

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

SÜT DİŞLERİNDEKİ KARYOJENİK BAKTERİLERİN
OLUŞTURDUĞU BİYOFİLM YAPININ ENGELLENMESİNDE
POSTBİYOTİKLERİN ETKİNLİĞİ

Dt. Gizem AKÇAY

Çocuk Diş Hekimliği Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Ayça KURT

RİZE-2025

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

SÜT DİŞLERİNDEKİ KARYOJENİK BAKTERİLERİN
OLUŞTURDUĞU BİYOFİLM YAPININ ENGELLENMESİNDE
POSTBİYOTİKLERİN ETKİNLİĞİ

Dt. Gizem AKÇAY

Çocuk Diş Hekimliği Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Ayça KURT

RİZE-2025

KABUL ve ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalında, Doç. Dr. Ayça KURT danışmanlığında, Gizem AKÇAY tarafından hazırlanan ‘Süt Dişlerinde Karyojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşumu Engellenmesinde Postbiyotiklerin Etkinliği’ adlı bu tez çalışması 09.07.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucu oy birliğiyle başarılı bulunmuş ve jürimiz tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvan, Adı Soyadı

Başkan

: Doç. Dr. Ayça KURT

Üye

: Doç. Dr. Sema AYDINOĞLU

Üye

: Doç. Dr. Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

ETİK BEYAN

Çocuk Diş Hekimliği Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim ‘Süt Dişlerinde Karyojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşumu Engellenmesinde Postbiyotiklerin Etkinliği’ adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada:

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gizem AKÇAY

09.07.2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimi ile bana yol gösteren, hem mesleki hem bilimsel anlamda bana vizyon katan kıymetli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Ayça KURT'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesinden yararlanabildiğim, her zaman desteğini ve sevgisini hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Sema AYDINOĞLU'na,

Tezin tüm deneysel aşamalarında ve ilerlemesinde engin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, saat sınırlaması olmadan yardımını ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Şengül Alpay KARAOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Arif BOZDEVECİ ve bütün laboratuvar çalışma arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim boyunca çok güzel hatıralar biriktirdiğim, iş arkadaşlığının ötesinde güzel dostluklar kurduğum, sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim başta eş kıdemlilerim Handenur KABASAKAL, Şeyma LÖK ve Çise Dolunay USLU ŞENER olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bu zorlu süreçte hep yanımda olan, inancıyla, şefkatiyle hep arkamda duran, en zor zamanlarımda bana cesaret veren, dualarını ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem Filiz GÜZEL'e, emeklerinin ve fedakarlıklarının karşılığını asla ödeyemeyeceğim, her zaman yanımda ve destekçim olan abim Görkem AKÇAY'a,

Ayrıca tüm aileme; sevgileriyle bana güç veren, beni koşulsuzca destekleyen herkese teşekkür ederim.

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TSA-2024-1658 nolu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VII
ABSTRACT	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ağız ve Diş Sağlığının Önemi.....	3
2.2. Diş Çürüğü ve Oluşum Mekanizması	5
2.2.1. Biyofilm ve Karyojenik Bakteri İlişkisi.....	7
2.2.2. Karbonhidrat Metabolizması ve Asit Üretimi	7
2.2.3 Demineralizasyon ve Remineralizasyon Dengesi.....	7
2.3. Karyojenik Bakteriler ve Roller.....	8
2.3.1. <i>Streptococcus mutans</i>	9
2.3.2. <i>Lactobacillus</i> Türleri.....	11
2.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	14

2.4. Biyofilm	16
2.4.1. Biyofilmin Yapısı	17
2.4.2. Sinyal Molekülüyle İletişim (Quorum Sensing)	18
2.4.3. Biyofilm Oluşumu ve Gelişim Evreleri	19
2.4.4 Biyofilm Saptama Yöntemleri	22
2.5. Biyofilm Giderimi İçin Kullanılan Yaklaşımlar	24
2.6. Diş Çürüklerinin Önlenmesine Yönelik Kullanılan Doğal Antimikrobiyal Bileşiklerdeki Son Gelişmeler	25
2.7. Prebiyotik ve Probiyotikler	26
2.8. Postbiyotikler	30
2.8.1. Postbiyotiklerin Sınıflandırılması: ¹⁰	31
2.8.2. Postbiyotiklerin Etki Mekanizmaları	33
2.8.3. Süt Dişlerinde Postbiyotiklerin Kullanım Potansiyeli	37
3.GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Gereç	40
3.1.1. Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği	40
3.1.2. Araştırmanın Türü, Yeri ve Zamanı	40
3.1.3. Örneklem Boyutu	40
3.1.4. Çalışma Dizaynı	41
3.1.5. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	42
3.1.6. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri	42
3.1.7. Kullanılan Solüsyonlar ve Ayraçlar	44

3.2.Yöntem.....	45
3.2.1. Diş Örneklerinin Toplanması ve Saklanması.....	45
3.2.2. Diş Örneklerinden Karyojenik Bakterilerin İzolasyonlarının Yapılması.....	45
3.2.3. Bakterilerin Safılaştırılması ve Stoklanması.....	46
3.2.4. Karyojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Kongo Kırmızısı Agar ve Mikroplaka Yöntemiyle Belirlenmesi	47
3.2.5. Biyofilm Oluşturan Karyojenik Bakterilerin Canlandırılması ve Agar Plug Yöntemiyle Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	49
3.2.6. Postbiyotiklerin Hazırlanması ve Karyojenik Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi	50
3.2.7. Postbiyotiklerin Biyofilm İnhibisyonundaki Etkinliği	52
4. BULGULAR	53
4.1. Karyojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Kongo Kırmızısı Agar ve Mikroplaka Yöntemiyle Belirlenmesi	55
4.2. Biyofilm Oluşturan Karyojenik Bakterilerin Canlandırılması ve Agar Plug Yöntemiyle Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi	59
4.3. Postbiyotiklerin Hazırlanması ve Karyojenik Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi	62
4.4. Biyofilm İnibisyonunun Postbiyotik Ko-İnkübasyon Yöntemi İle Testi	65
5. TARTIŞMA	82
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	93

KAYNAKLAR	95
EKLER	108
EK-1 Öz Geçmiş	108
EK-2 Etik Kurul Onayı.....	109
EK-3 Bap Onay Formu	110
EK-4 İntihal Raporu	111



ÖZET

Süt Dişlerindeki Karyojenik Bakterilerin Oluşturduğu Biyofilm Yapının Engellenmesinde Postbiyotiklerin Etkinliği

Amaç: Bu çalışmanın amacı, süt dişlerinden izole edilen karyojenik bakteriler (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus acidophilus*) üzerinde postbiyotiklerin antimikrobiyal ve biyofilm inhibitör etkilerini in vitro koşullarda değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 6-12 yaş aralığındaki çocuk hastalardan çekim endikasyonu olan süt molar dişlerinden örnekler alındı. İzole edilen karyojenik bakteriler %5 koyun kanlı agar, MRS ve Mitis Salivarius Agar ortamlarında üretildi. Postbiyotikler, hem ticari hem de araştırma kapsamında elde edilen probiyotik suşlardan üretildi. Bakterilerin biyofilm oluşturma kapasiteleri Kongo kırmızısı agar ve kristal viyole boyama yöntemleriyle değerlendirildi. Postbiyotiklerin biyofilm oluşumu üzerindeki etkileri kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak analiz edildi.

Bulgular: Çalışma kapsamında uygulanan postbiyotiklerin, üç farklı karyojenik bakteri türü (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus acidophilus*) üzerinde biyofilm oluşumunu önlemede etkili olduğu saptanmıştır. Kristal viyole boyama yöntemiyle elde edilen optik yoğunluk ölçümleri, postbiyotiklerin biyofilm üzerindeki inhibitör etkisini net bir şekilde ortaya koymuştur. Farklı postbiyotik suşları arasında etkide farklılıklar gözlenmiş olup, laboratuvar ortamında üretilen postbiyotiklerin bazı ticari formlara göre daha yüksek biyofilm inhibisyonu sağladığı kaydedilmiştir.

Sonuç: Postbiyotikler, canlı mikroorganizma içermemeleri ve antimikrobiyal metabolit içeriğiyle, özellikle çocuk hastalarda güvenle kullanılabilecek potansiyel ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, postbiyotiklerin ağız mikrobiyotası üzerindeki düzenleyici etkilerini ve diş çürüklerinin önlenmesinde kullanılabilirliğini desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: Biyofilm, Diş çürüğü, Karyojenik bakteri, Postbiyotik, Süt dişi

ABSTRACT

Effectiveness of Postbiotics in Preventing Biofilm Structure Formed by Cariogenic Bacteria in Primary Teeth

Aim : This study aimed to evaluate the antimicrobial and biofilm-inhibitory effects of postbiotics on cariogenic bacteria (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Lactobacillus acidophilus*) isolated from primary teeth under in vitro conditions.

Materials and Methods : Primary molar teeth with extraction indications were collected from pediatric patients aged 6–12 years. The isolated cariogenic bacteria were cultured on 5% sheep blood agar, MRS, and Mitis Salivarius Agar media. Postbiotics were produced from both commercial strains and laboratory-derived probiotic strains. The biofilm-forming capacities of the bacteria were assessed using Congo red agar and crystal violet staining methods. The effects of postbiotics on biofilm formation were comparatively analyzed with control groups.

Results : Within the scope of the study, the applied postbiotics were found to be effective in preventing biofilm formation by three different cariogenic bacterial species (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Lactobacillus acidophilus*). Optical density measurements obtained using the crystal violet staining method clearly demonstrated the inhibitory effect of postbiotics on biofilm formation. Differences in efficacy were observed among the various postbiotic strains, with some laboratory-produced postbiotics exhibiting higher biofilm inhibition compared to certain commercial formulations.

Conclusion : Postbiotics, due to their content of antimicrobial metabolites and the absence of live microorganisms, stand out as promising agents that can be safely used in pediatric patients. The findings of this study support the regulatory effects of postbiotics on oral microbiota and their potential application in the prevention of dental caries.

Key words: Biofilm, Cariogenic bacteria, Dental caries, Postbiotic, Primary tooth

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BHI :	:Brain Heart Infusion
Dk :	:Dakika
MRS :	:de Man, Rogosa and Sharpe Agar/Broth besiyeri
dNTP :	:Deoksinükleotit trifosfat
°C :	:Derece santigrat
rpm :	:Devir/dakika
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
EPS	: Ekstraselüler polisakkarit
EÇÇ	: Erken çocukluk çağı çürüğü
Gtf	: Glukoziltransferaz
g	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
CFU/mL	: Koloni oluşturan birim/mililitre
CRA	: Kongo Red Agar besiyeri
LA	: Lactobacillus acidophilus
LAB	: Laktik asit bakterileri
Lactobacillus spp	: lactobacillus türleri
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
µg/mL	: Mikrogram/mililitre
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
mg/mL	: Miligram/mililitre
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre

MBC	: Minimum bakterisidal konsantrasyon
MIK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MSA	: Mitis Salivarius Agar besiyeri
nm	: Nanometre
P	: Anlamlılık düzeyi
PM	: Postbiyotik mediatör
RTEÜ	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
QS	: Quorum-sensing
SF	: Serum fizyolojik
NaCl	: Sodyum klorür
SA	: Staphylococcus aureus
SM	: Streptococcus mutans
TSB	: Tryptic Soy Broth
%	: Yüzde

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1. Postbiyotiklerin etki mekanizması	38
Tablo 4. 1. Kongo kırmızısı agar testinde biyofilm oluşumunun belirlenmesi (n=211)	56
Tablo 4. 2. Streptococcus karyojenik bakterilerine karşı probiyotik bakterilerin (Lactobacillus) agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm).....	60
Tablo 4. 3. Streptococcus karyojenik bakterilerine karşı probiyotik bakterilerin (Streptococcus) agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm)	61
Tablo 4. 4. Lactobacillus karyojenik bakterilere karşı Streptococcus agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm).....	61
Tablo 4. 5. Lactobacillus karyojenik bakterilere karşı Lactobacillus probiyotik bakterilerin agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm).....	62
Tablo 4. 6. Postbiyotiklerin biyofilm üreten mikroorganizmalara karşı MİK ve MBC değerlerine göre antimikrobiyal etkinliği.	64
Tablo 4. 7. L121/2C suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi ..	72
Tablo 4. 8. GL36H suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi ..	73
Tablo 4. 9. L463A suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi ...	74
Tablo 4. 10. L73/3B suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi ..	76
Tablo 4. 11. GL80A suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi ..	77
Tablo 4. 12. GA94F suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi ..	78
Tablo 4. 13. Dilüsyonlara göre her suş için postbiyotik etkinliğinin istatistiksel analizi..	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Ağız hastalıklarının genel etkileri ¹³	4
Şekil 2. 2. Çürükte etkili olan faktörleri gösteren Keyes diyagramı ²⁰	6
Şekil 2. 3. Çürük oluşumuna katkı sağlayan ikincil etkenler ^{21, 22}	6
Şekil 2. 4. Yüzeyde Biyofilm Oluşumu ⁶³	19
Şekil 2. 5. Pelikül oluşumu, yapışma ve kolonizasyona şematik bir genel bakış. 1. Pelikül oluşumu, 2. Bakterilerin pasif olarak diş yüzeyine taşınması, 3. Bakterilerin zayıf elektrostatik çekim kuvvetleri tarafından tersine çevrilebilir şekilde tutunması, 4. Bağlanmanın peliküldaki bakteri ve reseptörler üzerindeki adezinlerin aracılık ettiği geri dönüşümsüz hale gelmesi, 5. İkincil kolonileştiricilerin birincil kolonileştiricilere bağlanması (birlikte yapışma), 6. Bakterilerin büyümesi ve biyofilm olgunlaşması, 7. Ayrılma	21
Şekil 2. 6. Probiyotik Laktobasillerin mikroorganizmalar üzerinde önerilen lokal etki mekanizmaları ¹⁰¹	28
Şekil 2. 7. Prebiyotikler, Probiyotikler, Sinbiyotikler ve Postbiyotikler ¹¹⁶	30
Şekil 2. 8. Postbiyotik mediatörlerin ana gruplarının gösterimi ¹¹⁹	33
Şekil 2. 9. Postbiyotik mediatörlerin konakçı üzerindeki etki mekanizmaları (MKPM; Mikrobiyota kaynaklı postbiyotik mediatör) ¹²⁰	34
Şekil 2. 10. Biyofilm oluşum aşamaları (1: birincil yapışma, 2: sıkı yapışma, 3: ilk gelişme, 4: olgunlaşma ve 5: dağılma) ve bireysel postbiyotik mediatörün biyofilm oluşumu üzerindeki önleme ve eliminasyon potansiyeli ¹²⁴	36
Şekil 3. 1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri: 1- MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) Agar Besiyeri, 2- Mitis Salivarius Agar (MSA) Besiyeri, 3- Kongo Kırmızısı Agar (KKA) Besiyeri, 4- Brain-Heart Infusion Agar (BHIA) Besiyeri, 5-Koyun Kanlı Agar (%5) ...	43

Şekil 3. 2. Diş örneklerinin toplanması, 1-Alt molar davye, Düz Bien Elevatör, 2- Diş örneklerinin gliserollü solüsyonda saklanması	45
Şekil 3. 3. Alınan karyojenik bakteri numunelerinin santrifüj edilmesi ve besiyerlerine ekildikten sonra petrilerin mumlu kavanozda inkübasyonu	46
Şekil 3. 4. MSA besiyerinde (1) ve koyun kanlı agar besiyerinde (2) üreyen bakteri koloni görüntüleri.....	46
Şekil 3. 5. Gram boyama yöntemi : 1-Preparatların kristal viyole ile boyanması, 2- Lugol uygulaması, 3-Safranin ile boyama	47
Şekil 3. 6. Mikroplaka yöntemiyle kristal viyole absorbansının ölçümü	48
Şekil 3. 7. 1- Kùltürlerin çalkalamalı inkübatörde inkübasyonu, 2- Santrifüj edilen kùltürlerin steril filtreden geçirilmesi, 3- Postbiyotik örneklerinin liyofilizasyonu	51
Şekil 3. 8. Postbiyotiklerin karyojenik bakterilere karşı agar kuyucuk metodunda antimikrobiyal aktivite testi	51
Şekil 3. 9. Örneklerin boyanması ve spektrofotometre ile ölçülmesi.....	52
Şekil 4. 1. MSA ve kanlı agar besiyerlerine ekilmiş bakteri örnekleri.....	53
Şekil 4. 2. Bazı suşların mikroskop görüntüleri	54
Şekil 4. 3. Kongo red agarda biyofilm oluşumu.....	55
Şekil 4. 4. Mikroplaka yöntemi uygulanan mikroplatelerin görüntüsü.....	57
Şekil 4. 5. Streptokokların biyofilm üretim potansiyeli	58
Şekil 4. 6. Laktobasillerin biyofilm üretim potansiyeli	58
Şekil 4. 7. Agar plug metoduyla petri görüntüleri	59
Şekil 4. 8. Liyofilize edilmiş postbiyotikler	63
Şekil 4. 9. L121/2C postbiyotiğinin etkinliğı	66
Şekil 4. 10. GL36H postbiyotiğinin etkinliğı	67
Şekil 4. 11. L46/3A postbiyotiğinin etkinliğı	68

Şekil 4. 12. L72/3B postbiyotiğinin etkinliği	69
Şekil 4. 13. GL80A postbiyotiğinin etkinliği	70
Şekil 4. 14. GA94F postbiyotiğinin etkinliği	71



1. GİRİŞ

Diş çürüğü, bakterilerin oral florada yerleşip çoğalması ve zamanla diyet ile konak faktörleriyle etkileşime girmesi sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel, enfeksiyöz bir hastalıktır. Çürüğün oluşumu için duyarlı bir konak, karyojenik mikroorganizmalar ve karyojenik gıdaların belirli bir süre birlikte bulunması gerekmektedir.¹⁻³

Streptococcus mutans (*S. mutans*), *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), diş çürüğünün gelişiminde farklı aşamalarda rol oynayan önemli mikroorganizmalardır. Bu bakteriler, diş yüzeyine tutunarak biyofilm oluşturmakta ve metabolik aktiviteleri sonucunda asidik ürünler üreterek mine dokusunun demineralizasyonuna neden olmaktadır.⁴ *S. mutans*, biyofilmin matürasyonunda ve organik asit üretiminde kritik bir rol oynayarak mine dokusunun demineralizasyonunu hızlandırmaktadır.⁵ Benzer şekilde, *Lactobacillus* spp. düşük pH seviyelerine toleransı sayesinde çürüğün ilerleyen aşamalarında baskın hale gelmekte ve dentin dokusunun bozulmasını hızlandırmaktadır.⁶ *S. aureus* ise özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ve erken çocukluk çağı çürüklerinde patojenik bir role sahip olduğu gösterilmiştir.⁷

Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunan ve ekzopolimerik yapılar, proteinler, polisakkaritler ile nükleik asitlerden oluşan ekstraselüler matriks ile çevrili çok hücreli mikrobiyal topluluklardan meydana gelmektedir. (bakteriler, mantarlar ve protozoalar).⁵ Ağız içindeki sert ve yumuşak dokuların sağlığının korunmasında, bakteriyel adezyon, biyofilm oluşum mekanizması ve dental materyallerin yüzey özellikleri önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda bu konuya yönelik araştırmalar artış göstermiş olup, özellikle biyofilm oluşumunun önlenmesine yönelik çalışmalar güncelliğini ve bilimsel önemini korumaktadır.⁸

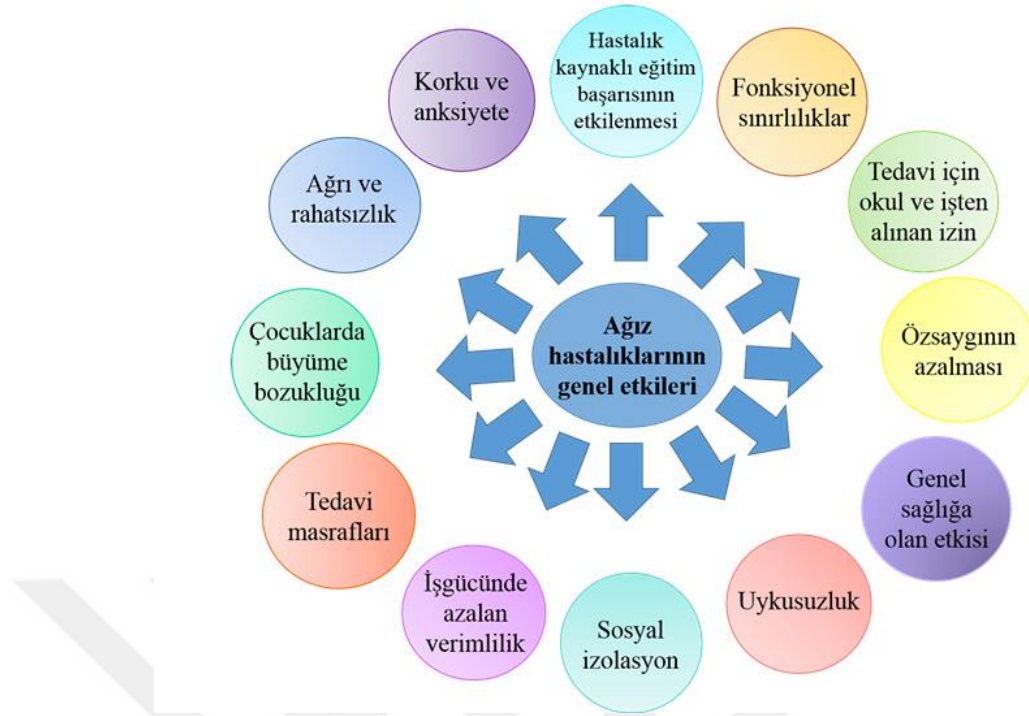
Son yıllarda diş çürüğünün önlenmesine yönelik yaklaşımlarda, oral mikrobiyota dengesini sağlamaya yönelik biyolojik stratejiler ön plana çıkmaktadır. Bu bağlamda probiyotikler; patojenlerle rekabet ederek, biyofilm oluşumunu engelleyerek ve konakçı immün yanıtını modüle ederek antikaryojenik etki gösterebilmektedir.⁹ Ancak probiyotiklerin canlı bakteri içermesi, ürün stabilitesi, depolama koşulları ve bağışıklık sistemi zayıf bireylerde kullanım riskleri gibi bazı sınırlılıklar taşımaktadır. Bu sınırlamaların aşılması amacıyla geliştirilen postbiyotikler, canlı bakteri içermeyen fakat biyolojik olarak aktif mikrobiyal bileşenlerdir ve güvenli, stabil yapılarıyla dikkat çekmektedir.¹⁰ Postbiyotikler, bağırsakta bulunan probiyotikler ve fermente gıdalar tarafından üretilen hücre duvarı parçaları, sitoplazmik içerikler veya metabolitlerdir. Canlı probiyotikler tarafından ya da fermantasyon sürecinde hücrelerin parçalanması sonucunda gıdalara, mikrobiyolojik kültürlerle veya bağırsaklara salgılanmaktadır.¹¹ Bu nedenle, bu bilgiler doğrultusunda çalışmanın amacı; karyojenik özellikleri nedeniyle *S. mutans*, *S. aureus* ve *L. Acidophilus* bakterilerinin biyofilm oluşturma yeteneğini engellemede, güncel biyolojik ajanlardan biri olan postbiyotiklerin etkinliğini değerlendirmektir.

