose group.

This study confirms that adequate addition of xylitol to diet is an effective way for the prevention of caries. Further investigations on diet and preventive procedures are necessary to reduce caries increment.

## 7. KAYNAKLAR

1. Alaluusua, S., Renkonen, O.V., ***Streptococcus mutans*** establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old, Scand J Dent Res., 91, (1983), 453-457.
2. Alaluusua, S., Myllörniemi, S., Kallio, M.. ***Streptococcus mutans*** infection level and caries in a group of 5-year-old children, Caries Res., 23, (1989), 190-194.
3. Alaluusua, S., Salivary counts of mutans streptococi and lactobacilli and past caries experience in caries prediction, Caries Res., 27, suppl 1, (1993), 68-71.
4. Arends, J., Christoffersen, J., Schuthof, J., Smits, M.T., Influence of xylitol on demineralization of enamel, Caries Res., 18, (1984), 296-301.
5. Beckers, H.J.A., Van der Hoeven, J.S., Growth rates of ***Actinomyces viscosus*** and ***Streptococcus mutans*** during early colonization of tooth surfaces in gnotobiotic rats, Infection and Immunity, 35, 2, (1982), 583-587.
6. Beckers, H.J.A., Van der Hoeven, J.S., Effect of microbial interaction on the colonization rate of ***Actinomyces viscosus*** or ***Streptococcus mutans*** in the dental plaque of rats, Infection and Immunity, 38, 1, (1982), 8-13.
7. Beckers, H.J.A., Influence of xylitol on growth, establishment, and cariogenicity of ***Streptococcus mutans*** in dental plaque of rats, Caries Res., 22, (1988), 166-173.
8. Beighton, D., A simplified procedure for estimating the level of ***Streptococcus mutans*** in the mouth, Br Dent J., 160, (1986), 329-330.
9. Beighton, D., Rippon, H.R., Thomas, H.E.C., The distribution of ***Streptococcus mutans*** serotypes and dental caries in a group of 5-to 8-year-old Hampshire schoolchildren, Br Dent J., 162, (1987), 103-106.
10. Birkhed, D., Automatic titration method for determination of acid production from sugars and sugar alcohols in small samples of dental plaque material, Caries Res., 12, (1978), 128-136.
11. Birkhed, D., Kalfas, S., Svensäter, G., Edwardsson, S., Microbiological aspects of some caloric sugar substitutes, Int. Dent. Journal., 35, 1, (1985), 9-17.

12. Birkhed, D., Behavioural aspects of dietary habits and dental caries, *Caries Res.*, 24, suppl 1, (1990), 27-35.
13. Bowen, W.H., Pearson, S.K., Young, D.A., The effect of desalivation on coronal and root surface caries in rats, *J Dent Res.*, 67, 1, (1988), 21-23.
14. Bowen, W.H., Pearson, S.K., The effects of sucralose, xylitol and sorbitol on remineralization of caries lesions in rats, *J Dent Res.*, 71, 5, (1992), 1166-1168.
15. Bradshaw, D.J., Marsh, P.D., Effect of sugar alcohols on the composition and metabolism of a mixed culture of oral bacteria grown in a chemostat, *Caries Res.*, 28, (1994), 251-256.
16. Brock, T.D., Madigan, M.T., *Biology of microorganisms*, Sixth edition, Prentice-Hall International Editions, London, Sydney, Toronto, (1991), 389-392.
17. Burt, B.A., Relative consumption of sucrose and other sugars: Has it been a factor in reduced caries experience, *Caries Res.*, 27, suppl 1, (1993), 56-63.
18. Bush, M.S., Chalacombe, S.J., Newman, H.N., A method for the identification of *Streptococcus mutans* in gingival margin plaque by immunofluorescence, *Caries Res.*, 24, (1990), 23-29.
19. Caldwell, R.C., Stallard, R.E., *A textbook of preventive dentistry*. W.B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, (1977), 30-62.
20. Carlsson, P., On the epidemiology of mutans streptococci, *Doktora Tezi*, Department of Cariology, Faculty of Odontology, University of Lund. Malmö (1988).
21. Catalanotto, F.A., Shklair, I.L., Keene, H.J., Prevalence and localization of *Streptococcus mutans* in infants and children, *JADA*, 91, (1975), 606-609.
22. Cengiz, T. *Endodonti*, 3. Baskı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir: (1990), 109-127.
23. Clarke, J.K., On the bacterial factor in the aethiology of dental caries, *Br J Exp Pathol*, 5, (1924), 141-147.
24. Çalışkaner, Ş., *Hayvan besleme laboratuvar teknikleri*, A.Ü.Z.F. Yayınları, 942, Ankara, (1985).
25. Dashper, S.G., Reynolds, E.C., pH Regulation by *Streptococcus mutans*, *J Dent Res.*, 71, 5, (1992), 1159-1165.
26. Edwardsson, S., Krasse, B., Human streptococci and caries in hamsters fed diets with sucrose or glucose, *Archs Oral Biol.*, 12, (1967), 1015-1016.

27. Emilson, C.G., Prevalence of *Streptococcus mutans* with different colonial morphologies in human plaque and saliva, Scand J Dent Res., 91, (1983), 26-32.
28. Emilson, C.G., Krasse, B., Comparison between a dip-slide test and plate count for determination of *Streptococcus mutans* infection, Scand J Dent Res., 94, (1986), 500-506.
29. Ergül, M., Yemler bilgisi ve teknolojisi, E.Ü.Z.F. Yayınları, 487, E.Ü. Basımevi, Bornova, İzmir, (1988).
30. Gauthier, L., Vadeboncoeur, C., Mayrand, D., Loss of sensitivity to xylitol by *Streptococcus mutans* LG-1, Caries Res., 18, (1984), 289-295.
31. Gehring, F., Makinen, K.K., Lamas, M., Scheinin, A., Turku sugar studies. IV. An intermediate report on the differentiation of polysaccharide forming streptococci (*S. mutans*), Acta Odont Scand., 32, (1974), 435-444.
32. Gold, O.G., Jordan, H.V., Van Houte, J., A selective medium for *Streptococcus mutans*, Archs Oral Biol., 18, (1973), 1357-1364.
33. Green, R.M., Hartles, R.L., The effect of diets containing different mono- and disaccharides on the incidence of dental caries in the albino rat, Archs Oral Biol., 14, (1969), 235-241.
34. Grenby, T.H., Xylitol as a replacement for sucrose: Trails in laboratory rats, Caries Res., 15, (1981), 180.
35. Grenby, T.H., Saldanha, M.G., Studies of the inhibitory action of intense sweeteners on oral microorganisms relating to dental health, Caries Res., 20, (1986), 7-16.
36. Grenby, T.H., Phillips, A., Mistry, M., Studies of the dental properties of lactitol compared with five other bulk sweeteners in vitro, Caries Res., 23, (1989), 315-319.
37. Grunberg, E., Beskid, G., Brin, M., Xylitol and dental caries, J. Vit. Nutr. Res., 43, (1973), 227-232.
38. Guggenheim, B., König, K.G., Herzog, E., Müklemann, H.R., The cariogenicity of different dietary carbohydrates tested on rats in relative gnotobiosis with a *Streptococcus* producing extracellular polysaccharide, Helv. Odont. Acta, 10, (1966), 101-113.
39. Gürğân, S., Söylev, İ., Alaçam, R., Geleneksel şekerler ve yapay tatlandırıcıların çürük yapıcı etkilerinin bakteriyolojik yöntemlerle araştırılması, ORAL, 3, 25, (1986), 19-25.