Çalışma için “H₀: Süt dişlerindeki karyojenik bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapının engellenmesinde postbiyotiklerin etkinliği yoktur.” ve “H₁: Süt dişlerindeki karyojenik bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapının engellenmesinde postbiyotiklerin etkinliği vardır.” hipotezleri kuruldu.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağız ve Diş Sağlığının Önemi

Ağız ve diş sağlığı, bireyin genel sağlık durumu ile doğrudan ilişkili, bütüncül bir sağlık bileşenidir. Dünya Diş Hekimleri Birliği, ağız sağlığını; ağrı, rahatsızlık ya da kraniyofasiyal bölgede herhangi bir hastalık bulunmaksızın bireyin konuşma, gülümseme, tat ve koku alma, dokunma, çiğneme, yutma gibi temel işlevleri yerine getirebilmesi ve yüz mimikleriyle duygularını ifade edebilmesi olarak tanımlamaktadır.¹² Ağız hijyenine dikkat edilmemesi durumunda ise ağız ve diş sağlığı olumsuz yönde etkilenmekte ve genel sağlık koşulları üzerinde birçok olumsuz sonuca neden olmaktadır (Şekil 2.1). Yapılan araştırmalar, ağız ve diş hastalıklarının yalnızca oral kavite ve dişlerle sınırlı olmadığını; aksine kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar, kanser ve diyabet gibi pek çok kronik hastalığın gelişimiyle ilişkili olduğunu ve bu hastalıkların riskini artırabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca ağız sağlığındaki bozulmalar, bireylerin beslenme ve iletişim yetilerini olumsuz etkileyebilir; bu durum yaşam kalitesinde düşüşe, fiziksel ve psikolojik sorunlara yol açabilir ve bireyin sosyal izolasyona yönelmesine neden olabilir (Şekil 2.1).¹³ 1976 yılında Cohen ve Jago¹⁴, diş hekimliğinin en büyük katkısının yaşam kalitesini iyileştirmek olduğunu savunmuştur. Günümüzde ortaya konan tüm bu birikimli bulgular, ağız sağlığının yalnızca ağız boşluğundaki durumla sınırlı olmadığını; bunun yerine genel sağlık, fiziksel işlevsellik, psikolojik denge ve sosyal iyilik hali ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.¹⁴



Şekil 2. 1. Ağız hastalıklarının genel etkileri¹³

Küresel Hastalık Yüğü (Global Burden of Disease - GBD) 2015 verilerine göre, dünya genelinde yaklaşık 3,5 milyar kişi, başta tedavi edilmemiş süt ve daimi diş çürükleri, ileri düzey periodontal hastalıklar, tam dişsizlik ve ciddi diş kaybı (1 ila 9 diş eksikliği) gibi dental sorunlarla yaşamaktadır.¹⁵

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), ağız hastalıklarının pek çok ülkede tedavi maliyeti en yüksek dördüncü sağlık sorunu olduğunu rapor etmektedir.¹⁶ 2015 yılı itibarıyla, dünya genelinde diş hastalıklarının tedavi giderleri yaklaşık 357 milyar dolar olarak bildirilmiştir. Aynı yıl, Avrupa Birliği ülkelerinde ağız ve diş sağlığı hizmetlerine yönelik harcamaların 90 milyar euroyu bulduğu rapor edilmiştir. Bu maliyet, bulaşıcı olmayan hastalıklar arasında diyabet ve kardiyovasküler hastalıklardan sonra en yüksek üçüncü sağlık harcaması olarak öne çıkmaktadır. Ağız sağlığı hizmetlerinin çoğunlukla birinci basamak sağlık sistemine entegre edilmemesi, hem bireyler hem de toplumlar için ekonomik yük oluşturmaktadır ve bu yük, özellikle dezavantajlı kesimler üzerinde daha

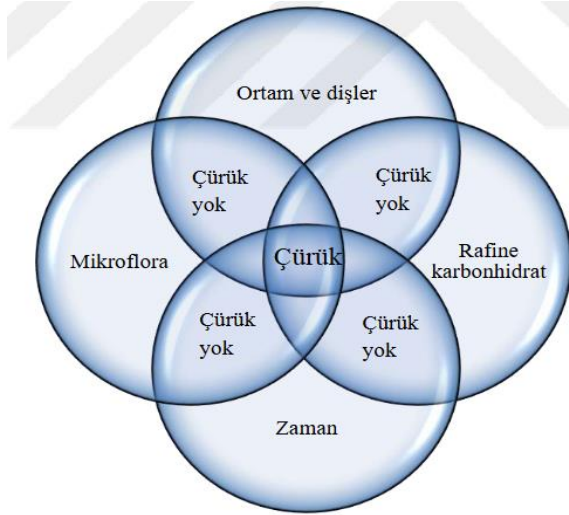
belirgin olumsuz etkiler yaratmaktadır.¹⁷ Bu sebeple ağız ve diş hastalıklarını önleme ve kontrol amacıyla entegre stratejiler geliştirmek büyük önem taşımaktadır.

2.2. Diş Çürüğü ve Oluşum Mekanizması

Diş çürüğü, dişin sert dokularında meydana gelen, mikrobiyal etkenlerin neden olduğu ve ilerleyici özellik gösteren bir yıkım süreci olarak tanımlanmaktadır. Çürük oluşumu, oral mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunarak oluşturduğu biyofilm (dental plak) içinde gerçekleşmekte olup, genellikle karbonhidratların fermantasyonu sonucu açığa çıkan asitlerin neden olduğu demineralizasyon ile başlamaktadır.¹⁸

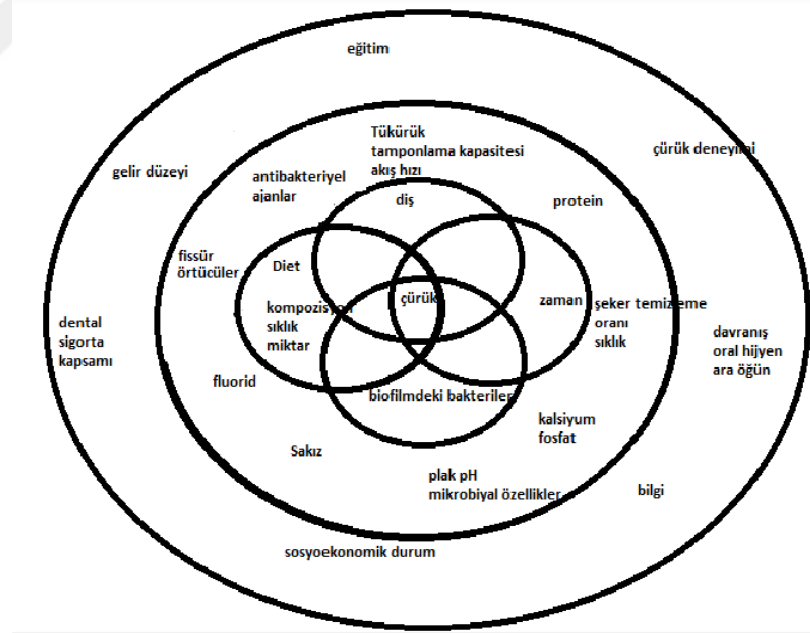
WHO, diş çürüğünü multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlamaktadır. Çürük oluşumu, mikroorganizmalar, konak faktörleri (diş morfolojisi, tükürük akışı ve genetik özellikler), beslenme alışkanlıkları (özellikle fermente olabilen karbonhidratlar) ve zaman gibi çeşitli etkenlerin karşılıklı etkileşimi sonucunda gerçekleşmektedir.¹⁹ Çürük etkenleri özetle Keyes diyagramında gösterilmiştir (Şekil 2.2.).²⁰

1. Mikroflora
2. Ortam ve dişler
3. Rafine karbonhidrat
4. Zaman



Şekil 2. 2. Çürükte etkili olan faktörleri gösteren Keyes diyagramı²⁰

Çürük oluşumunu dolaylı ve ikincil faktörler olan; yaş, cinsiyet, tükürük, beslenme, dişin morfolojisi ve konumu, ağız hijyeni, diş fırçalama alışkanlığı, immün sistem, eğitim seviyesi ve sosyoekonomik durum da etkilemektedir (Şekil 2.3.).²¹



Şekil 2. 3. Çürük oluşumuna katkı sağlayan ikincil etkenler^{21, 22}

Diş çürüğü, klinik olarak mine yüzeyinde beyaz nokta lezyonları ile başlayıp, ilerleyen aşamalarda dentin ve pulpa dokusuna kadar yayılabilmektedir. Tedavi

edilmediği takdirde diş kaybı, ağrı ve enfeksiyonlara neden olarak bireyin genel sağlık durumu ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir.²³

Diş çürüğü, diş sert dokularında meydana gelen, mikrobiyal faktörler, beslenme alışkanlıkları, tükürük bileşimi ve bireysel konak değişkenlerinin etkileşimi sonucunda ortaya çıkan, geri dönüşü olmayan mineral kaybıyla karakterize bir patolojik süreçtir. Bu süreç; biyofilm gelişimi, karbonhidrat metabolizması, asit üretimi ve mine dokusunun demineralizasyonu gibi bir dizi biyokimyasal mekanizmayı içermektedir.^{1, 24}

2.2.1. Biyofilm ve Karyojenik Bakteri İlişkisi

Diş yüzeyinde biyofilm gelişimi, çürük patogenezinin temel aşamalarından biridir. Biyofilm, mikroorganizmaların diş yüzeyine kolonize olması ve ekzoselüler polimerik maddeler salgılayarak karmaşık bir yapı oluşturmasıyla meydana gelir.⁵ *S. mutans*, *Lactobacillus* türleri ve *S. aureus* gibi karyojenik bakteriler, bu biyofilmin başlıca bileşenlerini oluşturarak metabolik aktiviteleri sonucu organik asitler üretir ve diş minesinin mineral kaybına neden olur.²⁴

2.2.2. Karbonhidrat Metabolizması ve Asit Üretimi

Karyojenik mikroorganizmalar, diyetle alınan fermente olabilen karbonhidratları (glukoz, fruktoz ve sakkaroz) metabolize ederek laktik asit gibi organik asitler sentezler.¹ Ortaya çıkan bu asidik bileşikler, diş yüzeyinde pH dengesini bozarak lokalize bir asidik mikroçevre oluşturur. pH seviyesi kritik eşik değeri olan 5,5'in altına düştüğünde, mine dokusundaki kalsiyum ve fosfat iyonları çözünerek demineralizasyon sürecini başlatır.⁶

2.2.3 Demineralizasyon ve Remineralizasyon Dengesi

Diş sert dokularının bütünlüğü, demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki denge ile korunur. Tükürüğün içerdiği kalsiyum, fosfat ve flor iyonları remineralizasyon sürecini desteklerken, asidik ortam remineralizasyon mekanizmalarını inhibe ederek

mineral kaybını artırır.⁷ Remineralizasyon süreci yetersiz kaldığında, mine dokusunda geri dönüşü olmayan yapısal kayıplar meydana gelir ve çürük lezyonları gelişir.

Sonuç olarak, diş çürüğünün oluşum mekanizması, mikroorganizma aktivitesi, beslenme alışkanlıkları ve konak faktörlerinin etkileşimiyle şekillenen dinamik bir süreçtir.^{1, 5} Biyofilmin olgunlaşması, karbonhidrat metabolizmasına bağlı asit üretimi ve demineralizasyon-remineralizasyon dengesinin bozulması, diş sert dokularında geri dönüşü olmayan yapısal hasarlara yol açmaktadır.⁶

2.3. Karyojenik Bakteriler ve Roller

Diş çürüğü gelişiminde bakteriyel faktörler, sürecin hem başlangıcında hem de ilerleyişinde belirleyici rol oynamaktadır. Dental plakta yer alan bazı mikroorganizmalar, fermente edilebilir karbonhidratları metabolize ederek asit üretir. Ortaya çıkan bu asit, dişin sert dokularında demineralizasyona neden olur. Bu mikroorganizmalar “karyojenik bakteriler” olarak tanımlanır ve özellikle düşük pH koşullarında hayatta kalabilmeleri ile biyofilm içerisinde organize yapılar oluşturabilme yetenekleri sayesinde çürük oluşumunda önemli bir yer tutarlar.^{4, 25}

Karyojenik bakterilerin çürük patogenezindeki rolleri; asit üretme kapasiteleri (asidojenite), asidik ortam koşullarında hayatta kalabilme yetenekleri (asidürit), diş yüzeyine adezyon kabiliyetleri ve biyofilm içerisinde yaşamlarını sürdürebilme potansiyelleri ile ilişkilidir. Bu özellikler, söz konusu mikroorganizmaların çürük oluşumunda daha baskın ve zararlı etkiye sahip olmalarına neden olmaktadır.²⁶

Karyojenik bakteriler arasında *S. mutans*, *Lactobacillus* türleri ve daha az sıklıkla *S. aureus* çürük oluşumunda önemli rol oynamaktadır.²⁷ Bu bakteriler yalnızca asit üretmekle kalmaz aynı zamanda yüksek asit toleransına sahip fenotipleri sayesinde düşük pH'lı ortamlarda hayatta kalabilme yeteneğine sahiptirler.²⁵ Ayrıca ekstraselüler

polisakkarit (EPS) üretimi ile biyofilm matrisinin yapısal bütünlüğünü güçlendirerek mekanik ve kimyasal temizliklere karşı direnç kazanmalarına yardımcı olurlar.²⁸

Aşağıda bu bakterilerin genel özellikleri ve çürük oluşumundaki mekanizmaları ayrıntılı bir şekilde ele alınmaktadır.

2.3.1. *Streptococcus mutans*

Genel Özellikler

Streptococcus mutans, diş çürüğü oluşumunda en fazla araştırılan ve en önemli karyojenik bakterilerden biridir.²⁹ Bu bakterinin karyojenik özelliği, üç temel faktöre dayanır: asit üretme (asidogenez), asidik ortamlara dayanıklılık (asidotolerans) ve diş yüzeyine güçlü bir şekilde tutunarak biyofilm oluşturma yeteneği.²⁸

Streptococcus mutans çürük lezyonlarından izole edilen biyofilmin yaklaşık %20-40'ını oluştururken, ürettiği yüzey antijenleri ve ekstrasellüler polisakkarit ile bakterilerin diş yüzeyine adezyonunu artırır.^{30, 31} *S. mutans* tarafından en fazla oluşturulan metabolit laktik asittir. *S. mutans* yüksek yüzey enerjisine sahip olan hidrofilik bir bakteridir, ayrıca hücre duvarı kalın olup metilen mavisiyle boyanabilmekte ve peptoglikan ve teikoik asit içermektedir. Polisakkarit yapıda kapsülü bulunmaktadır. *S. mutans* diş yüzeylerine yapışarak biyofilm oluşturabilmektedir. Diş yüzeyindeki pelikula hücre yüzeyindeki proteinleri sayesinde tutunmakta ve mikrobiyal biyofilm oluşturmaktadır. Oluşturduğu bu biyofilm içerisinde laktik asit üreterek mine yüzeyini dekalsifiye etmekte ve çürük oluşumuna sebep olmaktadır.³²

Gram-pozitif, fakültatif anaerob ve katalaz-negatif özelliklere sahip bir bakteridir. *Staphylococcus'un* aksine , tüm streptokoklar katalaz enziminden yoksundur. 2 µm'den küçük, yuvarlak veya oval şekilli olup, genellikle uzun zincirler halinde bulunmaktadır. Bazen ikişer ikişer veya kısa zincirler halinde de görülebilmektedir. Diş çürüğünün primer etkenlerinden biri olarak kabul edilmektedir.⁵ Hemolitik özelliklerine göre alfa-hemolitik,

beta-hemolitik ve non-hemolitik streptokoklar olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Ağız boşluğu ve kök kanallarında enfeksiyona neden olan başlıca türler, alfa-hemolitik streptokoklar grubuna aittir. Bu grupta yer alan *S. mutans*, diş çürüklerinin oluşumunda temel patojenik mikroorganizma olarak kabul edilmektedir. Oral florada bulunan *S. mutans*'ın aktivitesi, çürük insidansını doğrudan etkileyen önemli bir faktördür.³³ Oral streptokokların (*S. mutans*, *S. salivarius*) seçici izolasyonunda Mitis Salivarius Agar (MSA) besiyeri kullanılmaktadır. *S. mutans*, MSA'da mat, yapışkan koloni oluşturur. Katalaz negatif ve α -hemolitikdir. PCR ile *gtfB* pozitif sonuç verir.³⁴

Bakteriosinler, bakteriler tarafından sentezlenen, genellikle protein yapısında olan, benzer ya da yakın türlere karşı antibakteriyel etkili maddelerdir. *S. mutans* gibi karyojenik türlerin biyofilm ortamındaki başarısı, yalnızca asidojenik/asidürik özelliklerine değil, aynı zamanda bakteriyosin üretim yeteneklerine de dayanmaktadır. Bu protein yapılı antimikrobiyal ajanlar, özellikle diğer streptokok türlerine karşı selektif baskılama mekanizması göstererek mikrobiyal rekabette avantaj sağlar. Bu özellik, postbiyotiklerin antimikrobiyal potansiyelinin değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken önemli bir virülans faktörüdür.³⁴⁻³⁶

Diş Çürüğündeki Rolü

Diş yüzeyine tutunma ve biyofilm oluşumu: *S. mutans*, sakkarozu glukana dönüştüren glukoziltransferaz (Gtf) enzimleri üretir. Bu enzimler, bakterinin diş yüzeyine yapışmasını ve biyofilm oluşturmalarını kolaylaştırır. Özellikle GtfB, çözünmeyen glukanolar üretir ve bu da plak oluşumunu destekler. GtfC ve GtfD ise çözünür glukanolar üretir ve diğer bakterilerin tutunmasını kolaylaştırır.³⁷

Asit üretimi: Fermente edilebilir karbonhidratları (sakkaroz, glukoz, fruktoz) metabolize ederek laktik asit üretir, bu da mine dokusunun pH'ının düşmesine ve sonucunda demineralizasyona sebep olur.²⁴

Asit toleransı: Düşük pH koşullarında bile canlı kalabilme yeteneği, diğer oral bakterilere kıyasla rekabet avantajı sağlar.⁶

Genetik Düzenleme ve Virülans Faktörleri: Bu bakterinin genetik yapısı, virülans faktörlerini kodlayan bir dizi gene sahiptir. Özellikle, *gtfB*, *gtfC* ve *gtfD* genleri, Gtf enzimlerinin üretimini sağlayarak bakterinin dış yüzeyine adezyonunu ve biyofilm oluşumunu teşvik eder. Bunun yanı sıra, *comCDE* gen kümesi, quorum- sensing (QS) mekanizmasını düzenler ve bakterinin genetik yetkinliği ile asidik ortamlara dayanıklılığını kontrol eder.³⁸ Bu sistem, bakterinin çevresel streslere (pH değişimleri, tükürük akışı ve antimikrobiyaller gibi) karşı adaptasyon göstermesini sağlar.³⁹

Postbiyotiklerin Etkisi: Son araştırmalar, *Lactobacillus* türlerinden elde edilen postbiyotiklerin, *S. mutans*'ın biyofilm oluşumunu ve metabolik aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir. Özellikle, bu postbiyotikler *gtfB* gen ekspresyonunu azaltarak, bakterinin glukan üretimini ve dış yüzeyine tutunmasını engeller.^{37, 40}

2.3.2. *Lactobacillus* Türleri

Genel Özellikler

Lactobacillus türleri, Gram-pozitif, fakültatif anaerobik veya mikroaerofilik özellikler gösteren basil şeklindeki bakterilerdir. Ağız mikroflorasının bir parçası olan bu bakteriler, özellikle diş çürüğünün ileri evrelerinde yoğun olarak izole edilir. İlk kolonizan bakteriler olmamakla birlikte, oluşmuş biyofilm içinde asidik ortamı tolere etme ve sürdürebilme kapasiteleri sayesinde çürüğün ilerlemesinde önemli bir rol üstlenirler.⁴¹

Laktobasillerin hepsinde karışık asit fermentasyon yolu bulunur. Bu yol ile karbonhidratları kullanarak başta laktik asit olmak üzere kuvvetli asitlere dönüştürür. Heksoz yıkım ürünleri laktat ve volatil yağ asitleridir. Bu özellik, cins ayırımında önemlidir. Sütte bulunan bir disakkarit olan laktozu fermente edebiliyor olduğu için bu bakteriye laktobasil ismi verilmiştir. Laktobasiller, mikroskopik incelemede hemen daima

kısa kalın çomaklar şeklindedir. Yaşlı kültürlerde hücre gövdesinin iki ucu hafifçe şiş olabilir. Hücrenin yüzey elektrik yükleri sebebiyle balık sürüsü gibi birbirlerine paralel dizilirler veya uç uca eklenerek streptobasil şeklinde görünürler. Mikroskopik görünüşleri, üredikleri besiyerine bağlı olarak nadiren farklılık gösterebilir; ancak genel olarak morfolojik özellikleri oldukça benzer ve ayırt edicidir. Sadece *Bifidobacterium*'lar ile karıştırılabilir. *Lactobacillus*'ların hücre çapı her yerde birbirine yakın veya eşit iken, *Bifidobacterium*'larda hücreler ayakkabı çekeceği şeklinde bir tarafı geniştir. Sıvı besi yerinde dallanan filamanlar veya normalden uzun basiller şeklinde görünürler. Yaşlı kültürlerinde ve uygun olmayan besiyerinde çokşekillilik (pleomorfizm) gösterirler. Ovoid kokobasiller, böbrek şeklinde kıvrımlı kalın çomaklar şeklinde bulunabilirler. Hücrenin kıvrımı ortamdaki oksijen kısmi basıncına bağlıdır. Hareketsiz, sporsuz kapsülsüzdür. Konak doku içerisinde tür spesifik kapsül geliştirirler. En iyi pH 6.0'da ürerler. Optimal üreme ısısı 37 °C'dir ama 5-53°C'ler arasında çoğalabilirler. CO₂ ve Tween80 üremeyi artırır. Üredikleri ortamda amino asitler, yağ, nükleik asitler, minareller ile bilhassa B vitaminleri bulunmasını isterler. Domatesli besiyerinde daha kolay ürerler. Ticari olarak kullanılan besiyerleri De Man-Ragosa-Sharpe ve MRS sıvı ve katı besi ortamlarıdır. Birçok suş asit pH'ya sahip olan MRS agar besiyerinde, kolaylıkla üreyebilmektedir. Besiyerine kesilmiş süt ve glukoz ilavesi üremeyi artırır.

Bu grupta bulunan organizmalar, içinde vankomisin bulunmayan hemin ve vitamin K1 eklenmiş, %5 koyun veya tavşankanlı agar besiyerinde rahatlıkla ürerler. İlk izolasyonda üreme süreleri uzundur (3-10 gün). Daha sonra hem çabuk ürerler hem de oksijen toleransı kazanarak aerop koşullarda üremeye alışırlar. İlk izolasyonda taze besiyerleri tercih edilmeli, anaerop ortamda, 35-37 °C 'de inkübe edilmelidir. Bazı türler, kapnofiliktir, % 5-10 CO₂'li ortamda yavaş olarak üreyebilirse de anaerop koşullarda çok iyi ürerler.

Bakterilerin gram boyamadaki tipik morfolojileri, katalaz testinin negatif oluşu, gaz kromatografisinde yüksek oranda laktik asit saptanması ayırdedici özelliklerdir. Ağızda en sık bulunan laktobasil *L. casei*'dir. Genç diş plağında çok sayıdadır ama plak yaşlandıkça sayısı azalır. Laktobasillerin asıl kolonizasyonu mine yüzeyindeki fissürler ve erken çürük lezyonlarının tabanıdır. Bu sebeple tükürük içerisinde serbest olarak bolca bulunmayabilirler, diş fırçalamayı takiben tükürükteki serbest laktobasil sayısında artış olur. Bunlar mine yüzeyinden ayrılan laktobasillerdir.