40. Hamada, S., Slade, H., Biology, Immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*, *Microbiological Reviews*, 44, 2, (1980), 331-384.
41. Hamada, S., Overview of the biology of *Streptococcus mutans*, molecular microbiology and immunobiology of *Streptococcus mutans*, Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division), (1986), 7-19.
42. Hardie, J.M., Oral streptococci, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2 Ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Williams & Wilkins, Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, (1986), 1054-1063.
43. Hardy, L., Jacques, N.A., Forester, H., Campbell, L.K., Knox, K.W., Wicken, A.J., Effect of fructose and other carbohydrates on the surface properties, Lipoteichoic acid production, and extracellular proteins of *Streptococcus mutans* in vitro grown in continuous culture, *Infection and Immunity*, 31, 1 (1981), 78-87.
44. Harper, D.S., Loesche, W.J., Growth and acid tolerance of human dental plaque bacteria, *Archs Oral Biol.*, 29, 10, (1984), 843-848.
45. Havenaar, R., Dirks, O.B., Caries reducing properties of xylitol in rat experiments, *Caries Res.*, 15, (1981), 180.
46. Havenaar, R., Huis in't Veld, J.H.J., De Stoppelaar, J.D., Dirks, O.B., A purified cariogenic diet for rats to test sugar substitutes with special emphasis on general health, *Caries Res.*, 17, (1983), 340-352.
47. Havenaar, R., Huis in't Veld, J.H.J., De Stoppelaar, J.D., Dirks, O.B., Anti-Cariogenic and remineralizing properties of xylitol in combination with sucrose in rats inoculated with *Streptococcus mutans*, *Caries Res.*, 18, (1984), 269-277.
48. Havenaar, R., The anti-cariogenic potential of xylitol in comparison with sodium fluoride in rat caries experiments, *J Dent Res.*, 63, 2, (1984), 120-123.
49. Hillman, J.D., Yapte, B.I., Johnson, K.P., Colonization of the human oral cavity by a strain of *Streptococcus mutans*, *J Dent Res.*, 64, 11, (1985), 1272-1274.
50. Holbrook, W.P., Kristinsson, M.J., Gunnarsdottir, S., Briem, B., Caries prevalence, *Streptococcus mutans* and sugar intake among 4-year-old urban children in Iceland, *Community Dent Oral Epidemiol.*, 17, (1989), 292-295.
51. Holm, A.K., Diet and caries in high-risk groups in developed and developing countries, *Caries Res.*, 24, suppl 1, (1990), 44-52.

52. Huis in't Veld, J.H.J., Drost, J.S., Havenaar, R., Establishment and localization of mixtures of *Streptococcus mutans* serotypes in the oral cavity of the rat, J Dent Res., 61, 10, (1982), 1199-1205.
53. Imfeld, T., Non-acidogenic and non-cariogenic sugar substitutes and sweeteners, Cariology Today, Int., Congr. Zürich, (1983), 147-153.
54. Imfeld, T., Efficacy of sweeteners and sugar substitutes in caries prevention, Caries Res., 27, suppl 1, (1993), 50-55.
55. Isokangas, P., Alanen, P., Tiekso, J., Makinen, K.K., Xylitol chewing gum in caries prevention: a field study in children, JADA, 117, 2, (1988), 315-320.
56. Jordan, H.V., Cultural methods for the identification and quantitation of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in oral samples, Oral Microbiol, Immunol., 1, (1986), 23-27.
57. Kalfas, S., Birkhed, D., Effect of aerobic and anaerobic atmosphere on acid production from sorbitol in suspensions of dental plaque and oral streptococci, Caries Res., 20, (1986), 237-243.
58. Kandelman, D., Gagnon, G., Clinical results after 12 months from a study of the incidence and progression of dental caries in relation to consumption of chewing-gum containing xylitol in school preventive programs, J Dent Res., 66, 8, (1987), 1407-1411.
59. Karle, E., Büttner, W., Kariesbefall im tierversuch nach verabreichung von sorbit, xylit, lycasin und calciumsaccharosephosphat, Dtsch Zahnärztl. Z., 26, (1971), 1097-1108.
60. Karle, E., Gehring F., Wirkung der zuckeraustauschstoffe fruktose, sorbit und xylit auf kariesbefall und plaqueflora der ratte, Dtsch. Zahnärztl. Z., 30, (1975), 356-363.
61. Keene, H.J., Sampling of cariogenic microorganisms in human populations, Oral Microbiol Immunol., 1, (1986), 7-12.
62. Kertesz, P., Schuder, L., Szöke, J. et al, Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary. VI. Changes in the carbohydrate to protein ratio of dental plaque, Acta Odontol Scand., 43, (1985), 377-380.
63. Kilian, M., Mikkelsen, L., Henrichsen, J., Taxonomic study of viridans streptococci: description of *Streptococcus gordonii* sp. nov. and emended descriptions of *Streptococcus sanguis* (White and Niven 1946), *Streptococcus oralis* (Bridge and Sneath 1982), and *Streptococcus mitis* (Andrewes and Horder 1906), International Journal of Systematic Bacteriology, 39, 4, (1989), 471-484.