Laktobasiller, dil ve yanak gibi yumuşak dokuların mekanik etkilerinden korunmuş bölgelerde, özellikle dişlerin arayüzlerinde ve fissür tabanlarında kolonize olurlar. Diş mine yüzeyine tutunmaları, ya kendi sentezledikleri dekstran aracılığıyla ya da sitofilik özellikleri sayesinde doğrudan hücre gövdeleri ile gerçekleşir. Yerleştikleri bölgelerde, diğer mikroorganizmalarla koagregasyon köprüleri oluşturarak farklı bakterilerin de konak yüzeyine adezyonuna katkı sağlarlar. Özellikle *Porphyromonas gingivalis*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Capnocytophaga* gibi Gram pozitif bakterilere karşı yüksek afinite gösterir. *Lactobacillus* türleri, *Streptococcus* cinsi ile birlikte dental çürüklerin oluşumunda temel patojenler arasında yer alır. Bu iki bakteri cinsi, çürük gelişim sürecinde hem mikrobiyal kolonizasyon hem de asit üretimi aşamalarında doğrudan rol oynamaktadır. Özellikle mine yüzeyi, fissür tabanı ve retantif bölgelerde yoğun, sürekli ve asidik bir çevre oluşturarak demineralizasyona neden olurlar.⁴²

Diş Çürüğündeki Rolü

Asidojenik özellik: Diyetle alınan şekerleri laktik asit başta olmak üzere çeşitli organik asitlere dönüştürür. Bu, pH'nın daha da düşmesine ve diş sert dokularının hızla çözünmesine neden olur.⁵

Asidürük özellik: pH 4 ve altındaki ortamda bile yaşamlarını sürdürebilirler.⁴³ Bu adaptasyon yeteneği, özellikle derin dentin çürüklerinde bakterilerin canlı kalmasına olanak sağlar.⁴⁴

Biyofilm içindeki rolü: *Lactobacillus* türleri, tek başlarına diş yüzeyine güçlü bir adezyon gösteremeseler de, *SM* gibi erken kolonizan bakteriler tarafından sentezlenen glukan içerikli ekstrasellüler matrikse dahil olarak biyofilm oluşumuna katkıda bulunurlar. EPS üretimleri sınırlı düzeyde olsa da, mevcut EPS ortamına adapte olarak biyofilm yapısında yer alabilirler. Ayrıca, koagregasyon mekanizmaları aracılığıyla diğer mikroorganizmalarla etkileşime girerek biyofilm içindeki varlıklarını sürdürebilirler.⁴⁵

***S. mutans* ile Sinerjistik İlişki:** *Lactobacillus* spp. ve *S. mutans* arasında simbiyotik bir ilişki vardır: *S. mutans*, glukoziltransferazlar aracılığıyla glukan üretir ve *Lactobacillus*'un biyofilme entegre olmasını sağlar. *S. mutans*'ın oluşturduğu düşük pH ortamı, *Lactobacillus* için uygun bir yaşam alanı sağlar. Bu etkileşim, özellikle çürük progresyonu açısından klinik olarak anlamlıdır.³¹

2.3.3. *Staphylococcus aureus*

Genel Özellikler

Staphylococcus aureus, kanlı agar besiyerinde beta hemoliz oluşturarak karakteristik bir görünüm sergiler. Katalaz pozitifliği, bu bakterinin streptokok türlerinden ayırt edilmesini sağlar. Özellikle mukoid suşlarında gözlenen kapsül yapısı, küçük, yapışkan ve parlak koloniler oluşturur. Bu kapsül, fagositozu engelleyerek bakterinin virülansını artırır. *S. aureus*, konak yüzeyine kolonize olma ve enfeksiyon oluşturma yeteneğini destekleyen çok sayıda ekzoprotein sentezler. Bu faktörler arasında çeşitli enzimler, hemolizinler (alfa, beta, gama ve delta) ve sitotoksinler (nükleaz, proteaz, lipaz, hiyaluronidaz ve kollajenaz) yer alır. Kanlı agarda 24 saatlik inkübasyon sonucunda, *S. aureus* tipik olarak altın sarısı renkte ve beta hemolitik özellikte koloniler

oluşturur. Ayrıca tüm suşları mannitol fermentasyonu yapar, koagülaz ve katalaz testlerinde pozitif sonuç verir. Genellikle deri, burun mukozası ve ağız boşluğunda bulunur.⁴²

Diş Çürüğündeki Rolü

Düşük pH ortamında hayatta kalma: *S. aureus*, aside dayanıklı olmasa da biyofilm ortamında diğer bakterilerle birlikte yaşayarak çürük oluşumuna destek sağlayabilir.²⁴

Proteolitik enzim üretimi: Bu bakteri, diş yüzeyindeki proteinleri parçalayan proteazlar ve lipazlar salgılayarak diş yüzeyinde bozunmaya neden olabilir.¹

Bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde çürük sürecine katkı: Özellikle erken çocukluk çağı çürüğü (EÇÇ) bulunan çocuklarda ya da immün sistemi baskılanmış bireylerde, diş çürüğü lezyonlarından *SA* izole edilebilmektedir.⁷

Diş çürüğü, mikroorganizmaların etkinliği, beslenme alışkanlıkları ve konak savunma mekanizmaları arasındaki karmaşık etkileşimlerle şekillenen dinamik bir süreçtir. Biyofilmin olgunlaşmasıyla birlikte fermente edilebilir karbonhidratların metabolizması sonucu asit üretimi artar; bu durum, demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki fizyolojik dengeyi bozarak diş sert dokularında geri dönüşü olmayan yapısal kayıplara neden olur.²⁴

Diş çürüğünün önlenmesi, biyofilm oluşumunun kontrol altına alınması, fermente edilebilir karbonhidratların alımının azaltılması ve remineralizasyon süreçlerinin desteklenmesi gibi çok yönlü stratejilerle mümkündür.¹ Sonuç olarak, diş çürüğünün etiyolojisinin doğru şekilde anlaşılması, etkili koruyucu ve tedavi edici yaklaşımların geliştirilmesine olanak tanıyarak, toplum düzeyinde ağız ve diş sağlığının iyileştirilmesine önemli katkılar sağlamaktadır.²⁴

2.4. Biyofilm

Biyofilm, polisakkarit içerikli bir matriks tarafından çevrelenmiş, çeşitli mikroorganizma türlerini içeren, yüzeylere tutunabilen ve mikroorganizmalar arasında iletişimin sağlandığı karmaşık yapılı polimikrobiyal bir topluluk olarak tanımlanmaktadır.⁴⁶ Film terimi, yüzeyi kaplayan ince bir tabakayı tanımlarken biyofilm ifadesi, bu tabakanın biyolojik kaynaklı bir materyal olduğunu belirtir. Mikrobiyal biyofilm ise, yüzeylere tutunmuş mikroorganizmaların oluşturduğu biyolojik örtüyü ifade etmektedir.⁵ Başka bir ifadeyle, biyofilm; canlı veya cansız bir yüzeye tutunarak ekstrasellüler polisakkarit matriks içinde gömülü halde bulunan, hareket kabiliyetini kaybetmiş, birbirlerine ve yüzeye geri dönüşümsüz şekilde bağlanmış, protein sentezi ve genetik ifadeleri açısından planktonik formlarından farklı fenotip sergileyen mikroorganizmaların oluşturduğu organize bir mikrobiyal topluluktur.⁴⁷⁻⁴⁹

Biyofilm yapısı, bakterilere çevresel stres faktörlerine karşı direnç kazandırarak, konak savunma mekanizmalarından, antimikrobiyal ajanlardan ve fiziksel temizlik uygulamalarından korunmalarını mümkün kılar. Bu koruyucu özellik, biyofilmleri kronik enfeksiyonlar ve çeşitli mikrobiyal hastalıkların etiyopatogenezinde önemli bir rol oynayan yapı hâline getirmektedir.⁵⁰ Oral kavitede oluşan biyofilm, diş yüzeyleri ve diğer ağız içi dokular üzerinde gelişen, yüksek mikrobiyal çeşitliliğe sahip dinamik bir yapıdır. Dental plak olarak adlandırılan bu biyofilm, özellikle karyojenik bakterilerin kolonizasyonu için elverişli bir mikroortam oluşturarak, başta diş çürüğü olmak üzere çeşitli periodontal hastalıkların gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır.⁴ *S. mutans*, *Lactobacillus* spp. ve *Actinomyces* spp. gibi mikroorganizmalar, oral biyofilmin başlıca bileşenleri arasında yer almakta olup; ürettikleri asitler aracılığıyla asidik bir çevre oluşturarak mine ve dentin dokularında demineralizasyon sürecini başlatmaktadır.⁵¹

Son yıllarda biyofilm yapısına yönelik gerçekleştirilen araştırmalar, bu yapının gözenekli bir matriks özelliği taşıdığını ve su ile besin maddelerinin dağılımını sağlayan kılcal kanallardan oluştuğunu ortaya koymuştur. Bu su kanalları, mikrokolonilerin hem altında hem de arasında yer almakta olup, besin maddelerinin biyofilmin derin tabakalarına ulaşmasını mümkün kılmaktadır. Taşıma işlemi, su akışı veya pasif difüzyon yoluyla gerçekleşmektedir. Ayrıca bu kanalların biyofilm içerisine oksijen taşınmasında da rol oynadığı gösterilmiştir.⁵²

2.4.1. Biyofilmin Yapısı

Bir mikrobiyal topluluğun biyofilm olarak tanımlanabilmesi için bazı temel özellikler taşıması gerekmektedir. Bu özellikler dört başlık altında toplanmaktadır:

- 1- Kendi kendini organize edebilme kapasitesine sahip olması
- 2- Çevresel değişimlere karşı direnç gösterebilmesi
- 3- Topluluk halinde, izole bireylere kıyasla daha yüksek etkinlik sergilemesi
- 4- Ortam koşullarındaki değişimlere, bireysel yanıt yerine kolektif bir yanıt üretebilme yeteneği göstermesi⁵³

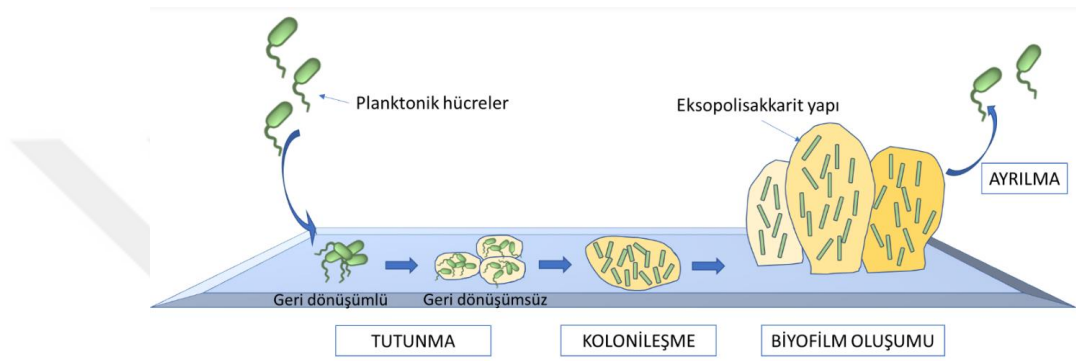
Biyofilm, mikroorganizmaların kendi sentezledikleri jel benzeri polimerik bir matriks içerisinde topluluk halinde organize olarak yaşadıkları, karşılıklı iletişim kurarak hayatta kalma ve işlevsellik için gerekli biyolojik süreçleri birlikte sürdürdükleri karmaşık bir mikrobiyal yapıdır.⁵⁴ Biyofilm içerisindeki bakteriler, bulunduğu yüzeye sabit kalabilmek için çeşitli adezyon mekanizmaları geliştirmiştir. Bakteriyel yüzey proteinleri, konak dokularındaki fibronektin, fibrinojen, vitronektin ve elastin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanarak tutunmayı sağlar. Bu adezin proteinleri, konak-bakteri etkileşiminde kilit rol oynamaktadır.^{48, 55, 56}

2.4.2. Sinyal Molekölüyle İletişim (Quorum Sensing)

Biyofilm oluşumu, bakterilerin rastlantısal biçimde bir yüzeye tutunup birlikte yaşamalarını sürdürdüğü pasif bir süreç değildir. Aksine, bu oluşum, bakterilerin çevreleriyle etkileşim hâlinde oldukları, karmaşık ve düzenlenmiş bir süreçtir. Pek çok mikroorganizma, faaliyetlerini koordine edebilmek amacıyla küçük, difüze olabilen sinyal molekülleri aracılığıyla birbirleriyle iletişim kurar. QS olarak adlandırılan bu mekanizma, biyofilm oluşumunda kritik bir rol oynar. Bu sistem sayesinde bakteriler, salgıladıkları sinyal moleküllerinin yoğunluğunu algılayarak çevrelerinde bulunan diğer mikroorganizmaların sayısını belirleyebilir ve buna göre gen ekspresyonlarını düzenleyerek kollektif davranışlar sergileyebilir.⁵⁷ Başka bir deyişle, QS mekanizması aracılığıyla bakteriler, çevrelerindeki mikrobiyal popülasyon yoğunluğunu algılayabilir. Yüzeye tutunan her bakteri, bulunduğu çevreye sinyal ileten küçük moleküller salgılar. Tutunan bakteri sayısı arttıkça, bu sinyal moleküllerinin lokal konsantrasyonu da artar. Belirli bir eşik değerin aşılmasıyla birlikte, biyofilm oluşumunu destekleyen çeşitli genetik ve fizyolojik süreçler aktive edilir. Bu süreçte bakteriler, hücreler arası iletişimi düşük molekül ağırlıklı haberci bileşikler aracılığıyla gerçekleştirir.⁵⁸ Hücreler arası iletişimi sağlayan bu mekanizma, oto-endükleyici olarak adlandırılan ve bakteriler tarafından kendiliğinden sentezlenen sinyal molekülleri aracılığıyla işler. Bu moleküllere oto-endükleyici denilmesinin nedeni, yalnızca çevredeki diğer hücreleri etkilemekle kalmayıp, aynı zamanda sentezlendikleri hücrenin metabolik süreçlerini de düzenleyici rol üstlenmeleridir.^{59, 60} Sinyal molekülleri, bakteriler tarafından normal şartlarda düşük düzeyde sentezlenmektedir. Ancak ortamda bakteri popülasyonunun artmasıyla birlikte bu moleküllerin yoğunluğu belirli bir eşik seviyeye ulaşır. Bu eşik aşıldığında, hem sinyal moleküllerinin üretimi hem de bu moleküller aracılığıyla düzenlenen virülans faktörlerinin ekspresyonu belirgin şekilde artar.^{61, 62}

2.4.3. Biyofilm Oluşumu ve Gelişim Evreleri

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların yüzeye önce geri dönüşümlü, ardından kalıcı (geri dönüşümsüz) olarak tutunmasıyla başlar. Bu aşamayı, bakteri popülasyonunun artarak mikrokoloniler oluşturduğu kolonileşme süreci izler. EPS matriksin sentezlenmesi ve birikmesiyle birlikte olgun biyofilm yapısı oluşur ve süreç tamamlanır (Şekil 2.4.).⁶³



Şekil 2. 4. Yüzeyde Biyofilm Oluşumu⁶³

Biyofilm oluşum mekanizmalarını anlamak; kontrol altına almak ve engellemek için uygun stratejileri geliştirmek adına büyük önem taşımaktadır.

1) Tutunma: Biyofilm oluşumunun ilk aşaması olan bu evrede, planktonik halde bulunan mikroorganizmalar yüzeye geri dönüşümlü olarak bağlanır. Bu süreçte bakteriler, flagella hareketleri ve yüzeye aralarındaki elektrostatik kuvvetler ile fiziksel etkileşimler (örneğin Brownian hareketi) sayesinde kısa sürede yüzeye yaklaşarak geçici tutunmayı gerçekleştirir.⁶⁴

2) Geri Dönüşümsüz Bağlanma: Bu aşamada, yüzeye tutunmuş bakterilerin hücre zarındaki adezin proteinleri uyarılır ve hücreler arası iletişim mekanizmaları (örneğin QS) aktif hâle gelir. Bu etkileşimlerin sonucunda bakteriler, çevresel stabiliteyi sağlamak amacıyla EPS sentezine başlar ve yüzeye kalıcı olarak bağlanırlar.⁶⁵ Bakteri türüne ve

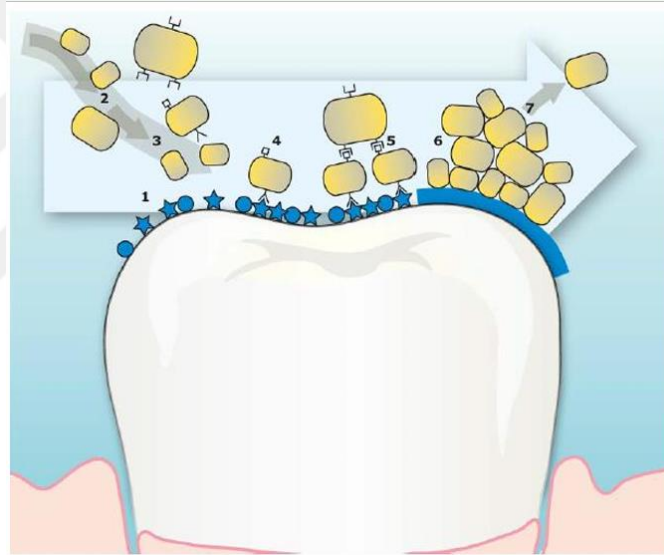
çevresel koşullara bağlı olarak farklılık gösterebilen bu maddeler, biyofilm matrisinin temel bileşenlerini oluşturur ve genellikle ekzopolisakkaritler, ekstraselüler DNA ve proteinlerden meydana gelir. Bu matriks yapısı, mikroorganizmaların hem birbirlerine hem de yüzeye geri dönüşümsüz biçimde tutunmalarını sağlayarak biyofilmin stabilitesini destekler.⁶⁶

3) Kolonizasyon ve Matriks Oluşumu: Yüzeye tutunmuş bakteri hücreleri bölünüp çoğalarak mikrokoloniler oluşturur.⁶⁷ Farklı türlerden mikroorganizmaları içeren biyofilm yapılarında, her tür kendi mikrokolonisini oluşturarak biyofilmin organizasyonel düzenini sağlar. Bu mikrokoloniler arasında yer alan kanallar, su ve besin maddelerinin biyofilm boyunca difüzyonunu mümkün kılar. Aynı zamanda, ortamda bulunan planktonik bakterilerin bu mikrokolonilere tutunması ile kolonizasyon süreci daha da pekiştirilir ve biyofilm gelişimi desteklenir.⁶⁸ Yeni mikrokolonilerin oluşmasıyla birlikte bakteri popülasyonu giderek artar. Bu artış, bakterilerin çevresindeki hücre yoğunluğunu algılamasını sağlayan QS mekanizmasının aktifleşmesine neden olur. Hücreler arası iletişimi sağlayan bu sinyal molekülleri, bakterilerde belirli genlerin ekspresyonunu düzenleyerek olgun biyofilm yapısının gelişimini destekler. Bu evre, biyofilme özgü fenotipik özelliklerin belirginleşmeye başladığı aşama olup, mikroorganizmaların çevresel stres faktörlerine karşı direnç kazandığı yapıların oluşumuna zemin hazırlar.^{60, 69}

4) Kopma: Biyofilmin olgunlaşmasının ardından, yapının üst tabakalarında bulunan bazı bakteri hücrelerinde genetik düzenlemelerle flajel üretimi başlar. Hareket kabiliyeti kazanan bu hücreler, biyofilm yapısından ayrılarak serbest hâle geçer. Kopan planktonik bakteriler, çevredeki yeni yüzeylere tutunarak kolonizasyonu başlatabilir. Bu süreç, biyofilmin yayılımını kolaylaştırmakta ve bazı durumlarda lokal enfeksiyonların sistemik enfeksiyonlara dönüşmesine zemin hazırlamaktadır.^{70, 71}

Oral biyofilm oluşumu organize ve düzenli bir olaylar zinciridir ve aşağıdaki beş temel evrede gerçekleşmektedir:

1. Pelikıl oluşumu
2. Bakterilerin yapışması (0-4 saat)
3. Yapışan bakterilerin gelişimi ve farklı mikrokolonilerin oluşumuna öncülük etmesi (4-24 saat)
4. Mikrobiyal yığılım ve koagregasyonla farklı mikrokoloni türlerinin gelişimine öncülük etmesi (1-14 gün)
5. Olgun biyofilm oluşumu (2 hafta ve sonrası)⁷²



Şekil 2. 5. Pelikıl oluşumu, yapışma ve kolonizasyona şematik bir genel bakış 1. Pelikıl oluşumu, 2. Bakterilerin pasif olarak diş yüzeyine taşınması, 3. Bakterilerin zayıf elektrostatik çekim kuvvetleri tarafından tersine çevrilebilir şekilde tutunması, 4. Bağlanmanın pelikıldaki bakteri ve reseptörler üzerindeki adezinlerin aracılık ettiği geri dönüşümsüz hale gelmesi, 5. İkincil kolonileştiricilerin birincil kolonileştiricilere bağlanması (birlikte yapışma), 6. Bakterilerin büyümesi ve biyofilm olgunlaşması, 7. Ayrılma⁷²

Diş yüzeyinden bakteriler ve tüm organik materyal profesyonel temizlikle uzaklaştırıldıktan hemen sonra, yeni organik birikim süreci başlar. Bu süreçte, kısa sürede

diş yüzeyini kaplayan hücresiz ve amorf bir tabaka olan pelikül oluşur. Pelikül, öncelikle tükürükte bulunan bazı bileşenlerin seçici olarak çökmesiyle meydana gelir.

Pelikülün temel işlevleri arasında mine yüzeyini korumak, dişler arasındaki sürtünmeyi azaltmak ve remineralizasyon için uygun bir matriks ortamı sağlamak yer alır. Yapısal olarak pelikül; tükürük glikoproteinleri, fosfoproteinler ve lipidlerden oluşur. Buna ek olarak, dişeti oluğu sıvısından gelen komponentler, ölü bakterilere ait hücre duvarı kalıntıları ve diğer mikrobiyal ürünler de pelikül içeriğinde yer alabilmektedir.

Pelikül, genellikle prolinden zengin proteinler içeren tükürük bileşenlerinden oluşan organik bir mine örtüsüdür. Bu yapının içindeki proteinler çeşitli fonksiyonel gruplar taşır ve ortamdaki iyonlarla etkileşime girer: bazı proteinler fosfat iyonlarını adsorbe ederken, asidik karakterli diğer proteinler kalsiyum iyonlarına bağlanır.

Pelikülden izole edilen başlıca tükürük proteinleri arasında lizozim, albumin, immünoglobulin A (IgA) ve immünoglobulin G (IgG) yer alır. Bu proteinlerin bir kısmı biyolojik olarak aktiftir ve diş yüzeyine kolonize olmaya eğilimli mikroorganizmalar üzerinde önemli düzenleyici etkilere sahiptir.^{73, 74}

2.4.4 Biyofilm Saptama Yöntemleri

Biyofilm oluşumunu engelleyebilmek, biyofilme bağlı direnç mekanizmalarını anlayabilmek ve etkili tedavi stratejileri geliştirebilmek için, biyofilm oluşumunun doğru yöntemlerle belirlenmesi ve yeni analiz yaklaşımlarının geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde teknolojik ilerlemeler sayesinde, biyofilm tespitinde çeşitli in vitro tekniklerin yanı sıra, deney hayvanlarında biyofilm enfeksiyonu oluşturulmasına dayanan in vivo modellerden de yaygın olarak yararlanılmaktadır.⁷⁵

Biyofilm oluşumunu değerlendirmede yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında kongo kırmızısı agar yöntemi, modifiye tüp aderans yöntemi (modifiye Christensen yöntemi) ve mikropalak tabanlı yöntemler öne çıkmaktadır. Bunun yanı sıra,

biyofilmin kuru ağırlığının belirlenmesi ve metabolik aktiviteye dayalı kantitatif analiz yöntemleri de kullanılmaktadır. Ayrıca, floresan mikroskobu, konfokal lazer taramalı mikroskopi (CLSM) ve elektron mikroskobu gibi ileri görüntüleme teknikleri, biyofilmin yapısal özelliklerini ve canlılık durumunu detaylı olarak değerlendirmeye olanak sağlamaktadır.⁷⁶⁻⁷⁸ Kongo kırmızısı agar yönteminde, biyofilm oluşturma potansiyeli araştırılan bakteriler, belirli oranlarda sükröz, beyin kalp infüzyon buyyonu, kongo kırmızısı ve agar içeren özel bir besiyerine tek koloni yöntemiyle ekilir. Genellikle 37 °C’de 24 saat süreyle inkübe edilen bu yöntem sonucunda, oluşan koloni renklerine göre biyofilm üretimi değerlendirilir. Siyah ya da koyu kırmızı renkte koloni gelişimi gösteren suşlar biyofilm pozitif olarak kabul edilirken, pembe-kırmızı renkte koloni oluşturan suşlar biyofilm üretmeyen (negatif) suşlar olarak yorumlanır.⁷⁸

Standart cam tüp yönteminde, belirli miktarda triptik soy buyyon (TSB) içeren cam tüplere bakteri inokule edilir ve tüpler 37 °C’de 24 ila 48 saat boyunca inkübasyona bırakılır. Inkübasyon süresi sonunda tüp içeriği uzaklaştırılır ve tüplere metilen mavisi çözeltisi eklenir. Boyanın belirli bir süre etki etmesinin ardından tüpler tekrar boşaltılır. Tüpün iç yüzeyinde gözlemlenen boyalı tabaka, ilgili bakterinin biyofilm oluşturma yeteneğini gösteren pozitif bir bulgu olarak değerlendirilir.⁷⁹

Mikroplak tabanlı yöntemler, biyofilm oluşumunun değerlendirilmesinde çeşitli modifikasyonlarla sıkça kullanılan analiz teknikleri arasında yer almaktadır. Özellikle spektrofotometrik mikroplak yöntemi, diğer yöntemlere kıyasla daha hassas, spesifik ve kantitatif sonuçlar sağlayabilmesi nedeniyle öne çıkmaktadır.^{76, 77}

Spektrofotometrik mikroplak yönteminde genellikle 96 kuyucuklu mikroplaklar tercih edilmektedir. Her kuyucuğa, belirli hacimde glukoz (%1–3) içeren uygun bir besiyeri (örneğin beyin-kalp infüzyon buyyonu veya triptik soy buyyon) ile birlikte bakteri süspansiyonu inokule edilir ve mikroplak uygun koşullarda inkübasyona bırakılır.

İnkübasyon süresi sonunda mikropalaklar ters çevrilerek içeriği uzaklaştırılır. Ardından, kuyucuklar yavaşça PBS veya benzeri bir yıkama solüsyonuyla yıkanır. Daha sonra her kuyucuğa sabit miktarda boyama maddesi (örn. kristal viyole) eklenir. Boyama işleminden önce, biyofilm yapısının sabitlenmesi amacıyla metanol veya sodyum asetat gibi ajanlarla fiksasyon uygulanabilir.⁷⁶

Boyama aşamasında genellikle kristal viyole tercih edilmekle birlikte, alternatif olarak safranin veya trypan blue gibi boyalar da kullanılabilir. Kristal viyole eklendikten sonra, boyanın biyofilme penetre olabilmesi için belirli bir süre beklenir; ardından kuyucuklardaki içerik boşaltılır ve tekrar yıkama işlemi uygulanır. Bu aşamada, kristal viyole biyofilm içerisindeki bakteriyel hücreleri boyarken, biyofilm yapısına entegre olmamış serbest hücreler ve artık maddeler yıkama ile uzaklaştırılır. Biyofilm yapısına zarar vermemek ve doğru sonuçlar elde edebilmek amacıyla yıkama adımları dikkatli ve nazik bir şekilde gerçekleştirilmelidir.

Yıkama işleminin ardından, mikropalaklar oda sıcaklığında en az 30 dakika kurutulur. Kuruma sonrası biyofilmin çözülmesini sağlamak amacıyla etanol, asetik asit veya aseton gibi çözücüler kullanılır. Son olarak, her bir kuyucuktaki optik dansite (OD) değeri, spektrofotometrik mikropalak okuyucu cihaz ile uygun dalga boyunda (genellikle 570–600 nm arası) ölçülür. Elde edilen değerler, negatif kontrol kuyucuklarının ortalama OD değeri ile karşılaştırılarak biyofilm oluşumu ve şiddeti değerlendirilir.^{76, 77}

2.5. Biyofilm Giderimi İçin Kullanılan Yaklaşımlar

Biyofilmlerle mücadelede, biyofilm oluşturan hücrelerin inhibisyonu, bakterilerin yüzeylere tutunmasının engellenmesi, biyofilm gelişimi ve olgunlaşmasının durdurulması ile biyofilm yapısının dağılmasının teşvik edilmesi gibi çeşitli stratejiler önerilmektedir.⁸⁰ Diş yüzeylerinden patojen mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve dental plağın inhibe edilerek mevcut birikimin ortadan kaldırılması, oral hastalıkların

önlenmesi ve tedavisinde önemli bir potansiyel sunmaktadır. Bu amaçla günlük ağız bakım rutinine dahil edilen diş fırçalama, diş ipi kullanımı ve gargara uygulamaları en sık başvuru mekanik yöntemlerdir. Söz konusu ürünlerde, florür, klorheksidin, triklosan, kalsiyum fosfat, setilpiridinyum klorür ve gümüş partikülleri gibi çeşitli antimikrobiyal kimyasal ajanlar kullanılmaktadır. Kimyasal içerikli antimikrobiyal ajanların etkililiği, uygulama süresi ve konsantrasyonlarına doğrudan bağlıdır. Ancak bu ajanların yüksek dozda veya uzun süreli kullanımı çeşitli yan etkilere yol açabilmektedir. Özellikle oral mikrobiyotayı olumsuz yönde etkileyerek mikrobiyal dengenin bozulmasına (disbiyozis) neden olabilir. Ayrıca, kusma, ishal, mukozal deskuamasyon ve diş yüzeylerinde lekelenme gibi istenmeyen klinik sonuçlar da gözlemlenebilmektedir.^{81, 82} Bununla birlikte, bu kimyasal ajanlar sinir sistemi üzerinde toksik etkiler başta olmak üzere çeşitli sitotoksiteler oluşturabilir. Ayrıca, *S. mutans* gibi karyojenik bakterilerde direnç gelişimine yol açabilmekte ve biyofilm yapısına sınırlı penetrasyon yetenekleri nedeniyle etkinlikleri önemli ölçüde azalabilmektedir.⁸³ Bu nedenle, diş çürüklerini önleyici tedbirler olarak alternatif doğal antimikrobiyal içeriklerin kullanılması ağız ve diş sağlığı için umut vaat etmektedir.

2.6. Diş Çürüklerinin Önlenmesine Yönelik Kullanılan Doğal Antimikrobiyal Bileşiklerdeki Son Gelişmeler

Son yıllarda, kimyasal antibakteriyel ajanlara alternatif olarak doğal kaynaklı bileşiklere olan ilgi artmıştır. Bu kapsamda; bitkisel ekstraktlar, esansiyel yağlar, hücre-hücre iletişimini engelleyen sinyal inhibitörleri, enzim bazlı yaklaşımlar ve oral probiyotik mikroorganizmalar gibi doğal içerikler ön plana çıkmaktadır. Diş plağının giderilmesine yönelik çalışmalarda propolis, siyah çay, kakao çekirdeği kabuğu, yaban mersini, kurkumin ve kıızılcık gibi doğal ürünlerin de potansiyel antiplak etkiler sunduğu bildirilmektedir.⁸⁴ Yapılan klinik çalışmalar, katekol, emetin, kinin ve flavon gibi çeşitli

doğal bileşiklerin diş çürüklerinin önlenmesi ve tedavisinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur.⁸⁵ Karanfil tomurcuklarından elde edilen uçucu yağların ana bileşenlerinden biri olan eugenol, *S. mutans*'ın Ag I/II adezin ekspresyonunu baskılayarak diş yüzeyine tutunmasını engellemiş ve biyofilm oluşumunu inhibe etmiştir.⁸⁶ *Camellia japonica* ve *Thuja orientalis* metanol ekstraktlarının ise oral patojenlere karşı potansiyel anti-QS yeteneklerine sahip olduğu belirlenmiştir.⁸⁷ Polifenol açısından zengin kıvılcık özlerinin, biyofilm yapılarının asidojenik potansiyelini ve metabolik aktivitesini belirgin düzeyde azalttığı bildirilmiştir.⁸⁸ Etkili ve maliyet açısından uygun tedavi alternatifleri sunma potansiyeline sahip bitkisel kaynaklı fitokimyasallara yönelik araştırmalar giderek artmaktadır ancak bu bileşiklerin içeriklerinin dönemsel ve coğrafi farklılıklar gösterebilmesi, bazı bitki ürünlerinin insan hücreleri üzerinde toksik etkilere sahip olması gibi faktörler; güvenli kullanım için sitotoksikite analizlerinin yapılması ve doz aralıklarının titizlikle belirlenmesi gerektiğine işaret etmektedir.

2.7. Prebiyotik ve Probiyotikler

Mikrobiyota ile konak sağlığı arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, prebiyotik ve probiyotik gibi fonksiyonel bileşenlerin taşıdığı biyolojik önem giderek daha fazla ön plana çıkmıştır.⁸⁹ WHO ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), probiyotikleri yeterli miktarda alındığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlamaktadır.⁹⁰ Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların çoğu bakteri türleri olmakla birlikte, çeşitli maya türleri de probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotikler başta *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus thermophilus* ve *Saccharomyces boulardii* gibi mikroorganizmaları içermektedir.⁹¹ Bu mikroorganizmalar, gastrointestinal sistemde patojenlerle rekabet ederek kolonizasyonu engeller, immün yanıtları düzenler ve metabolik yan ürünler (örneğin kısa zincirli yağ asitleri) üreterek konak sağlığına katkıda bulunur.⁹²

Probiyotik olarak kullanımı amaçlanan mikroorganizmalar; insan kaynaklı olma ve patojenik olmama, toksik özellikler sergilememe ve kolay kültüre edilebilme gibi temel gereksinimlerini karşılamalıdır. Probiyotiklerin konak üzerindeki etkileri ise hedefe yönelik olarak değişkenlik sergilemektedir. Örneğin, bağırsak sağlığını iyileştirmek amacıyla kullanımı hedeflenen probiyotik suşlar taranırken; asit direnci, konak epitel hücrelerine yapışma ve patojenik mikroorganizmaların in vitro antagonizmi arzu edilen temel özellikler arasında ilk sıralarda yer almalıdır.⁹³

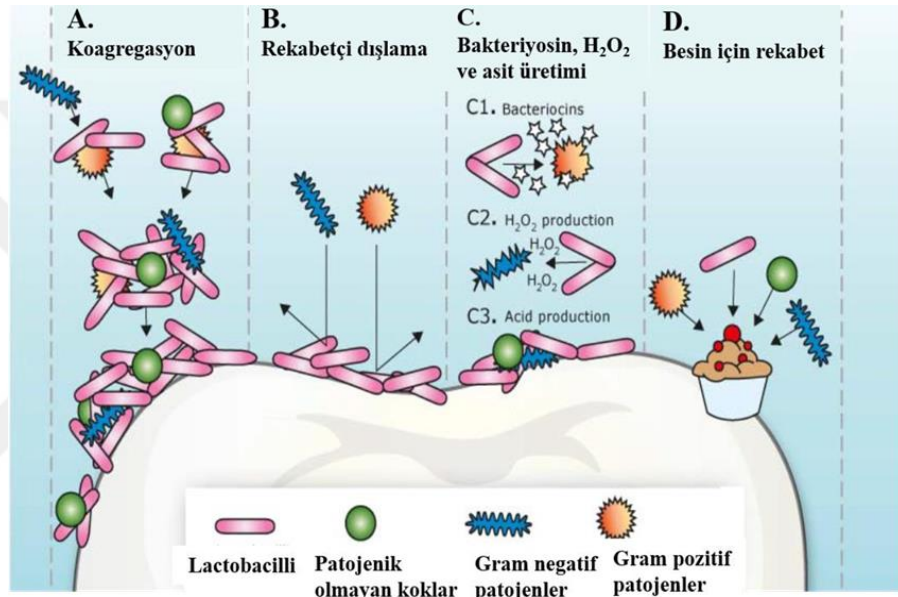
Diş çürüğünü sınırlamak veya önlemek için probiyotiklerin diş yüzeylerine yapışarak diş biyofilmini oluşturan bakterilere entegre olması, karyojenik bakterilerle rekabet ederek çoğalmalarını engellemesi ve onları antagonize etmesi gerekir. Ayrıca, gıda kaynaklı şekerlerin metabolizması sırasında minimum düzeyde asit üretmelidir.⁹⁴

Probiyotiklerin sağlık üzerinde birçok yararlı etkileri bulunmaktadır.⁹⁵ Özellikle konağı patojenlerden korumada yerleşik mikrobiyotanın öneminin anlaşılması, probiyotik tedavisine olan ilginin artmasına neden olmuştur. Son 15 yılda; ağız mikrobiyotası, biyofilm ilişkili hastalıkların başında gelen diş çürükleri⁹⁶ periodontal hastalıklar ve ağız kokusu⁹⁷ üzerinde probiyotiklerin etkinliğine olan ilgi hızla artmaktadır. Probiyotik ürünlerin çoğu ağızdan tüketildiği için, tüketilen probiyotik bakterilerin ağız yüzeylerine de yapışması mümkün olmaktadır.⁹⁸ Bununla birlikte, ağız doğal mikrobiyotasında bulunan bakteriler de karyojenik türlerin büyümesini engelleyerek ve ağız ortamının pH'sını değiştirerek de probiyotik etkiler sergileyebilmektedir.⁹⁹ Probiyotik bakterilerin hem sistemik hem de lokal mekanizmalar yoluyla olumlu etkilere aracılık ettiği düşünülmektedir. Bu mekanizmalar,

- i) diğer bakterilerle etkileşim; patojenleri dışlama veya inhibe etme yeteneği,
- ii) hem lokal hem de sistemik etkilerle sonuçlanan konakçı bağışıklık tepkilerini modüle etme

iii) epitel bariyerinin işlevini etkileme/geliştirme olarak özetlenmektedir.¹⁰⁰

Lokal etki, probiyotik suşların biyofilmdeki diğer bakterilerle etkileşime girdiklerinde ve hidrojen peroksit, bakteriyosinler ve organik asitler üreterek patojenlerin büyümesini engellediklerinde sergiledikleri etki olarak tanımlanmaktadır. Organik asitler, aside toleranslı bakterilerin büyümesini destekleyen pH'yı düşürürken, bakteriyosinlerin üretimi diğer patojenik türlerin büyümesini engelleyebilmektedir(Şekil 2.6.).¹⁰¹



Şekil 2. 6. Probiyotik Laktobasillerin mikroorganizmalar üzerinde önerilen lokal etki mekanizmaları¹⁰¹

Sistemik etkilerin ise immünolojik yollar aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Her probiyotik suş, belirli bakteri ile etkileşime giren lenfositler veya dendritik hücreler tarafından salgılanan benzersiz bir sitokin profili ile ilişkilidir.¹⁰² Mukozada artan IgA üretimi sonucunda uyarılmış makrofaj aktivitesi ve fagositoz gibi immünolojik etkiler gözlemlenmektedir. Bu durum mukozada bakteriyel translokasyonu önleyebilmek adına önemli bir direnç nedeni olmaktadır. Ancak farklı suşlar farklı etkiler

gösterdiğinden, bir probiyotik bakterinin etkilerinin genelleştirilmemesi gerektiğine dikkat etmek gerekmektedir.¹⁰²

Ağız ve diş sağlığı açısından en çok kullanılan probiyotikler arasında *Lactobacillus rhamnosus* (*L. Rhamnosus*), *Lactobacillus casei* (*L. casei*), *Lactobacillus reuteri* (*L. reuteri*), *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), *Lactobacillus brevis* (*L. brevis*) ve *Bifidobacterium lactis* (*B. Lactis*) gelmektedir. Bunların karyojenik patojen sayısını azaltma, biyofilm oluşumunu engellme veya plak pH'sını kontrol etme kapasiteleri kanıtlanmıştır.¹⁰³ Son yıllarda, *L. rhamnosus*, *L. reuteri* ve *B. lactis* tablet, pastil ve sakız gibi diş bakım ürünlerine dahil edilmiş ve klinik deneylerde incelenmiştir.¹⁰⁴ Çürük önleyici etki mekanizmalarının başında temel ihtiyaçlar arasında yer alan besin için rekabet gelmektedir.¹⁰⁵ Bununla birlikte bakteriyosin, organik asit ve hidrojen peroksit gibi antibakteriyel faktörlerin üretimi, karyojenik patojenlerin gelişimini engellemektedir.¹⁰⁶ Nisin, pediosin ve reuterin gibi bakteriyosinler, çeşitli probiyotik suşlar tarafından üretilen ve oral patojenlere karşı etkili olduğu bilinen biyoaktif bileşikler olarak rapor edilmektedir.¹⁰⁷

Prebiyotikler ise, insan sindirim enzimlerine dirençli olup kolondaki yararlı bakterilerin büyümesini ve aktivitesini selektif olarak artıran bileşiklerdir.¹⁰⁸ Fruktooligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS), inülin ve laktuloz en iyi bilinen prebiyotik örnekleri arasında yer alır.¹⁰⁹ Prebiyotikler, özellikle *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin büyümesini destekleyerek bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunu olumlu yönde değiştirir.¹¹⁰ Bu değişim, konak bağışıklığının güçlenmesi, inflamasyonun azalması ve bağırsak bariyer fonksiyonunun iyileşmesi gibi çeşitli sağlık faydalarına aracılık eder.¹¹¹ Probiyotik ve prebiyotiklerin birlikte kullanımı sinbiyotik olarak adlandırılmakta olup, bu kombinasyonlar mikrobiyotayı daha etkin bir şekilde modüle edebilir.¹¹²

Son yıllarda prebiyotik ve probiyotiklerin yalnızca gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri değil, aynı zamanda oral mikrobiyota üzerindeki düzenleyici rolleri de dikkat çekmektedir.¹¹³ Probiyotik mikroorganizmaların *S.mutans*, *Lactobacillus* spp. ve diğer karyojenik bakterilerle rekabete girerek biyofilm oluşumunu azalttığı, pH'yı dengeleyerek asidik ortamın oluşumunu engellediği ve antimikrobiyal metabolitler ürettiği gösterilmiştir.¹¹⁴ Benzer şekilde, prebiyotik substratların oral faydalı bakterileri destekleyerek karyojenik mikrobiyotanın baskılanmasına katkı sağladığı, ağız içi ekodengenin korunmasında rol oynadığı bildirilmektedir.¹¹⁵ Bu mikrobiyal destekleyici ajanların özellikle süt dişlerinde görülen çürüklerin önlenmesi açısından potansiyel taşıdığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, canlı mikroorganizmaların kullanımıyla ilgili taşıma, stabilite ve güvenlik endişeleri, araştırmaları probiyotiklerin inaktif formda veya metabolik ürünleriyle etki gösteren alternatiflerine yönlendirmiştir. Bu noktada, hem probiyotik kökenli olup hem de canlı hücre içermeyen postbiyotikler, dental biyofilm kontrolü açısından giderek artan bir ilgi odağı haline gelmektedir.¹⁰



Şekil 2. 7. Prebiyotikler, Probiyotikler, Sinbiyotikler ve Postbiyotikler¹¹⁶

2.8. Postbiyotikler

Son yıllarda diş çürüğünün önlenmesine yönelik yaklaşımlarda, oral mikrobiyotanın dengelenmesine odaklanan biyolojik stratejiler ön plana çıkmıştır. Bu bağlamda probiyotikler; patojenlerle rekabet ederek, biyofilm oluşumunu engelleyerek

ve konakçı immün yanıtını modüle ederek antikaryojenik etki gösterebilmektedir.⁹ Ancak probiyotiklerin canlı bakteri içermesi, ürün stabilitesi, depolama koşulları ve bağışıklık sistemi zayıf bireylerde kullanım riskleri gibi bazı sınırlılıklar taşımaktadır. Bu sınırlamaların aşılması amacıyla geliştirilen postbiyotikler, canlı bakteri içermeyen fakat biyolojik olarak aktif mikrobiyal bileşenlerdir ve güvenli, stabil yapılarıyla dikkat çekmektedir.¹⁰

Postbiyotikler, canlı mikroorganizmalar içermeyen, ancak probiyotiklerin metabolik ürünlerini, hücre yapısal bileşenlerini veya salgıladığı maddeleri içeren biyoaktif bileşikler olarak tanımlanır. Uluslararası Bilimsel Probiyotik ve Prebiyotik Derneği (ISAPP) tarafından 2021 yılında postbiyotikler; konakçıya sağlık faydası sağlayan, inaktive edilmiş mikroorganizmalar ve/veya onların bileşenleri olarak tanımlanmıştır.¹¹⁷ Probiyotik olarak kabul edilen suşlar tarafından üretilen postbiyotiklerin tüketiciler üzerinde sıklıkla benzer veya tamamlayıcı etkiler sergiledikleri rapor edilmektedir.¹⁰

Postbiyotikler, üretildikleri mikroorganizma türüne, üretim sürecine ve kullanılan fermentasyon ortamına bağlı olarak farklı bileşenlerden oluşabilir. Bu bileşenler arasında kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar), enzimler, peptitler, polisakkaritler, bakteriyosinler, hücre duvarı bileşenleri (teikoik asit, lipoteikoik asit, peptidoglikan) ve mikrobiyal DNA/RNA bulunabilir. Bu çok bileşenli yapı, postbiyotiklerin biyolojik etkilerini geniş bir yelpazeye yaymaktadır.

2.8.1. Postbiyotiklerin Sınıflandırılması: ¹⁰

Metabolit Temelli Postbiyotikler: Probiyotik, mikroorganizmaların metabolizması sonucu oluşan bileşenleri kapsamaktadır. Bunlar arasında: Organik asitler (Laktik asit, asetat, bütirat gibi SCFA'lar), bakteriyosinler(mikroorganizmalar üzerinde

antimikrobiyal etki gösteren peptit yapılı maddeler), fenolik bileşikler ve indol türevleri gibi diğer sekonder metabolitler yer almaktadır.