64. Kobayashi, Y., Ozeki, M., Oqawa, A., Matsumoto, S., Sanjo, M., Moriyama, T., Invasion of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus intermedius* and *Propionibacterium acnes* into the teeth of gnotobiotic rats, *Caries Res.*, 26, (1992), 132-138.
65. Koray, F., Diş Çürükleri, Dünya Tıp Kitabevi, İstanbul, (1981), 7-34.
66. Köhler, B., Andreen, I., Johnsson, B., The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age, *Oral Microbiol Immunol.*, 3, (1988), 14-17.
67. Krasse, B., The effect of caries-inducing streptococci in hamsters fed diet with sucrose or glucose, *Arch. Oral Biol.*, 10, (1965), 223-226.
68. Larje, O., Larson, R.H., Reduction of dental caries in rats by intermittent feeding with sucrose substitutes, *Archs Oral Biol.*, 15, (1970), 805-816.
69. Leach, S.A., Green, R.M., Effect of xylitol supplemented diets on the progression and regression of fissure caries in the albino rat, *Caries Res.*, 14, (1980), 16-23.
70. Lindquist, B., Mutans streptococci in human dentition. Some factors influencing colonization and distribution. Doktora Tezi. Göteborg, (1991).
71. Loesche, W.J., Earnest, R., Grossman, N.S., Corpron, R., The effect of chewing xylitol gum on the plaque and saliva levels of *Streptococcus mutans*, *JADA*, 108, (1984), 587-592.
72. Loesche, W.J., Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay, *Microbiological Reviews*, 50, 4, (1986), 353-380.
73. Mäkinen, K.K., New biochemical aspects of sweeteners, *Int Dent Journal*, 35, (1985), 23-35.
74. Mäkinen, K.K., Söderling, E., Hurttia, H., Lehtonen, O.P., Luukkala, E., Biochemical, microbiologic, and clinical comparisons between two dentifrices that contain different mixtures of sugar alcohols, *JADA*, 111, (1985), 745-751.
75. Mäkinen, K.K., Isokangas, P., Relationship between carbohydrate sweeteners and oral diseases, *Progress in Food and Nutrition Science*, 12, (1988), 73-109.
76. Mäkinen, K.K., Sweeteners and prevention of dental caries, *Oral Health*, 78, (1988), 57-66.
77. Mäkinen, K.K., Söderling, E., Isokangas, P., Tenovuo, J., Tiekso, J., Oral biochemical status and depression of *Streptococcus mutans* in children during 24-to 36-month use of xylitol chewing gum, *Caries Res.*, 23, (1989), 262-267.