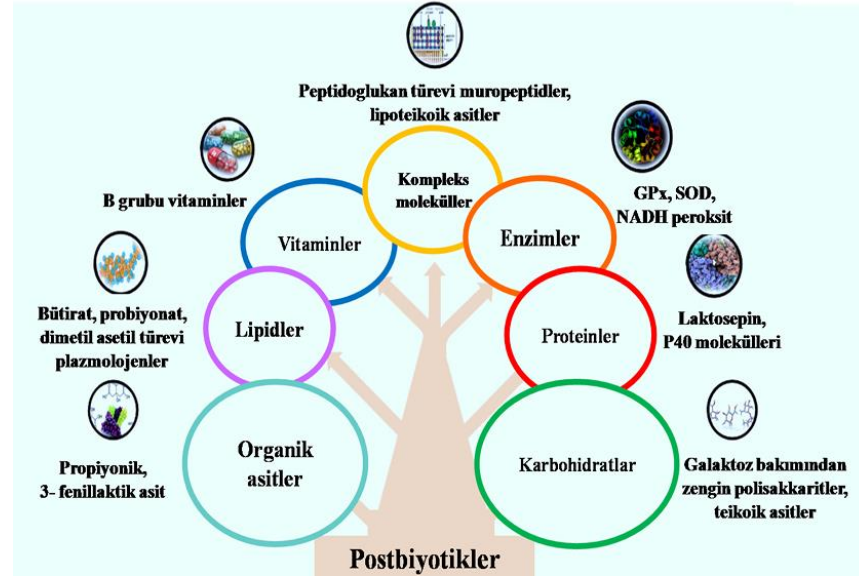
Hücresel Yapı Temelli Postbiyotikler: Mikroorganizmaların yapısal bileşenlerinden oluşur: Hücre duvarı fragmanları (peptidoglikan, teikoik asit), lipoteikoik asitler, hücre yüzey proteinleri ve polisakkaritler (örneğin yüzey tabakası proteinleri - S-layer)

Sekresyon Ürünleri: Mikroorganizmalar tarafından ortam içine salınan enzimler, proteinler ve polisakkaritlerdir. Ekstraselüler enzimler (Laktaz, proteaz gibi sindirimde rol alabilecek enzimler), Ekstraselüler polisakkaritler (Biyofilm oluşumunu etkileyen ve bağışıklık sistemini modüle eden yapılar).

İnaktive Edilmiş Bütün Hücreler: Isıl işlem, ultraviyole, yüksek basınç veya kimyasal yöntemlerle canlılığını kaybetmiş ancak yapısını koruyan mikroorganizmalardır. Bu tür postbiyotikler immün sistem uyarımı açısından etkilidir.

Genetik Materyal ve Hücre İçi Bileşenler: Mikrobiyal DNA, RNA ve sitoplazmik içeriklerin bazı immunolojik etkileri olduğu gösterilmiştir.

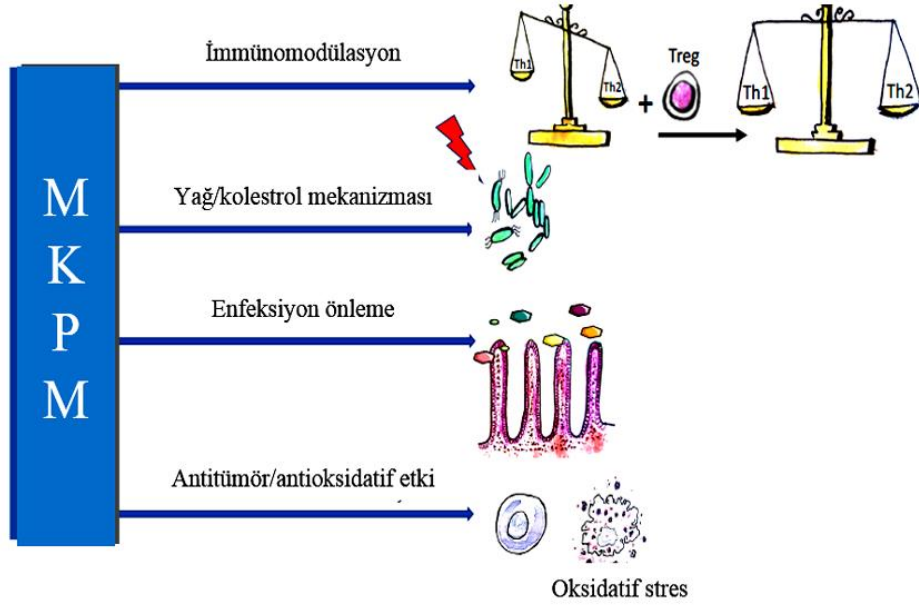
Bu sınıflandırma, postbiyotiklerin sadece fermantasyon ürünleri olmadığını; aynı zamanda probiyotik hücre yapısının da biyolojik aktivite taşıyabileceğini ortaya koymaktadır.¹¹⁸



Şekil 2. 8. Postbiyotik mediatörlerin ana gruplarının gösterimi¹¹⁹

2.8.2. Postbiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Postbiyotikler, canlı mikroorganizma içermemelerine rağmen, çok çeşitli biyolojik etkiler gösterebilir. Bu etkiler, hem doğrudan (örneğin antimikrobiyal aktivite) hem de dolaylı (bağışıklık modülasyonu gibi) yollardan ortaya çıkabilir. Postbiyotiklerin etki mekanizmaları, içeriklerindeki metabolitler, hücre duvarı bileşenleri, enzimler ve sekresyon ürünlerine bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir.



Şekil 2. 9. Postbiyotik mediatörlerin konakçı üzerindeki etki mekanizmaları (MKPM; Mikrobiyota kaynaklı postbiyotik mediatör)¹²⁰

Genel olarak aşağıdaki mekanizmalar üzerinden etkili oldukları bildirilmektedir:

Antimikrobiyal Etki

Postbiyotik bileşenler, özellikle *S. mutans* ve *Lactobacillus* spp. gibi karyojenik mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyebilecek potansiyele sahiptir. Bakteriyosinler, organik asitler (özellikle laktik asit ve asetat) ve düşük moleküler ağırlıklı peptitler, patojen bakterilerin hücre duvarını bozarak veya sitoplazmik pH'ı düşürerek antimikrobiyal etki gösterir.¹⁰

Biyofilm Oluşumunu Engelleme

Streptococcus mutans gibi bakterilerin dental yüzeylerde biyofilm oluşturma kapasitesi, çürük gelişiminde temel bir mekanizmadır. Bazı postbiyotik fraksiyonlar, bakterilerin yüzey adezyonunu ve biyofilm matris oluşumunu engelleyerek çürük riskini azaltabilir. Bu etkinin quorum sensing sinyallerinin baskılanması veya hücre yüzey etkileşimlerinin modülasyonu yoluyla gerçekleştiği bildirilmektedir.¹²¹

Bağıışıklık Yanıtının Modülasyonu

Postbiyotiklerde bulunan lipoteikoik asit, peptidoglikan ve hücre duvarı fragmentleri gibi bileşenler, ağız mukozasındaki immün hücrelerle etkileşime geçerek lokal immün yanıtı düzenleyebilir. Bu durum, periodontal dokularda inflamasyon kontrolü ve oral mukozal savunmanın güçlenmesine katkıda bulunabilir.¹²²

Oral Mikrobiyota Dengesinin Korunması

Postbiyotikler, faydalı mikroorganizmaların korunmasını desteklerken patojen türlerin aşırı çoğalmasını baskılayabilir. Bu özellik, ağız ekosistemindeki mikrobiyal dengenin sürdürülmesinde önemli rol oynar ve çürük gelişimini önleyici bir faktör olarak değerlendirilmektedir.¹¹⁸

Anti-inflamatuvar ve Antioksidan Etki

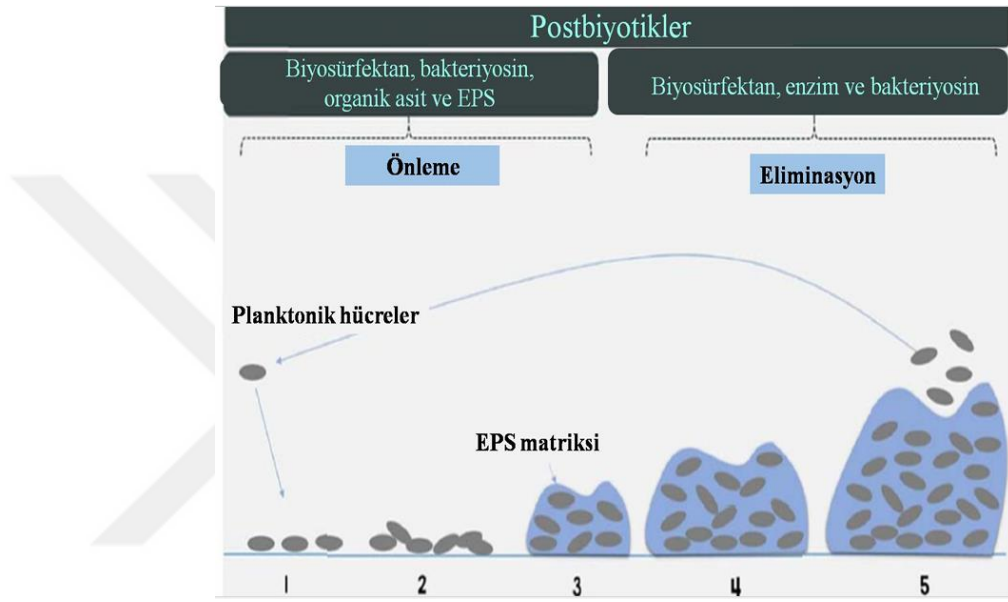
Bazı postbiyotik bileşenlerin, reaktif oksijen türlerini (ROS) azaltarak oksidatif stresin neden olduğu periodontal hasarı hafifletebileceği gösterilmiştir. Ayrıca, inflamatuvar sitokinlerin (örneğin IL-6, TNF- α) ekspresyonunu azaltarak inflamasyonun kontrol altında tutulmasına katkı sağlar.¹⁰

Bağırsak Bariyer Fonksiyonlarının Güçlendirilmesi

Postbiyotik bileşenler, epitel hücreler arasındaki sıkı bağlantıları (tight junction) koruyarak veya iyileştirerek bağırsak bariyer bütünlüğünü destekler. Bu etki sayesinde patojenlerin geçişi engellenir ve sistemik inflamasyon riski azalır. Ayrıca kısa zincirli yağ asitlerinin (özellikle bütirat) epitel yenilenmesini teşvik ettiği bilinmektedir.¹²³

Bakteriyosinler, organik asitler, biyosüpfaktanlar gibi biyo-aktif bileşenleri içeren PM'ler, biyofilmler üzerinde de potansiyel etkiler sergilemektedir.¹²⁴ Bu bileşenlerin her biri, özel işlevleri nedeniyle biyofilm oluşumunda belirli bir aşamayı etkileyebilmektedir (Şekil 2.10). Biyofilm oluşum sürecinde herbir aşamada meydana gelen etki diğer aşamaları direk olarak etkilemektedir. Biyofilmlerle başa çıkmak için biyofilm

oluşumunun önlenmesi ve gelişen biyofilmin ortadan kaldırılması (eliminasyon) başta olmak üzere iki temel strateji bulunmaktadır. Postbiyotik mediatör(PM) olarak tanımlanan bakteriyosinler, organik asitler, biyosüpfaktanlar gibi bileşenler ise kendilerine has özellikleri ile belirli aşamaları etkilemekte ve hem biyofilm oluşumunun önlenmesi hem de gelişen biyofilmin ortadan kaldırılmasına yönelik potansiyel etkiler sergilemektedirler.¹²⁴



Şekil 2. 10. Biyofilm oluşum aşamaları (1: birincil yapışma, 2: sıkı yapışma, 3: ilk gelişme, 4: olgunlaşma ve 5: dağılma) ve bireysel postbiyotik mediatörün biyofilm oluşumu üzerindeki önleme ve eliminasyon potansiyeli¹²⁴

Postbiyotik mediatörlerin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkileri belirli bir bileşenle (bakteriyosin veya organik asitler gibi) sınırlı değildir. Birçok PM, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteden sorumlu olabilmekte, hatta sinerjistik olarak hareket edebilmektedir. Dolayısıyla PM olarak tanımlanan biyo-aktif bileşenlerin sinerjistik etkileri nedeniyle kokteyl olarak kullanılmaları tavsiye edilmektedir.¹²⁰ Bazı mekanizmaların ve klinik faydaların doğrudan canlı mikroorganizmalar ile ilişkili olmadığı dikkate alındığında; doğru dozlarda uygulandığında konak üzerindeki olumlu etkileri, güvenlik açısından probiyotiklere olan üstünlükleri (antibiyotik direnci, toksin

üretimi, sepsis, canlılık gibi sorunları içermemeleri), farklı biyo-aktif bileşen içerikleriyle sinerjistik ve multi-fonksiyonel özellikleri, kolay ve ekonomik olarak elde edilebilmeleri PM'leri patojenlerle ve biyofilmle mücadele başta olmak üzere çeşitli terapötik stratejiler için potansiyel bir aday yapmaktadır.¹²⁵

2.8.3. Süt Dişlerinde Postbiyotiklerin Kullanım Potansiyeli

Süt dişleri, yapısal özellikleri gereği kalıcı dişlere kıyasla daha ince mine ve dentin tabakasına sahiptir. Bu durum, karyojenik bakterilerin penetrasyonunu kolaylaştırmakta ve çürük oluşumunu hızlandırmaktadır.¹²⁶ Bu nedenle erken çocukluk döneminde çürük önleme stratejileri büyük önem taşır. Son yıllarda geleneksel antimikrobiyal ajanlara alternatif olarak postbiyotiklerin, süt dişlerinde çürük kontrolü ve ağız sağlığının korunmasında potansiyel faydalar sunduğu bildirilmektedir.

Karyojenik Bakterilere Karşı Etki

Özellikle *S. mutans*, *Lactobacillus* spp. ve *Scardovia wiggsiae* gibi EÇÇ de rol oynayan mikroorganizmaların baskılanmasında postbiyotiklerin etkili olabileceği gösterilmiştir. İn vitro çalışmalarda, ısı ile inaktive edilmiş probiyotik suşlardan elde edilen postbiyotik süpernatantların *S. mutans* üzerinde antibakteriyel ve anti-biyofilm etkiler oluşturduğu bildirilmiştir. Bu etkiler, organik asitler, bakteriyosinler ve yüzey aktif peptitler aracılığıyla gerçekleşmektedir.¹⁰

Biyofilm Yapısının Bozulması

Streptococcus mutans'ın biyofilm formasyonu, çürük oluşum sürecinde merkezi bir rol oynar. Postbiyotiklerin biyofilmi inhibe etme kapasitesi, süt dişleri üzerindeki plak birikiminin azaltılmasında etkili olabilir. Bazı postbiyotik fraksiyonların, *Gtf* enzim aktivitesini inhibe ederek ekstrasellüler polisakkarit üretimini azalttığı ve böylece biyofilm matrisini zayıflattığı gösterilmiştir.¹²¹

Güvenli ve Uygun Alternatif Olması

Süt dişlerine yönelik uygulamalarda, sistemik etkisi olmayan ve güvenli içeriklere sahip ajanlar tercih edilmektedir. Canlı probiyotiklerin bağışıklık sistemi üzerinde oluşturabileceği olası yan etkiler, postbiyotiklerin tercih edilmesinde belirleyici olmaktadır. Postbiyotiklerin raf ömrünün uzun olması, ısıya karşı dayanıklı olmaları ve formülasyonlara (örneğin gargara, diş macunu, vernik) kolayca entegre edilebilmeleri, pedodontik kullanımları açısından önemli avantajlar sunar.¹¹⁷

Ağız Mikrobiyotasını Destekleme

Çocuklarda oral mikrobiyotanın erken dönemde dengeli gelişimi, ileriki yaşlardaki diş sağlığı açısından önemlidir. Postbiyotikler, sadece patojenleri baskılamakla kalmayıp; ağız florasında dengeleyici etki göstererek uzun vadeli koruma sağlayabilir.

Bu yönüyle, çürükten korunma stratejilerinde destekleyici bir ajan olarak değerlendirilebilir.¹¹⁸

Tablo 2. 1. Postbiyotiklerin etki mekanizması

<i>Etki Mekanizması</i>	<i>Açıklama</i>
<i>Antibakteriyel Aktivite</i>	<i>S. mutans</i> ve diğer karyojenik bakterilerin çoğalmasını inhibe eder. ¹²⁷
<i>Biyofilm İnhibisyonu</i>	Glukoziltransferaz enziminin baskılanmasıyla biyofilm oluşumu azaltılır. ¹²¹
<i>Güvenlik Avantajı</i>	Canlı mikroorganizma içermediği için immünsüpre çocuklarda dahi güvenle kullanılabilir. ¹¹⁷
<i>Formülasyon Esnekliği</i>	Diş macunu, gargara, vernik gibi uygulamalara kolayca entegre edilebilir. ¹⁰
<i>Ağız Mikrobiyotasının Desteği</i>	Patojen baskılaması ile oral mikrobiyota dengesini destekler. ¹¹⁸
<i>İmmün Modülasyon ve Anti-inflamatuvar Etki</i>	Oral mukozada lokal bağışıklık yanıtını destekleyebilir. ¹²⁸

(Literatür bulgularının derlenmesiyle oluşturulmuştur.)

Tüm bu bilgiler ışığında, postbiyotiklerin antimikrobiyal, anti-biyofilm ve immünomodülatör özellikleriyle ağız sağlığı alanında potansiyel bir koruyucu ajan olarak değerlendirilebileceği anlaşılmaktadır.^{10, 117}

Süt dişleri, yapısal özellikleri nedeniyle çürüğe karşı daha savunmasız olduğundan, bu dönemde uygulanabilecek yenilikçi ve güvenli mikrobiyal kontrol yöntemleri ayrı bir önem taşımaktadır.¹²⁶ Bu bağlamda, canlı mikroorganizma içermemesi nedeniyle çocuk hastalarda daha güvenli bir alternatif sunan postbiyotiklerin, özellikle karyojenik biyofilm oluşumunu engelleme kapasitesi, erken çocukluk çağı çürüklerinin önlenmesine katkı sağlayabilecek niteliktedir.¹²¹ Bu tez çalışması, süt dişlerinde çürüğe neden olan karyojenik biyofilmlere karşı postbiyotiklerin etkililiğini araştırarak, mevcut literatüre bilimsel katkı sunmayı ve ağız sağlığını korumaya yönelik yeni biyolojik yaklaşımların değerlendirilmesini amaçlamaktadır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği

Araştırma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ), Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 11.01.2024 tarihinde 2024/15 karar numarası ile onaylandı (Ek-2). Yapılan çalışma RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun (Proje No: TSA-2024-1658) desteğiyle tamamlandı (Ek-3).

3.1.2. Araştırmanın Türü, Yeri ve Zamanı

Araştırma, etik kurul onayını takiben Şubat 2024- Mayıs 2025 tarihleri arasında RTEÜ Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı'nda süt molar çekim gerekliliği olan 6-12 yaş aralığındaki çocuk hastaların çekilmiş dişleri üzerinden alınan örneklerle yapıldı. Alınan örneklerin mikrobiyolojik incelemeleri ise RTEÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.3. Örneklem Boyutu

Verilerin Analizi

Çalışmada verilerin analizinde IBM SPSS Statistics versiyon 27 Windows paket programı kullanıldı. Veriler değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotları (sayı, yüzde, medyan, ortalama, standart sapma, minimum, maksimum) kullanıldı. Normallik analizi Shaphiro Wilk testi ile analiz edildi. Planlanan çalışma karyojenik özellikleri bilinen *S. aureus*, *S. mutans*, ve *Lactobacillus* bakterilerinin biyofilm üretim potansiyeline karşı postbiyotiklerin etkisini araştırmaktır. Bu doğrultuda, çalışmada iki grup oluşturuldu; bir gruba yalnızca bakteri uygulanırken, diğer gruba postbiyotik uygulanarak karşılaştırma yapıldı. Çalışmada iki grubun ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı normal dağılım sağlayan ölçümler için bağımsız örneklem t testi,

normal dağılıma sahip olmayan ölçümler için ise Mann Whitney U ile test edildi. Tüm analizler %95 güven aralığında ve I. Tip Hata olasılığı $\alpha=0.05$ olarak belirlendi.

Örneklem Genişliği

Araştırmanın hipotezlerinin değerlendirilmesi için gerekli örneklem sayısı “G. Power-3.1.9.7” programı kullanılarak hesaplandı. Örneklem büyüklüğü %95 güven düzeyi, $\alpha=0.05$ ve 0.80 teorik güç ile bu konuda yapılan literatür çalışması değerlendirilerek bağımsız örneklem t testi için Cohen’nin yüksek etki büyüklüğü 0.8, iki yönlü tekrarlı ölçümler ANOVA için ise yüksek etki büyüklüğü 0.40 alınarak hesaplandı. Analiz sonucunda minimum örneklem hacmi her grupta minimum 26 olmak üzere toplam 52 olarak belirlendi. Çalışma sonrasında elde edilecek bulgular ile post-hoc güç (power) testi ile örneklemin yeterliliği tekrar test edildi.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı’na başvuran,
- Herhangi bir sendroma ya da sistemik rahatsızlığa sahip olmayan,
- 6-12 yaş arasında,
- Süt molar dişleri diş çürüğü sebebiyle çekim endikasyonu koyulmuş çocuklar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- Uygun yaş aralığında olmayan,
- Herhangi bir sendromu ya da sistemik bir rahatsızlığı olan,
- Çekim endikasyonu sebebi diş çürüğü olmayan
- Ön diş grubu çekimi yapılacak olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

3.1.4. Çalışma Dizaynı

- Diş örneklerinin toplanması ve saklanması

- Diş örneklerinden karyojenik bakterilerinin izolasyonlarının yapılması
- Patojen bakterilerin canlandırılması ve bakteri kültürlerinin hazırlanması
- Postbiyotiklerin hazırlanması ve karyojenik bakterilere karşı antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi
- Karyojenik bakterilerin biyofilm oluşturma potansiyellerinin Kongo Kırmızısı Agar ve mikropilaka yöntemiyle belirlenmesi
- Biyofilm eradikasyonunda postbiyotik uygulama şekillerinin etkisi
- Deney gruplarının dizaynı ve postbiyotik uygulanması

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışmada; inkübatör (Mettler 600), distile su cihazı (GFL-2108), çalkalayıcı (GFL-3005), otoklav (Nüve-OT-40L), vorteks (Heidolph-Reax top), soğutmalı santrifüj (Sigma, 2-16PK), liyofilizatör (Labconco FreeZone, USA), etüv ve çeşitli cam (ayırma hunileri, mavi kapaklı şişeler, baget, tüpler, beher, lam, lamel, erlenmayer, mezür, pastör pipeti) ve plastik malzemeler (plastik pipetler, pipet uçları, pipet kutuları, petri kapları, falkon tüpleri, ependorf tüpleri) kullanılmıştır.

3.1.6. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri

Çalışmada kullanılan besiyerleri, mikroorganizmaların izolasyonu, çoğaltılması, tanımlanması ve özelliklerinin araştırılması amacıyla kullanılan özel içerikli ortamlardır.

Brain-Heart Infusion Agar/Broth (BHIA/B) Besiyeri: Besiyeri içeriğinde beyin ekstraktı 12.5 g, kalp ekstraktı 5 g, pepton 10 g, sodyum klorür 5 g, glikoz 2 g, disodyum fosfat 2.5 g, ve Agar 10 g bulunmaktadır. Hazır alınan bu besiyerinden 1 litre başına 52 g tartılan besiyeri, distile suda tamamen çözündürüldükten sonra 121°C’de 20 dakika otoklavlandı. Steril petri kaplarına 25 mL olarak eşit miktarda dağıtıldı.