78. Marsh, P.D., Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries, *Caries Res.*, 27, suppl 1, (1993), 72-76.
79. Marthaler, T.M., Changes in the prevalence of dental caries: How much can be attributed to changes in diet?, *Caries Res.*, 24, suppl 1, (1990), 3-15.
80. Merdivenci, A., Laboratuvar hayvanı bakımı, üretimi ve deney tekniği, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Kutulmuş Matbaası, İstanbul, (1971), 51-71.
81. Michalek, S.M., McGhee, J.R., Virulence of *Streptococcus mutans*: An antibiotic-suppressed rat model for studies of pathogenesis, *J Dent Res.*, 56, 3, (1977), 205-211.
82. Minah, G.E., Sampling of cariogenic microorganisms, *Oral Microbiol Immunol.*, 1, (1986), 13-14.
83. Munro, A.L.S., Measurement and control of pH values, *Methods in microbiology*, 2, Ed. Norris, J.R., Ribbons, D.W., London and New York, Academic Press, (1970), 39-89.
84. Mühlemann, H.R., Regolati, B., Marthaler, T.M., The effect on rat fissure caries of xylitol and sorbitol, *Helv Odont Acta*, 14, (1970), 48-50.
85. Mühlemann, H.R., Schmid, R., Noguchi, T., Imfeld, T., Hirsch, R.S., Some dental effects of xylitol under laboratory and in vivo conditions, *Caries Res.*, 11, (1977), 263-276.
86. Navia, J.M., The value of animal models to predict the caries-promoting properties of human diet or dietary components, *Cariology Today*, Zürich, (1983), 154-165.
87. Newbrun, E., *Cariology*. Third Edition. Quintessence Publishing Co, Inc, Chicago, Illionis, (1989), 13-273.
88. Nizel, E.A., Papas, A.S., *Nutrition in Clinical Dentistry*, 3rd Ed., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: W.B. Saunders Com., (1989), 1-100.
89. Nolte, W.A., *Oral Microbiology with basic microbiology and immunology*, 3rd Ed., The C.V. Mosby Company, Saint Louis, (1977), 515-534, 622-656.
90. Ooshima, T., Sobue, S., Hamada, S., Kotani, S., Susceptibility of rats hamsters, and mice to carious infection by *Streptococcus mutans* serotype c and d organisms, *J Dent Res.*, 60, 4, (1981), 855-859.
91. Ooshima, T., Izumitani, A., Minami, T., et al, Noncariogenicity of maltitol in specific pathogen-free rats infected with mutans streptococci, *Caries Res.*, 26, (1992), 33-37.



92. Petersson, L.G., Birkhed, D., Gleeurup, A., Johansson, M., Jönsson, G., Caries-preventive effect of dentifrices containing various types and concentrations of fluorides and sugar alcohols, *Caries Res.*, 25, (1991), 74-79.
93. Pienihakkinen, K., Gabris, K., Nyarasy, I., Rigo, O., Scheinin, A., Banoczy, J., Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary, III. Longitudinal counts of lactobacilli and yeasts in saliva, *Acta Odontol Scand.*, 43, (1985), 359-365.
94. Rekola, M., Changes in buccal white spots during 2-year consumption of dietary sucrose or xylitol, *Acta Odontol Scand.*, 44, (1986), 285-290.
95. Scheie, A.A., Fejerskov, O., Assev, S., Rölla, G., Ultrastructural changes in *Streptococcus sobrinus* induced by xylitol, NaF and ZnCl<sub>2</sub>, *Caries Res.*, 23, (1989), 320-327.
96. Scheinin, A., Mäkinen, K.K., Tammisalo, E., Rekola, M., Turku sugar studies XVIII. Incidence of dental caries in relation to 1-year consumption of xylitol chewing gum, *Acta Odont. Scand.*, 33, (1975), 269-278.
97. Scheinin, A., Banoczy, J., Szöke, J., et al, Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary. I. Three-year caries activity in institutionalized children, *Acta Odontol Scand.*, 43, (1985), 327-347.
98. Scheinin, A., Pienihakkinen, K., Tiekso, J., et al, Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary, VII. Two-year caries incidence in 976 institutionalized children, *Acta Odontol Scand.*, 43, (1985), 381-387.
99. Scheinin, A., Banoczy, J., Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary, *Acta Odontol Scand.*, 43, 6, (1985), 321-388.
100. Scheinin, A., Le xylitol, sucre de substitution cariostatique, *Act Odonto Stomatolog.*, 158, (1987), 213-222.
101. Schemmel, R.A., Ross, K.A., Kabara, J.J., Carious units and *Streptococcus mutans* in rats fed sucrose or maltose in two different types of diets, *Caries Res.*, 21, (1987), 530-537.
102. Sencer, E., Beslenme ve Diyet, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2. Baskı, Güven Matbaası, İstanbul, (1991), 37-53.
103. Seppä, L., Luoma, H., Forss, H., Happonen, S.S., Markkanen, S., Pelkonen, K., Invasion of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus salivarius* in early caries lesions of gnotobiotic rats, *Caries Res.*, 23, (1989), 371-374.
104. Shaw, J.H., Griffiths, D., Partial substitution of hexitols for sucrose and dextrin in caries-producing diets, *J Dent Res*, 39, 2, (1960), 377-384.