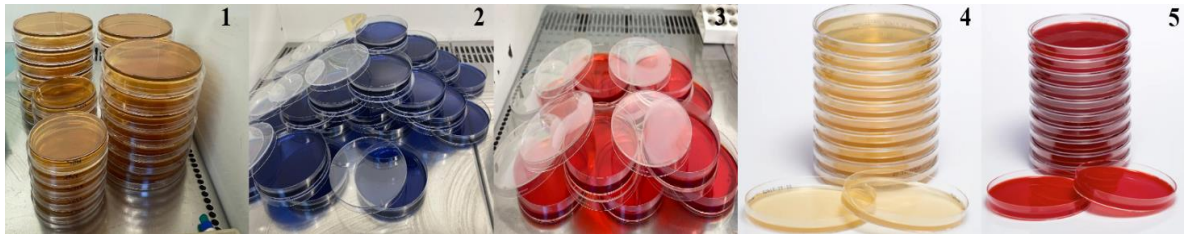
MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) Agar/Broth Besiyeri: *Lactobacillus* türlerinin selektif izolasyonu için kullanılan MRS besiyeri, içeriğinde glikoz 20 g, pepton

10 g, maya ekstraktı 5 g, sodyum asetat 5 g, amonyum sitrat 2 g, dipotasyum fosfat 2 g, magnezyum sülfat 0.2 g, manganez sülfat 0.05 g, Tween 80 1 mL ve 15 g agar bulunmaktadır. Hazır alınan bu besiyerinden 1 litre için 55.6 g/L olacak şekilde tartılan MRS tozu distile suda çözülerek 121°C’de 20 dakika sterilize edildi. Steril petri kaplarına 25 mL olarak eşit miktarda dağıtıldı.

Mitis Salivarius Agar (MSA) Besiyeri: Özellikle *Streptococcus* türlerinin seçici izolasyonu için kullanılan besiyeridir. Bu besiyerinin içeriğinde, tripton, sakkaroz, potasyum tellürit ve agar içermektedir. Üretici firma önerisine uygun olarak 1 litre hazırlamak için 90 g tartılan MSA besiyeri, distile suda çözülerek 121°C’de 20 dakika otoklavlandı. Soğutulduktan sonra 1 mL/L oranında %1 potasyum tellürit çözeltisi aseptik koşullarda eklendi. Karışım steril petri kaplarına 25 mL olarak eşit miktarda dağıtıldı.

Kongo Kırmızısı Agar (KKA) Besiyeri: Bakteriyel biyofilm üretiminin kalitatif olarak değerlendirilebilmesi amacıyla kullanılan KKA besiyeri; 37 g BHI agar, 50 g sakkaroz ve 0.8 g Kongo kırmızısı içerecek şekilde hazırlandı. Toplam içerik 1 L distile suda çözülerek 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. Homojen karışım soğutulurken petri kaplarına döküldü ve koyu kırmızı renkte jel haline getirildi.

Koyun Kanlı Agar (%5) : Hemolitik özelliklerin gözlenebilmesi için kullanılan bu besiyeri içeriğinde Tryptic Soy Agar (TSA) ve %5 oranında steril koyun kanı bulunmaktadır. Bu besiyeri ticari olarak temin edildi.



Şekil 3. 1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri: 1- MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) Agar Besiyeri, 2- Mitis Salivarius Agar (MSA) Besiyeri, 3- Kongo Kırmızısı Agar (KKA) Besiyeri, 4- Brain-Heart Infusion Agar (BHIA) Besiyeri, 5-Koyun Kanlı Agar (%5)

3.1.7. Kullanılan Solüsyonlar ve Ayraçlar

Gram Boyama Solüsyonları

Kristal viyole stok solüsyonu (%90-95 boya içeren) hazırlamak için; 40 g kristal viyole tartıldı ve 400 mL etanol (%95) ile bir cam şişede çözüldükten sonra oda ısısında muhafaza edildi. Amonyum okzalat solüsyonu (%1'lik) hazırlamak için; 4 g amonyum okzalat, 400 mL distile su içerisinde bir cam şişede çözüldükten sonra oda sıcaklığında saklandı. Kristal viyole stok solüsyonunun 40 mL'si amonyum okzalat solüsyonunun 160 mL'si ile karıştırılarak kullanıldı.

Lugol solüsyonu; 1 g iyot ve 2 g potasyum iyodür havanda birlikte ezilip 300 mL distile su ile homojenize edilerek çözünmesi sağlandı. Karanlık şişeye alındı ve tam çözünmesi için bir gece bekletildi.

Dekolorizasyon sıvısı (alkol-aseton karışımı); kristal viyole ile boyanmış, lugol solüsyonu ile mordalanmış preparatlarda renk giderilmesi için kullanıldı.

Safranin solüsyonu; porselen kroşede 2.5 g safranin 10 mL alkol (%95) ile çözülüp süzüldükten sonra ışık geçirmeyen karanlık vida kapaklı şişeye aktarıldı. Üzerine 100 mL distile su ilave edilerek tamamlandı. Bir gün bekletildikten sonra zıt boya olarak gram boyamada kullanıldı.¹²⁹

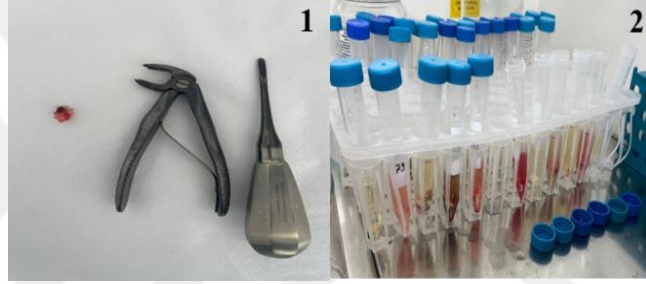
Katalaz Testi

Katalaz, hidrojen peroksitin bakterisit etkilerini nötralize eden bir enzimdir. Bu enzim aerobik bakterilerde ve bazı fakültatiflerde bulunur. Katalaz enzimini sentezleyen bakteriler, hidrojen peroksiti su ve oksijene hidrolize eder ve bu reaksiyon gaz kabarcıklarının oluşumuna neden olur. Ticari olarak temin edilen %30'luk H₂O₂ reaktifi 1:10 oranında distile su ile dilüe edilerek kullanıldı. Hazırlanan solüsyon -20°C'de muhafaza edildi.¹³⁰

3.2.Yöntem

3.2.1. Diş Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

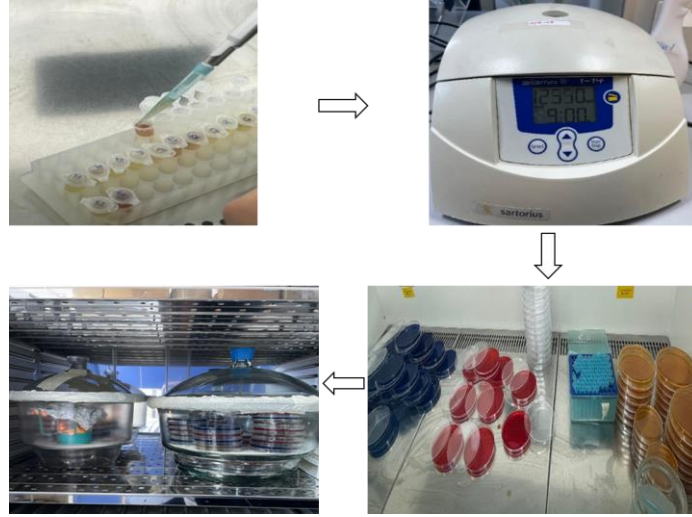
Süt dişi örnekleri RTEÜ Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı'na gelen ve diş çürüğü sebebiyle süt molar dişlerinde çekim gerekliliği bulunan çocuk hastalardan çekim işlemi yapılarak toplandı. Çalışma kriterlerimize uygun 6-12 yaş aralığında karma dentisyon dönemindeki çocuklarda gerekli çekim endikasyonu koyulduktan sonra anestezi işlemi yapıp dişe uygun davye ve elevatörlerle süt dişi çekim işlemi yapıldı. Çekilen süt dişi örnekleri mikroorganizma izolasyonu için 10 mL steril gliserol solüsyonu içerisinde -80°C'de kullanılacağı süreye kadar saklandı (Şekil 3.2.).



Şekil 3. 2. Diş örneklerinin toplanması, 1-Alt molar davye, Düz Bien Elevatör, 2- Diş örneklerinin gliserollü solüsyonda saklanması

3.2.2. Diş Örneklerinden Karyojenik Bakterilerin İzolasyonlarının Yapılması

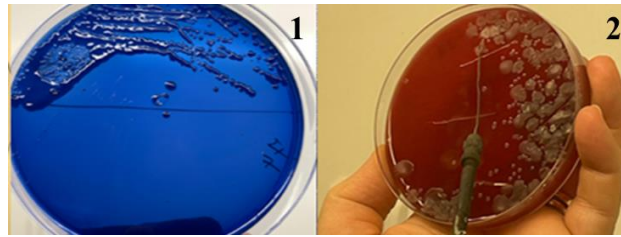
Süt dişi örneklerinin her birine 3 mL Brain Heart Infusion (BHI) sıvı besiyeri ilave edilerek, 150 rpm'de 37 °C'de çalkalamalı inkübatörde 4-5 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda 2 mL örnek alınarak 14 000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen pellet kısmı, 100 µL ultra saf su ile süspanse edilerek %5 koyun kanlı agar, MRSA ve MSA besiyerlerine ekim yapıldı. Ekim yapılan plaklar, anaerobik jar içerisinde 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi (Şekil 3.4.).



Şekil 3. 3. Alınan karyojenik bakteri numunelerinin santrifüj edilmesi ve besiyerlerine ekildikten sonra petrilerin mumlu kavanozda inkübasyonu

3.2.3. Bakterilerin Saflaştırılması ve Stoklanması

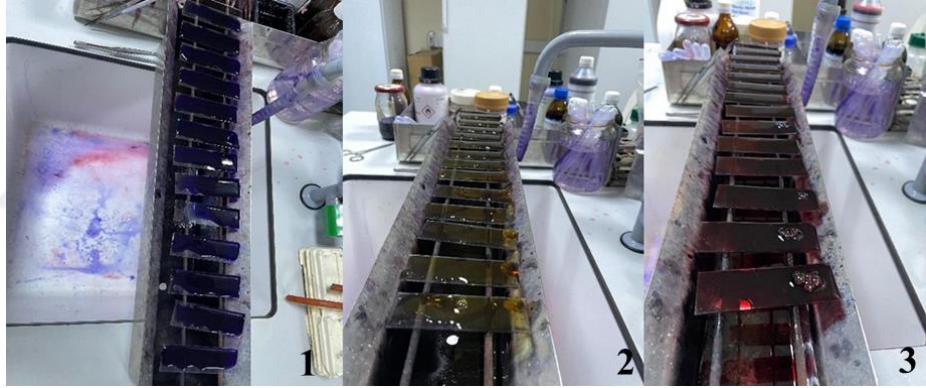
Kanlı agar ve MSA besiyerlerinden *Streptococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. türleri izole edildi (Şekil 3.6.). MRS agar besiyerinden ise *Lactobacillus* spp. ve *Streptococcus* spp. izole edildi. Kanlı ve MSA agarda izole edilen *Streptococcus* ve *Staphylococcus* türleri “GA”, MRSA da izole edilen *Streptococcus* ve *Lactobacillus* spp. izolatları “GL” olarak kodlandı. İzole edilen koloniler tek koloni saflaştırma yöntemi ile yeniden ekim yapılarak saf kültürler elde edildi.



Şekil 3. 4. MSA besiyerinde (1) ve koyun kanlı agar besiyerinde (2) üreyen bakteri koloni görüntüleri

Saflaştırılan bakteri izolatları Gram boyama ile morfolojik olarak değerlendirildi. Gram boyama bakterilerin hücre duvarlarının biyokimyasal yapısına göre tanımlanması ve sınıflandırılması için kullanılan en temel boyama yöntemidir. Gram boyama ile bakteriler Gram pozitif, Gram negatif veya Gram değişken olarak üçe ayrılır. Hazırlanan

bakteri preparatları ısı ile tespit edilerek boyamaya hazırlandı. Preparatlar ilk olarak kristal violet ile 2 dk boyandıktan sonra, lugol solüsyonunda da 2 dk bekletildi. Lugol işleminden sonra 15 sn boyunca %96'lık dekolorizasyon sıvısı ile dekolorize edilen preparatlar distile su ile yıkandı. Son olarak safranin ile 1 dk boyama işlemi yapıldı. Preparatlar distile su ile yıkandı ve açık havada kurutulduktan sonra mikroskopta 100X büyütmede incelendi. Morfolojilerine göre mikroskopta mor renge boyanan bakteriler Gram pozitif laktobasil, Gram pozitif streptokok veya Gram pozitif laktokok olarak değerlendirildi. Pembe renge boyanan bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirildi. Mikroskopisi yapılan saf bakteriyel suşların gliserol stok kültürleri -20 °C ve -80 °C'de saklandı.



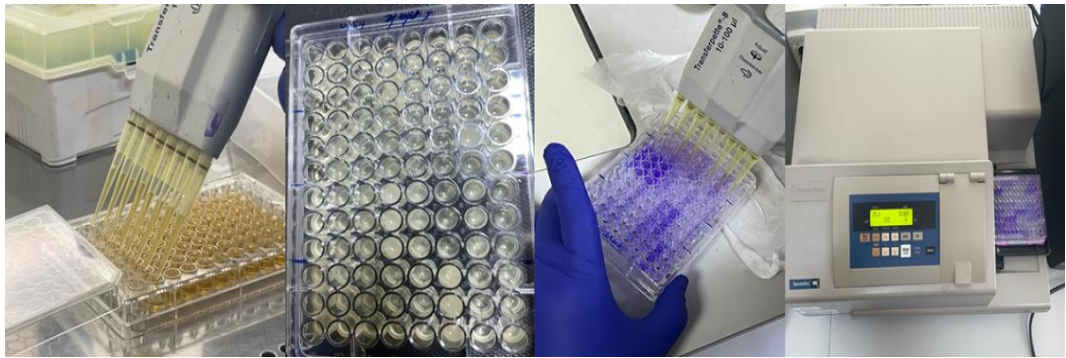
Şekil 3. 5. Gram boyama yöntemi : 1-Preparatların kristal viyole ile boyanması, 2- Lugol uygulaması, 3-Safranin ile boyama

3.2.4. Karyojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Kongo Kırmızısı Agar ve Mikroplaka Yöntemiyle Belirlenmesi

Karyojenik bakterilerin biyofilm oluşturma potansiyelleri Freeman vd. (1989) tarafından bildirilen metoda göre belirlendi.¹³¹ Biyofilm üreten bakterilerin belirlenmesi için KKA (50 g sakkaroz, 37 g Brain Heart Infusion Agar ve 0,8 gr Kongo Red ve 1000 mL distile su) besiyeri hazırlandı. Suşlar Kongo kırmızısı agara ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 24 saat anaerobik koşullarda inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda, siyah

koloniler oluşturan suşlar biyofilm pozitif, kırmızı veya pembe renkli koloni oluşturan suşlar ise biyofilm negatif olarak değerlendirildi.

Biyofilm üreten bakterilerin potansiyellerinin belirlenmesi için mikroplaka yöntemi kullanıldı. Biyofilm üretimleri kristal viyole boyama esasına göre kolorimetrik olarak belirlendi. Mikroplaka kuyucuklarına 100 µL TSB+BHI (1v/1v) besiyerileri (2% süktroz ilaveli) dağıtıldı. Besiyerileri dağıtıldıktan sonra her kuyucuğa 10 µL bakteri kültürü üç tekrarlı olarak dağıtıldı. Mikroplakalar 37 °C’de mumlu kavanozlarda 24-72 saat inkübe edildi. Bu yöntemle göre; inkübasyon sürelerinin bitiminde kuyular aspire edildi ve planktonik formdaki hücrelerin uzaklaştırılması için üç kez steril SF (%0.85 NaCl) ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra mikrolakalar oda koşullarında kurumaya bırakıldı. Bu aşamayı takiben boşaltılan kuyulara 200’er µL % 0.1’lik kristal viyole çözeltisi transfer edildi ve oda koşullarında 30 dakikalık inkübasyon edildi. Kuyucuklar tekrar 200 µL steril distile su ile yıkanarak tutunmayan boya kısmı uzaklaştırıldı. Mikroplaka kuyucuklarına 200 µL % 96’lik etanol transfer edilerek 15 dk fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Plakaların içerisindeki biyofilm yapılarına tutunmuş kristal viyole boyası çözündürüldü. Plaka kuyucuklarındaki kristal viyole renginin optik yoğunluğu (absorbansı) 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Microplate Reader, SpectraMax M5, Molecular Devices, LLC.,USA) gerçekleştirilen okumalarla belirlendi.



Şekil 3. 6. Mikroplaka yöntemiyle kristal viyole absorbansının ölçümü

3.2.5. Biyofilm Oluşturan Karyojenik Bakterilerin Canlandırılması ve Agar Plug Yöntemiyle Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan karyojenik bakterilerden *S. mutans*, *S. aureus* ve *L. acidophilus* suşları, uygun besiyerlerine ekilerek canlandırıldı ve agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildi.

***Streptococcus mutans* İzolatının Hazırlanması:**

Klinik örneklerden izole edilen streptokok suşları, (%5) koyun kanlı agar ortamına tek koloni düşürme tekniğiyle ekildi. Plak kültürleri mikroaerofilik koşullarda 24 saat inkübe edildi. Daha sonra, steril sıvı besi ortamına (BHI ve TSB (1:1), %2 süktroz ilaveli) tek koloni ekimi yapılarak bir gece inkübasyona bırakıldı. Aktifleşen kültür, 0.5 McFarland (yaklaşık 10^7 – 10^8 CFU/mL) standardına göre ayarlandı.

***Staphylococcus aureus* İzolatının Hazırlanması:**

Koyun kanlı (%5) agarda üretilen stafilokok suşları, steril sıvı besiyerine inoküle edilerek 24 saat boyunca inkübe edildi. Elde edilen bakteri süspansiyonu, 0.5 McFarland bulanıklık standardına (10^6 – 10^7 CFU/mL) göre hazırlandı.

***Lactobacillus acidophilus* İzolatının Hazırlanması:**

Laktobasil suşları, MRS agar ortamına tek koloni şeklinde ekilerek mikroaerofilik koşullarda 48 saat inkübe edilerek aktiveleştirildi. Sıvı kültürü için %2 süktroz ilaveli MRS broth ortamı kullanılarak iki gün süreyle inkübe edildi. Elde edilen kültür, 0.5 McFarland (10^7 CFU/mL) standardına göre seyreltilerek hazırlandı.

Agar Plug Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivite Testi:

Yeni izole edilen ve biyofilm üretim potansiyeli yüksek suşlar ile yine laboratuvarında üretilip biyofilm üretim potansiyeli düşük olan probiyotik suşlar ve kültür stoklarında bulunan probiyotik suşlar arasındaki antagonistik etkileşimi değerlendirmek amacıyla agar plug yöntemi uygulandı. Karyojenik bakterilerin yoğunlukları McFarland

standardına göre ayarlandıktan sonra, katı agar besiyerinin tüm yüzeyine yayılmak suretiyle inoküle edildi. Daha sonra probiyotik suşların katı kültürlerinden 5 mm çapındaki steril borularla agar kesitleri (agar plug) oluşturuldu. Bu agar kesitleri mikroorganizmaların yayıldığı petri yüzeyine iğne öze yardımıyla iki tekrarlı olarak yerleştirildi. Petri kapları, 37 °C’de mikroaerofilik koşullarda 48–72 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonları milimetre(mm) cinsinden ölçülerek kaydedildi. Antagonistik etki gösteren probiyotik suşlar antimikrobiyal testte kullanılması için postbiyotiklerin hazırlanmasında kullanıldı.

3.2.6. Postbiyotiklerin Hazırlanması ve Karyojenik Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada Suyabatmaz ve Alpay Karaoğlu (2022), yüksek lisans tez çalışması kapsamında arı bağırsak florasından izole, identifiye ve karakterize edilen bir dizi laktik asit bakterileri kullanılmıştır. Bu kullanılan suşlar içinde 6 adet *Apilactobacillus kunkeei* (L4/3A, L14/2A, L84/1A, L46/3A, L121/2C, L72/3B), 1 adet *Leuconostoc mesenteroides* (L142/2B) ve bir adet *Enterococcus faecium* (E163/2A) kültürleri bulunmaktadır. Bu kültürler MRS agar besiyerinde canlandırıldı ve çalışmada postbiyotik etkinlikleri araştırıldı.

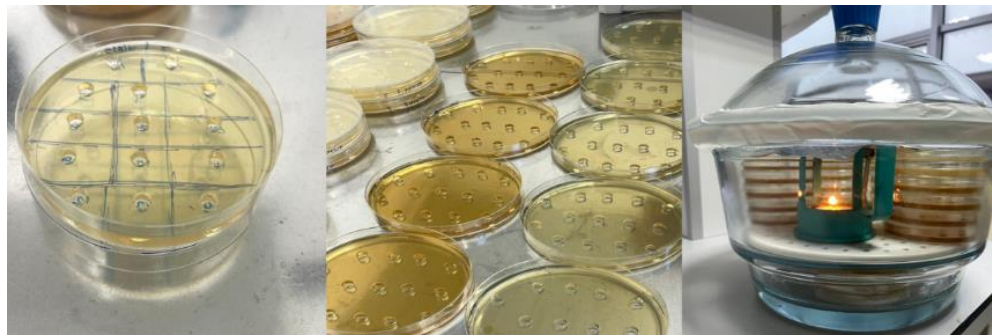
Gram pozitif, ince basil ve kok gözlenen kültürler tek koloni düşürme ekim tekniği ile MRS agar besiyerine kültüre edildi. Kültürler 37°C’de 48-72 saat anaerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tek koloni LAB kültürlerinden bir öze dolusu alınarak 3 mL MRS sıvı besiyerine inokule edildi ve 37°C’de çalkalamalı inkübatörde 120 rpm’de 48-72 saat inkube edildi. Sıvı kültüre adapte edilen suşlar 100 mL MRS sıvı besiyerine 1000 µL inoküle edilerek 37°C’de çalkalamalı inkübatörde 120 rpm’de 48-72 saat inkube edildi. İnkübasyon süresi sonunda sıvı kültürler 14000 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant kısımları ayrıştırıldı ve 0.22 µm steril filtreden geçirildi.

Filtrelenerek steril edilen postbiyotikler liyofilizatörde liyofilize edildi. Liyofilize edilen postbiyotikler steril ultra saf su içerisinde 500 mg/mL olarak çözündürülerek postbiyotik stok solüsyonları hazırlandı.



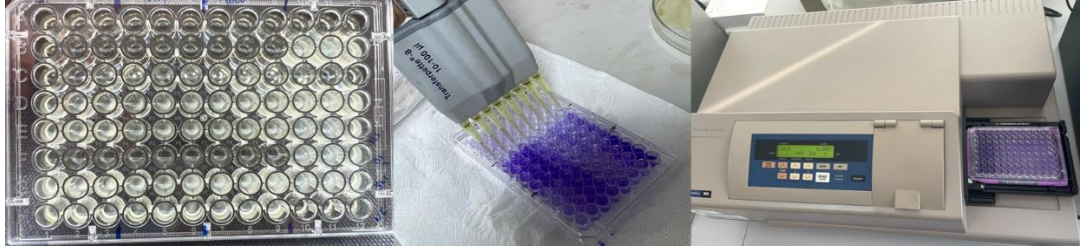
Şekil 3. 7. 1- Kültürlerin çalkalamalı inkübatörde inkübasyonu, 2- Santrifüj edilen kültürlerin steril filtreden geçirilmesi, 3- Postbiyotik örneklerinin liyofilizasyonu

Elde edilen steril postbiyotik stok solüsyonlarının karyojenik bakterilere karşı agar kuyucuk metoduna göre antimikrobiyal aktiviteleri test edildi. Uygun koşullarda taze kültürleri oluşturulan karyojenik bakteri kültürleri 0.5 McFarland standardında hazırlandıktan sonra steril eküvyon çubukla MSA ve MRSA (%2 sükröz ilaveli) besiyerilerinin yüzeylerine yayıldı. Petrilerin yüzeyinde 5 mm kuyucuklar açılıp içerisine 50 µL liyofilize postbiyotik solüsyonu koyuldu. Petriler anaerobik koşullarda 37°C’de 24-48 saat inkübe edildi (Şekil 3.8.). Antimikrobiyal aktivite, inkübasyon sonunda kuyucukların çevresinde oluşan zon çapının mm olarak ölçülmesiyle değerlendirildi.