105. Shaw, J.H., Krumins, I., Gibbons, R.J., Comparison of sucrose, lactose, maltose and glucose in the causation of experimental oral diseases, *Archs Oral Biol.*, 12, (1967), 755-768.
106. Shaw, J.H., Inability of low levels of sorbitol and mannitol to support caries activity in rats, *J Dent Res.*, 55, 3, (1976), 376-382.
107. Siebert, G., Ziesenitz, S.C., Lotter, J., Marked caries inhibition in the sucrose-challenged rat by a mixture of nonnutritive sweeteners, *Caries Res.*, 21, (1987), 141-148.
108. Silverstone, L.M., Johnson, N.W., Hardie, J.M., Williams, R.A.D., *Dental Caries, Aetiology, Pathology and Prevention*, The Macmillian Press Ltd., Hong Kong: (1981), 72-96.
109. Söderling, E., Alaräisänen, L., Scheinin, A., Mäkinen, K.K., Effect of xylitol and sorbitol on polysaccharide production by and adhesive properties of *Streptococcus mutans*, *Caries Res.*, 21, (1987), 109-116.
110. Söderling, E., Mäkinen, K.K., Chen, C.Y., Pape, H.R., Loesche, W.J., Mäkinen, P.L., Effect of sorbitol, xylitol, and xylitol/sorbitol chewing gums on dental plaque, *Caries Res.*, 23, (1989), 378-384.
111. Söderling, E., Isokangas, P., Tenovuo, J., Mustakallio, S., Mäkinen, K.K., Long-term xylitol consumption and mutans streptococci in plaque and saliva, 25, (1991), 153-157.
112. Sreebny, L.M., Sugar availability, sugar consumption and dental caries, *Community Dent Oral Epidemiol*, 10, (1982), 1-7.
113. Stephan, R.M., Effects of different types of human foods on dental health in experimental animals, *J Dent Res.*, 45, 5, (1966), 1551-1561.
114. Svanberg, M., *Streptococcus mutans* in plaque after mouth-rinsing with buffers of varying pH value, *Scand J Dent Res.*, 88, (1980), 76-78.
115. Svanberg, M., Krasse, B., Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media, *Caries Res.*, 24, (1990), 36-38.
116. Szöke, J., Pienihakkinen, K., Esztari, L., Banoczy, J., Scheinin, A., Collaborative WHO xylitol field studies in Hungary. V. Three-year development of oral hygiene, *Acta Odontol Scand.*, 43, (1985), 371-376.
117. Tabak, L.A., Bowen, W.H., Roles of saliva (pellicle), diet, and nutrition on plaque formation, *J Dent Res.*, 68, (1989), 1560-1566.
118. Van der Hoeven, J.S., Cariogenicity of disaccharide alcohols in rats, *Caries Res.*, 14, (1980), 61-66.

119. Van Houte, J., Burgess, R.C., Onose, H., Oral implantation of human strains of *Streptococcus mutans* in rats fed sucrose or glucose diets, *Archs Oral Biol.*, 21, (1976), 561-564.
120. Van Palenstein Helderman, W.H., Ijseldijk, M., Huis In't Veld, J.H.J., A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva, *Archs Oral Biol.*, 28, 7, (1983), 599-603.
121. Weinberger, S.J., Wright, G.Z., Correlating *Streptococcus mutans* with dental caries in young children using a clinically applicable microbiological method, *Caries Res.*, 23, (1989), 385-388.
122. Wennerholm, K., Birkhed, D., Emilson, C.G., Effects of sugar restriction on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in saliva and dental plaque, *Caries Res.*, 29, (1995), 54-61.
123. Willcox, M.D.P., Drucker, D.B., Green, R.M., Comparative cariogenicity and dental plaque-forming ability in gnotobiotic rats of four species of mutans streptococci, *Archs Oral Biol.*, 34, 10, (1989), 825-828.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

25.3.1964 yılında Salihli' de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Salihli Altınordu İlkokulunda ve Salihli Lisesinde, 1981 yılında Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde başladığım yüksek öğrenimimi de 1986 yılında tamamladım. 1987 yılında, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak girdim ve aynı yıl Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Pedodonti Anabilim Dalında doktora öğrenimime başladım. Halen Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

Evli ve bir çocuk sahibiyim.