Şekil 3. 8. Postbiyotiklerin karyojenik bakterilere karşı agar kuyucuk metodunda antimikrobiyal aktivite testi

Agar kuyucuk testinden sonra liyofilize edilen postbiyotiklerin MİK (Minimum inhibitör konsantrasyon) ve MBC (Minimum bakterisidal konsantrasyon) değerleri mikroplaka metoduyla belirlendi (Şekil 3.9.).



Şekil 3. 9. Örneklerin boyanması ve spektrofotometre ile ölçülmesi

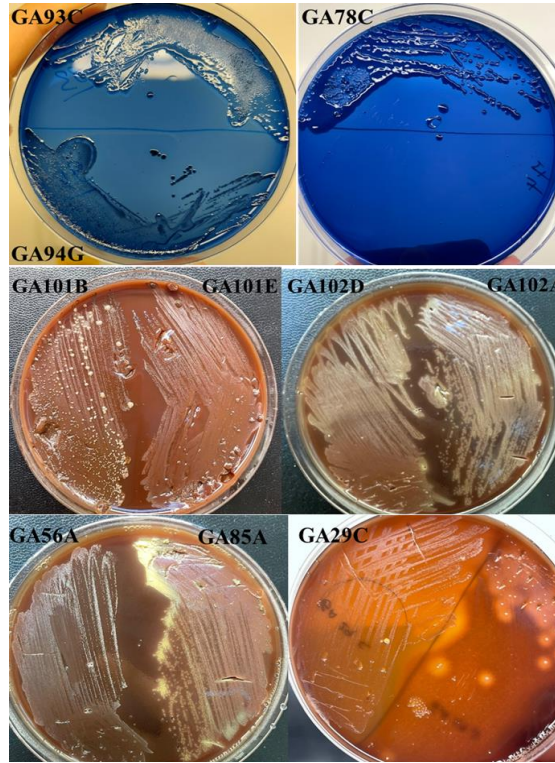
3.2.7. Postbiyotiklerin Biyofilm İnhibisyonundaki Etkinliği

Postbiyotiklerin karyojenik bakterilerin biyofilm üretimlerinin engellemesini belirlenmesi için mikroplaka yöntemi kullanıldı. Bakteri ve postbiyotikler ko-inkubasyon yapılarak test edildi.

Ko-inkubasyon için, %2'lik süktroz içeren TSB ortamında 0,5 McFarland standardına ayarlanan patojen bakteriler ile farklı konsantrasyonlarda postbiyotikler mikroplaka içinde 48 saat boyunca 37 °C'de birlikte inkübe edildi. Daha sonra biyofilm oluşumu daha önce anlatıldığı gibi analiz edildi. Daha sonra $\frac{[(C-B)-(T-B)]}{[(C-B)]} \times 100$ (C; patojenik suş, B; TSB ortamını absorbanısı T; patojenik suş ve postbiyotikleri birlikte içerir) formülüyle biyofilm inhibisyon yüzdesi hesaplandı. Böylece postbiyotiklerin karyojenik bakterilerin biyofilm oluşumunu engelleme yüzdesi belirlendi.

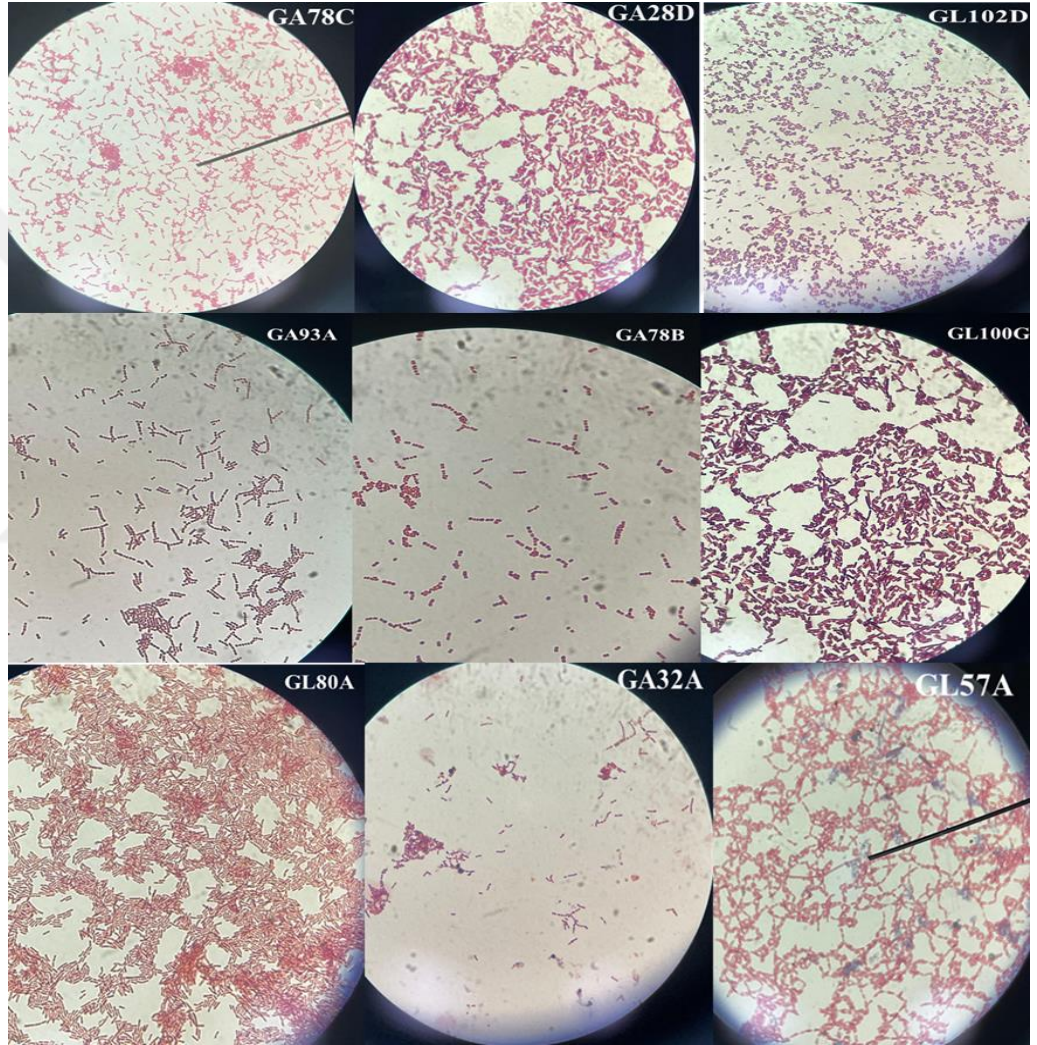
4. BULGULAR

Bu çalışma RTEÜ Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı'nda ve Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji ve Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada 6-12 yaş aralığında çocuk hastalardan klinik protokollere uygun şekilde çekilen toplam 90 adet süt molar diş örneği, kültürel yöntemlerle incelendi. Tüm örnekler %5 koyun kanlı agar, MRS agar ve MSA agar besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra 37 °C'de ortamda %5 CO₂'li ortamda 24-48 saat kültür edildi. Üreme gözlenen petri kapları bakteri koloni morfolojisi ve gram boyama özelliklerine göre cins düzeyinde geleneksel olarak tanımlandı (Şekil 4.1.). Yapılan geleneksel tanımlamalara göre toplam 90 diş örneğinden 100 adet *Streptococcus* spp., 20 adet *S. pneumonia*, 8 adet *Staphylococcus* spp. ve 83 adet *Lactobacillus* spp. izole edildi. İzole edilen toplam 211 izolatın tek koloni saflaştırma yöntemi ile yeniden ekimi yapılarak saf kültürler elde edildi (Şekil 4.1.).



Şekil 4. 1. MSA ve kanlı agar besiyerlerine ekilmiş bakteri örnekleri

Saflaştırılmış izolatlar Gram boyama yöntemi (Şekil 4.2.) ve katalaz testi ile bakteri morfolojisi açısından mikroskopik olarak değerlendirildi. *Staphylococcus* spp. olarak belirlenen izolatlarda katalaz testi pozitif, streptokok olarak belirlenen izolatların tümünde katalaz testi negatif olarak teyit edildi. Geleneksel olarak tanımlaması yapılan bakteriyel suşlar gliserol (%20) ilavesiyle stok kültürler hazırlanarak -80 °C'de muhafaza edildi.

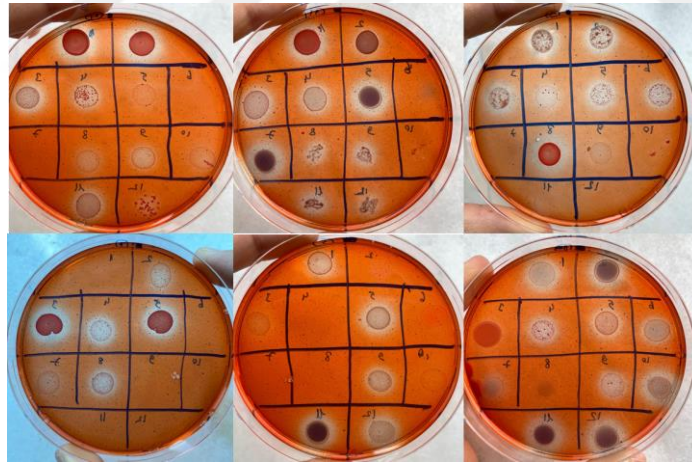


Şekil 4. 2. Bazı suşların mikroskop görüntüleri

GA78C: Ggram – streptokok, GA28D: Gram + basil, GL102D: Gram+ kokobasil, GA93A: kapsüllü streptokok, GA78B: Gram + streptokok, GL100G: Gram+ laktobasil, GL80A: Gram + laktobasil, GA32A: Gram+ streptokok, GL57A: Gram - basil

4.1. Karyojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Kongo Kırmızısı Agar ve Mikroplaka Yöntemiyle Belirlenmesi

Kanlı agar, MRSA ve MSA besiyerlerinde üretilen tüm *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp. izolatları uygun sıvı besiyerlerine (*Streptococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. BHI, *Lactobacillus* spp. MRSA) tek koloni ekimleri yapılarak bir gece 35°C’de 120 rpm çalkalamalı inkübatörde üretildi ve 5 µL taze sıvı kültürden alınarak KKA besiyerine damlatma yöntemi ile ekimleri yapıldı. Biyofilm oluşturan suşlar belirlendi. Toplam 211 izolat KKA besiyerinde test edildi (Şekil 4.3). Siyah koloni oluşturan suşlar biyofilm pozitif, kırmızı veya pembe renkli koloni oluşturan suşlar ise biyofilm negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.3). Biyofilm üretimi pozitif (+) olan toplam 101 (%47,87) izolat belirlendi. İzolatların 25’inde (%11,84) zayıf pozitiflik belirlenirken, 85 (%40,29) örneğin ise negatif olduğu gözlemlendi (Tablo 4.1.).



Şekil 4. 3. Kongo kırmızısı agarda biyofilm oluşumu

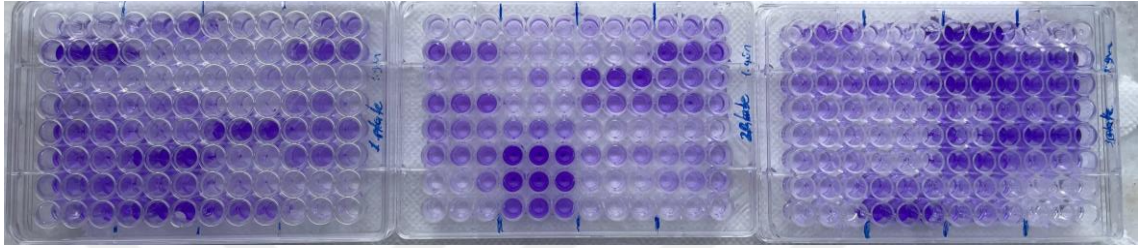
Geleneksel olarak Streptokok diye tanımlanan 120 örnekten 98’inde ve Stafilokok olarak tanımlanan 8 izolattan 1’inde biyofilm oluşumu pozitif olarak belirlendi. Laktobasil olarak sınıflandırılan 83 izolattan 50 tanesinde KKA yöntemi ile pozitif (1-3+) olarak belirlendi (Tablo 4.1.).

Tablo 4. 1. Kongo kırmızısı agar testinde biyofilm oluşumunun belirlenmesi (n=211)

Suş No	Sonuç	Suş No	Sonuç	Suş No	Sonuç	Suş No	Sonuç	Suş No	Sonuç
GA29A	-/+	GA44C	+	GA36E	+	GL81F	-	GL 52G	+
GA29B	-	GA44D	-/+	GA 37A	-	GL 54E	+	GL 36F	+
GA29C	+	GA44E	+	GA 37B	-	GL 54D	-	GL 44F	-/+
GA29D	+	GA45A	-/+	GA37C	-	GL 28C	-/+	GL 35E	-
GA30E	+	GA45B	-/+	GA38A	-/+	GL 28F	+	GL 35D	+
GA31A	-	GA46E	-	GA38B	-	GL 47D	-	GL 25A	-
GA31B	-	GA47A	-	GA39A	-	GL40YF	+	GL 46G	-
GA31C	+	GA54A	-/+	GA 39D	+	GL28 G	-	GL 49E	-
GA32D	+	GA54B	-/+	GA34A	-	GL40XF	+	GL40YC	+
GA33A	-	GA54C	+	GA 32B	-	GL60B	+	GL 49D	-
GA33B	-	GA60	-/+	GA 38E	+	GL40XD	+	GL 34H	-
GA33C	+	GA55A	-	GA40XA	-/+	GL30G	-	GL 53C	+
GA26A	-	GA34B	+	GA40XB	-	GL32C	-	GL 47F	+
GA26B	-	GA34C	-	GA40YA	+	GL33D	+	GL 30F	-
GA26C	-/+	GA34E	-	GA40YB	-/+	GL33C	-	GL 47E	-
GA28B	+	GA34F	+	GA 41A	-	GL27C	3+	GL 43E	+
GA28D	+	GA34G	+	GA41B	-/+	GL27B	2+	GL 43D	-
GA31D	-	GA35A	-	GA 42A	-/+	GL27D	+	GL 42D	-/+
GA30D	-	GA35B	+	GA42B	-	GL51B	+	GL 49C	-/+
GA30C	+	GA35C	+	GA43A	-	GL56E	+	GL40YD	-/+
GA30B	-/+	GA36A	-	GA 43B	-/+	GL56F	+	GL98C	+
GA30A	-	GA36B	-	GA 43C	-/+	GL58B	+	GL63	+
GA32C	-	GA36C	+	GA 44A	-	GL58C	3+	GL93X	+
GA 46D	-	GA62B	+	GA61C	-	GL63B	3+	GL85E	+
GA 47B	-	GA90B	-	GA69A	-	GL63C	+	GL86F	2+
GA 47C	+	GA64B	-	GA101C	-	GL64D	2+	GL87D	+
GA 49A	-	GA93C	+	GA102C	-	GL64E	2+	GL94D	+
GA 49B	-	GA93B	+	GA78E	2+	GL64C	+	GL91D	+
GA 52A	-	GA93A	+	GA85D	+	GL82E	3+	GL62E	+
GA 52C	-/+	GA91A	-	GA66E	+	GL100F	+	GL 26D	3+
GA 52D	-/+	GA66A	-	GA85A	+	GL100G	2+	GL 38D	-
GA 53A	-	GA82B	-	GA85B	-	GL102E	+	GL 36H	-
GA 53B	-/+	GA70B	+	GA94G	2	GL102D	+	GL36G	-
GA84E	+	GA100A	+	GA94F	2	GL101G	+	GL54F	-
GA71A	-	GA36D	+	GA59A	-	GL102F	3+	GL 53E	-
GA71B	+	GA92C	-	GA98E	+	GL90C	2+	GL 53D	-
GA71C	-	GA89C	-/+	GA98F	+	GL95C	2+	GL 25B	-
GAA69X	-	GA86C	-	GA98A	+	GL97C	3+	GL 34İ	-
GA84B	+	GA64C	+	GA98B	+	GL62E	-	GL 30F	-
GA83A	-	GA61B	+	GA91A	+	GL98C	+	GL 46H	-
GA82A	-	GA81E	+	GA98C	+	GL98D	+	GL91D	-
GA81C	-	GA81D	+	GA81A	+	GL101H	+		
		GA46C	-	GA95Y	3+				
42		43		43		42		41	

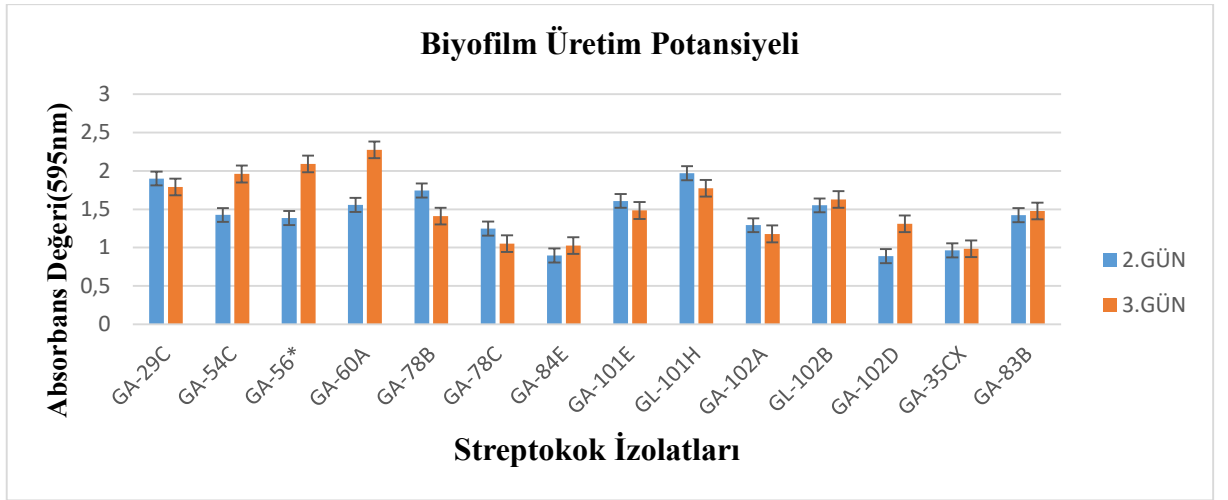
Kongo kırmızısı agar besiyerinde pozitif olarak belirlenen izolatlar sıvı kültürde mikrop laka yöntemi ile spektrofotometrik olarak biyofilm oluşumu açısından incelendi (Şekil 4.4.). Belirtilen koşulları takiben biyofilm üretimleri kristal viyole boyama esasına

göre kolorimetrik olarak belirlendi. Çözünen boya kristal viyole renginin optik absorbansı 595 nm dalga boyunda gerçekleştirildi (Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.). Çalışmada streptokok izolatlarından en iyi pozitif olanlardan 95 tanesi ve pozitif bulunan bir adet stafilokok suşu mikropilaka yöntemi ile de biyofilm oluşumu incelendi. 83 laktobasil suşundan güçlü pozitif olarak belirlenen 39 tanesi mikropilaka yöntemi ile biyofilm oluşumu açısından üç gün boyunca incelendi.(Şekil 4.4.)



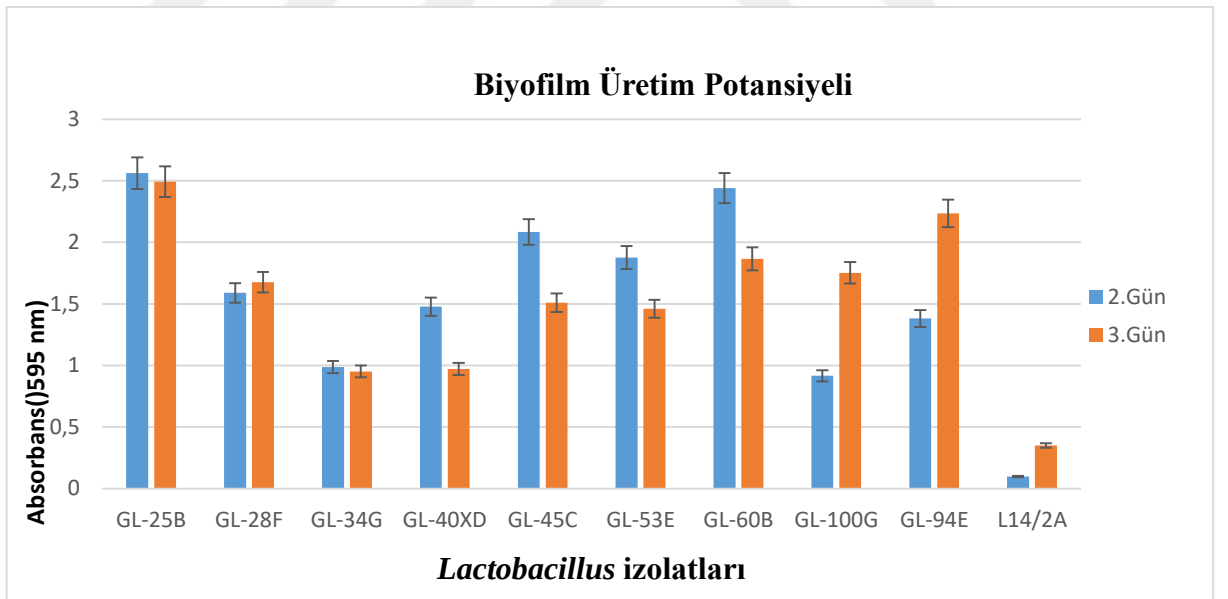
Şekil 4. 4. Mikropilaka yöntemi uygulanan mikropilakelerin görüntüsü

Streptokok suşlarından 2. ve 3. günde en iyi biyofilm oluşturan 14 suş belirlendi. Bu suşlar metilen mavisinin absorbans 595 nm değerine göre absorbansı her iki günde de 1,0'in üzerinde olan değerler en yüksek biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğu düşünülerek seçilmiştir (Şekil 4.5). 2. günde en yüksek biyofilm oluşumu GA29C ve GL101H suşlarında gözlenirken, üçüncü günde GA60A, GA56A*ve GA54C suşlarında belirlenmiştir. Tek pozitif olan *Staphylococcus* spp. suşu ise sıvı yöntemde biyofilm oluşumu yüksek olarak belirlenemedi.



Şekil 4. 5. Streptokokların biyofilm üretim potansiyeli

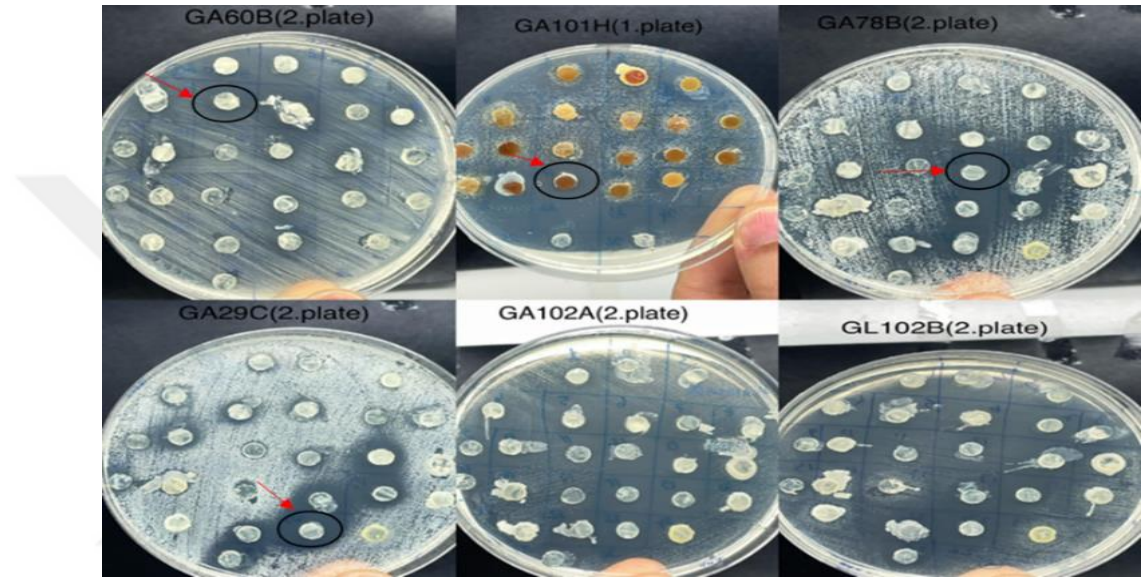
Laktoktobasil için sıvı ortamda biyofilm oluşumu incelenen 39 örnekten 10 tanesi biyofilm oluşumu her iki günde de 0,9 ve üzeri olanlar dikkate alınarak 2. ve 3. gün değerleri Şekil 4.6.'da verilmiştir. En yüksek değer 2. günde GL25B, GL60B ve GL45C, 3. günde ise GL25B ve GL94E suşlarında gözlenmiştir.



Şekil 4. 6. Laktobasillerin biyofilm üretim potansiyeli

4.2. Biyofilm Oluşturan Karyojenik Bakterilerin Canlandırılması ve Agar Plug Yöntemiyle Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan karyojenik bakterilerden 14 adet Streptokok ve 10 adet Laktobasil suşu, agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivite bakımından incelendi (Şekil 4.7.). Antagonistik etki gösteren probiyotik suşlara ait postbiyotik fraksiyonlar, sonraki aşamalarda hazırlanarak biyofilm inhibisyon testlerinde kullanıldı.



Şekil 4. 7. Agar plug metoduyla petri görüntüleri

Sıvı kültürde biyofilm oluşturan 8 adet Streptokok suşu, çalışmamızda izole edilen 13 adet Laktobasil suşu ile daha önceden tez çalışması kapsamında etkin olduğu belirlenen 12 adet Laktobasil suşu olmak üzere toplam 25 adet suş laktik asit bakterilerine karşı agar plug yöntemiyle antimikrobiyal etkinliği araştırıldı (Tablo 4.2.). Laktik asit bakterilerine karşı en duyarlı streptokok GL102B, GA102A ve GA29C suşları belirlendi. Süt dişlerinden izole edilen laktobasillerden en etkin olan GL36H, GL40XE, GL47F, GL63B, GL80A ve GL97C suşları olduğu önceden test edilen laktobasillerden ise L46/3A, L72/3B ve L121/2C suşları olduğu gözlemlendi.

Tablo 4. 2. *Streptococcus* karyojenik bakterilerine karşı probiyotik bakterilerin (*Lactobacillus*) agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm).

	Suş Kodu	İyi Biyofilm Üreten Streptokok İzolatları							
		GL102B	GA102A	GA78B	GA101E	GA60A	GA54C	GL81F	GA29C
1	GL27C	8+	6+	-	-	-	-	-	6+
2	GL35D	10+	-	-	-	-	-	-	-
3	GL36F	8+	-	-	6+	-	6+	-	-
4	GA36EX	8+	6+	-	-	6+	-	-	6+
5	GL36H	15+	10+	7+	8+	8+	-	-	7+
6	GL40XE	15+	15+	6+	-	6+	-	-	7+
7	GL47F	15+	12+	6+	-	-	10+	-	6+
8	GL52G	8+	-	-	-	-	6+	-	8+
9	GL54E	6+	-	-	-	-	-	-	-
10	GL63B	12+	12+	-	8+	8+	-	-	9+
11	GL64E	6+	6+	-	-	-	-	-	6+
12	GL80A	6+	12+	8+	10+	6+	-	-	7+
13	GL97C	12+	15+	12+	11+	7+	8+	8+	12+
14	SAK221C	-	-	-	-	-	-	6+	-
15	L4/3A	8+	8+	-	-	-	-	-	7+
16	L122/3A	-	-	-	-	-	-	-	6+
17	L164/2B	-	-	-	-	-	-	7+	6+
18	L46/3A	11+	15+	10+	12+	8+	6+	-	16+
19	L146/3A	10+	11+	6+	8+	6+	6+	-	14+
20	SAK243	-	-	-	-	-	-	-	-
21	LS152/1A	-	-	-	-	-	-	-	-
22	LS122/1A	10+	12+	-	8+	8+	-	6+	10+
23	L72/3B	15+	14+	6+	12+	10+	9+	-	14+
24	LS152/1B	-	-	-	-	-	-	-	-
25	L121/2C	10+	15+	-	7+	6+	-	-	10+
GA56* üremedi									

Çalışmada karyojenik streptokoklara karşı biyofilm üretmeyen streptokokların etkinliğinin olup olmadığı test edildi (Tablo 4.3.). Çalışmada Stafilokok olarak belirlenen GA94G ve Streptokok olan GA94F suşları karyojenik üç adet (GL102B, GA60A ve GL101H) Streptokoklara karşı güçlü antagonist etkili oldukları belirlendi.

Tablo 4. 3. *Streptococcus* karyojenik bakterilerine karşı probiyotik bakterilerin (*Streptococcus*) agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm)

Sayı	Suş Kodu	İyi Biyofilm Üreten Streptokok İzolatları								
		GL102B	GA102A	GA78B	GA101E	GA60A	GA54C	GL81F	GA29C	GL101H
1	GA30C-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	GA30C-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GA39D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	GA44C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	GA47C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	GA56A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	GA58A	-	-	-	-	8+	-	-	-	-
8	GA58G	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	GA61A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	GA62A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	GA70A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	GA72F	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	GL76A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	GA78A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	GA86A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	GA94F	12+	-	-	-	6+	-	-	-	14+
17	GA94G	10+	-	-	-	8+	-	-	-	15+
18	GA100E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	GA101B	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çalışmamızda biyofilm oluşturan laktobasillere karşı biyofilm üretmeyen streptokokların etkinliği araştırıldı (Tablo 4.4.). Çok yüksek etkinlik göstermese de bazı suşların tek başına karyojenik laktobasillere etkili olabileceği belirlenmiştir.

Tablo 4. 4. *Lactobacillus* karyojenik bakterilere karşı *Streptococcus* agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm)

Suş Kodu	İyi Biyofilm Üreten Laktobasil İzolatları									
	GL25B	GL28F	GL34G	GL40XD	GL45C	GL53E	GL60B	GL94E	GL100G	L14/2A
GA30C-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA30C-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA39D	-	-	-	-	-	-	6+	-	-	-
GA44C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA47C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA56A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA58A	-	-	-	-	-	-	6+	-	-	-
GA58G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA61A	6+	-	-	-	-	-	6+	-	-	-
GA62A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA70A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA72F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL76A	6+	-	-	-	-	-	8+	-	-	-
GA78A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA86A	-	8+	-	-	-	-	-	-	-	-
GA94F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA94G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA100E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA101B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Karyojenik laktobasillere karşı karyojenik olmayan laktobasillerin etkinliği agar plug yöntemi ile test edildi (Tablo 4.5.). Diş florasından izole edilen karyojenik olmayan laktobasillerin karyojenik laktobasillere karşı etkinlik belirlenemedi ancak arı bağırsak florasından izole edilen laktobasillerden L164/2B izolatının 4 karyojenik izolata karşı düşük de olsa etkinliğinin var olduğu belirlendi.

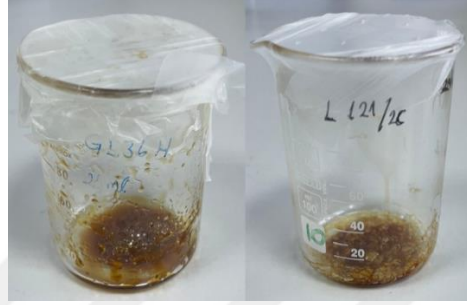
Tablo 4. 5. *Lactobacillus* karyojenik bakterilere karşı *Lactobacillus* probiyotik bakterilerin agar plug yöntemiyle antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Zon çapı: mm)

Suş Kodu	İyi Biyofilm Üreten Laktobasil İzolatları									
	GL25B	GL28F	GL34G	GL40XD	GL45C	GL53E	GL60B	GL94E	GL100G	L14/2A
GL27C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL35D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL36F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA36EX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL36H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL40XE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL47F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL52G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL54E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL63B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL64E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL80A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GL97C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAK221C	-	-	-	-	-	6+	-	-	-	-
L4/3A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L122/3A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L164/2B	-	6+	-	-	7+	8+	-	6+	-	-
L46/3A	-	6+	-	-	-	-	-	-	-	-
L146/3A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAK243	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LS152/1A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LS122/1A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L72/3B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LS152/1B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L121/2C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4.3. Postbiyotiklerin Hazırlanması ve Karyojenik Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada arı florasından elde edilen *Apilactobacillus kunkeei* (L4/3A, L14/2A, L84/1A, L46/3A, L121/2C, L72/3B), *Leuconostoc mesenteroides* (L142/2B), *Enterococcus faecium* (E163/2A) izolatları postbiyotik üretimi için kullanıldı. Ayrıca diş örneklerinden izole edilen GL36H, GA94F ve GL80A izolatları postbiyotik etkinlik

araştırılmasında kullanıldı. Üretilen kültürlerin filtratları sıvı kültürlerin 14 000 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant kısımları ayrıştırılıp 0.22 µm steril filtreden geçirilerek elde edildi. Filtrelenerek steril edilen postbiyotikler steril beherlere alınarak, üzerlerine parafinle delikler açıldı, uygun koşullarda liyofilizatörde liyofilize edildi (Şekil 4.8.). Liyofilize edilen postbiyotikler steril ultra saf su içerisinde 500 mg/mL olarak çözündürülerek stok solüsyonları hazırlandı.



Şekil 4. 8. Liyofilize edilmiş postbiyotikler

Elde edilen steril postbiyotik stok solüsyonlarının karyojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edildi. Uygun koşullarda taze kültürleri oluşturulan karyojenik bakteri kültürlerinin 0.5 McFarland standartında hazırlandıktan sonra steril eküvyon çubukla MSA ve MRSA (%2 süktroz ilaveli) besiyerlerinin yüzeylerine yayıldı. Petrilerin yüzeyinde 5 mm kuyucuklar açılıp içerisine 50 µL liyofilize postbiyotiklerden koyuldu. Petriler anaerobik koşullarda 37°C’de 24-48 saat inkübe edildi. Agar kuyucuk metoduyla antimikrobiyal aktiviteleri belirlendi. Antimikrobiyal aktivite, inkübasyon sonunda kuyucukların çevresinde oluşan zon çapının mm olarak ölçülmesiyle değerlendirildi. Ardından postbiyotiklerin mikroplaka metoduyla MİK ve MBC değerleri belirlendi. Postbiyotiklerin MİK ve MBC değerlerinin aynı oldukları aynı konsantrasyon değerleri olduğu belirlendi (Tablo 4.5.). Antimikrobiyal aktivite konsantrasyonları belirlenen postbiyotikler, planlanan deney dizaynında kullanıldı. En iyi postbiyotik etkinliğe sahip bakteri MİK değeri en düşük olan GL36H olduğu belirlendi.

Tablo 4. 6. Postbiyotiklerin biyofilm üreten mikroorganizmalara karşı MİK ve MBC değerlerine göre antimikrobiyal etkinliği.

Postbiyotik	Stok (µg/mL)	Streptococcus suşları (µg/mL)			Laktobasil suşları (µg/mL)		
		GA29C	GA102A	GL102B	GL60B	GL25B	GL94E
L72-3B	545 000	27250±0	27250±0	27250±0	13625±0	13625±0	6812,5±0
GL36H	108 620	339,44±0	339,44±0	339,44±0	678,87±0	339,44±0	1357,75±0
L121-2C	136 800	3420±50	3420±0	3420±0	6840±50	6840±50	6840±0
L46-3A	266 100	6652,5±0	6652,5±0	6652,5±0	13305±50	13305±50	13305±50
GA94F	193 300	2416,3±0	2416,3±0	2416,3±0	9665±50	9665±50	-
GL80A	682 200	8527,5±0	8527,5±0	8527,5±0	17055±0	17055±0	34110±0

Postbiyotik L72-3B, streptokok türleri olan GA29C, GA102A ve GL102B suşlarına karşı 27250 µg/mL konsantrasyonunda MİK değerine sahip oldukları belirlendi. Ancak GA29C'nin erken dönemde üreme ve biyofilm oluşumunu engellerken, 48 ve 72. saatlerde yani geç dönemde etkisiz olduğu ve biyofilm oluşumunu engellemediği belirlendi. GA102A suşunu ise 13625±0 µg/ml ve GL102B suşu ise 1703,13 µg/mL konsantrasyonlarında biyofilm oluşumunu engellediği belirlendi.

L72-3B postbiyotiği laktik asit bakterileri olan GL60B ve GL25B suşlarını 13625±0 µg/ml, GL94E suşunu ise 6812,5±0 µg/ml konsantrasyonda üremeyi durdurduğu belirlendi ancak tüm dilusyonlarda biyofilm oluşumunu engelledi.

Postbiyotik GL36H izolatu streptokok türleri olan GA29C, GA102A ve GL102B suşlarına karşı 339,44±0 µg/mL konsantrasyonunda MİK değerlerine sahip olduğu belirlendi. Laktobasil türleri olan GL60B suşunda üremeyi ve biyofilmi 678,87±0 µg/mL de engellediği, GL25B suşunu 339,44 µg/mL de engellediği ve GL94E suşunu ise 1357,75 µg/mL MİK değerinde engellediği belirlendi.

L121/2C postbiyotiği streptokok bakterileri olan GA29C, GA102A ve GL102B suşlarına karşı 3420 µg/mL konsantrasyonda MİK değerine sahip olduğu belirlendi. Laktobasil türleri olan GL60B, GL25B, GL94E suşlarına karşı üreme ve biyofilm oluşumunun engellendiği MİK değeri konsantrasyonlarının ise 6840 µg/mL olduğu belirlendi.

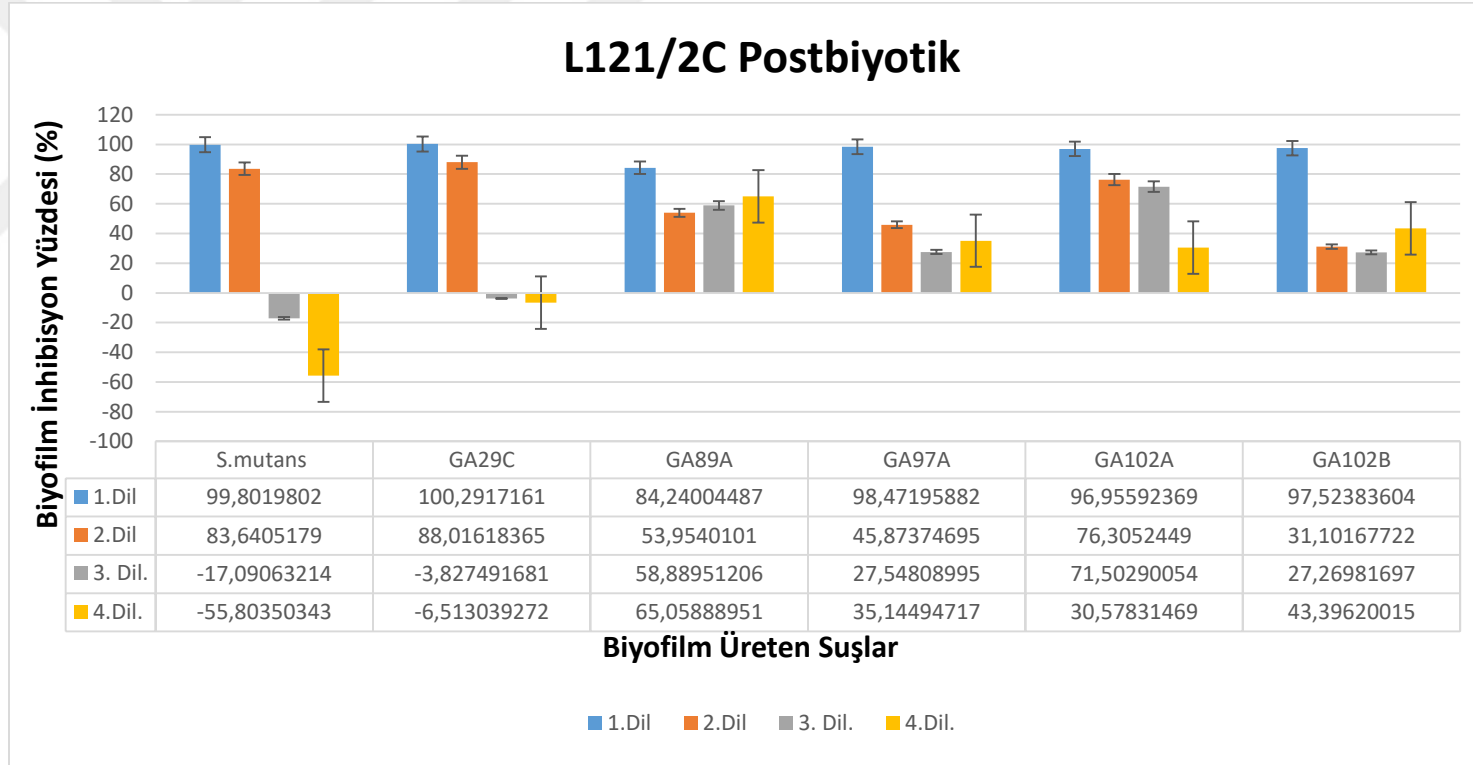
L46/3A postbiyotiği streptokok bakterileri olan GA29C, GA102A ve GL102B suşlarına karşı 6652,5 µg/mL konsantrasyonda MİK değerine sahip olduğu belirlendi. Laktobasil türleri olan GL60B, GL25B, GL94E suşlarına karşı üreme ve biyofilm oluşumunun engellendiği MİK değeri konsantrasyonlarının ise 13305 µg/mL olduğu belirlendi.

GA94F postbiyotiği streptokok bakterileri olan GA29C, GA102A ve GL102B suşlarına karşı 2416,25 µg/mL konsantrasyonda MİK değerine sahip olduğu belirlendi. Laktobasil türleri olan GL60B, GL25B suşlarına karşı üreme ve biyofilm oluşumunun engellendiği MİK değeri konsantrasyonlarının 9665 µg/mL olduğu, GL94E suşunun ise üreme ve biyofilm oluşumunu engelleyemediği bulundu.

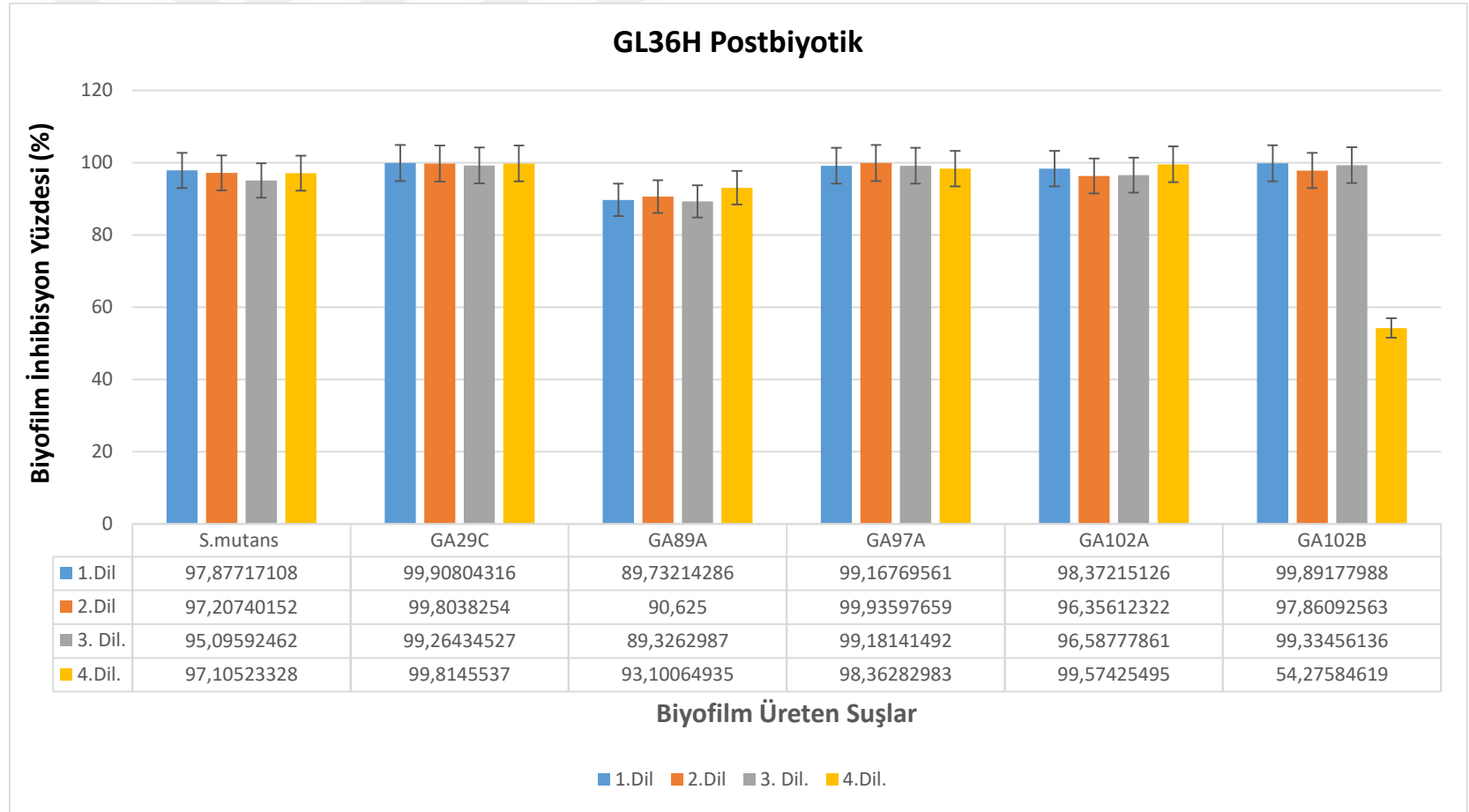
4.4. Biyofilm İnibisyonunun Postbiyotik Ko-İnkübasyon Yöntemi İle Testi

Ko-inkübasyon için, %2'lik sükroz içeren TSB ortamında 0,5 McFarland standardına ayarlanan patojen bakteriler ile farklı konsantrasyonlarda (dört dilüsyonda) postbiyotikler mikropilaka içinde 48 saat boyunca 37°C'de birlikte inkübe edildi ve sonuçları metodolojide verilen formül ile hesaplandı. Elde edilen veriler grafikleştirilerek (Şekil 4.9.,4.10.,4.11.,4.12.,4.13.,4.14.) verilmiştir.

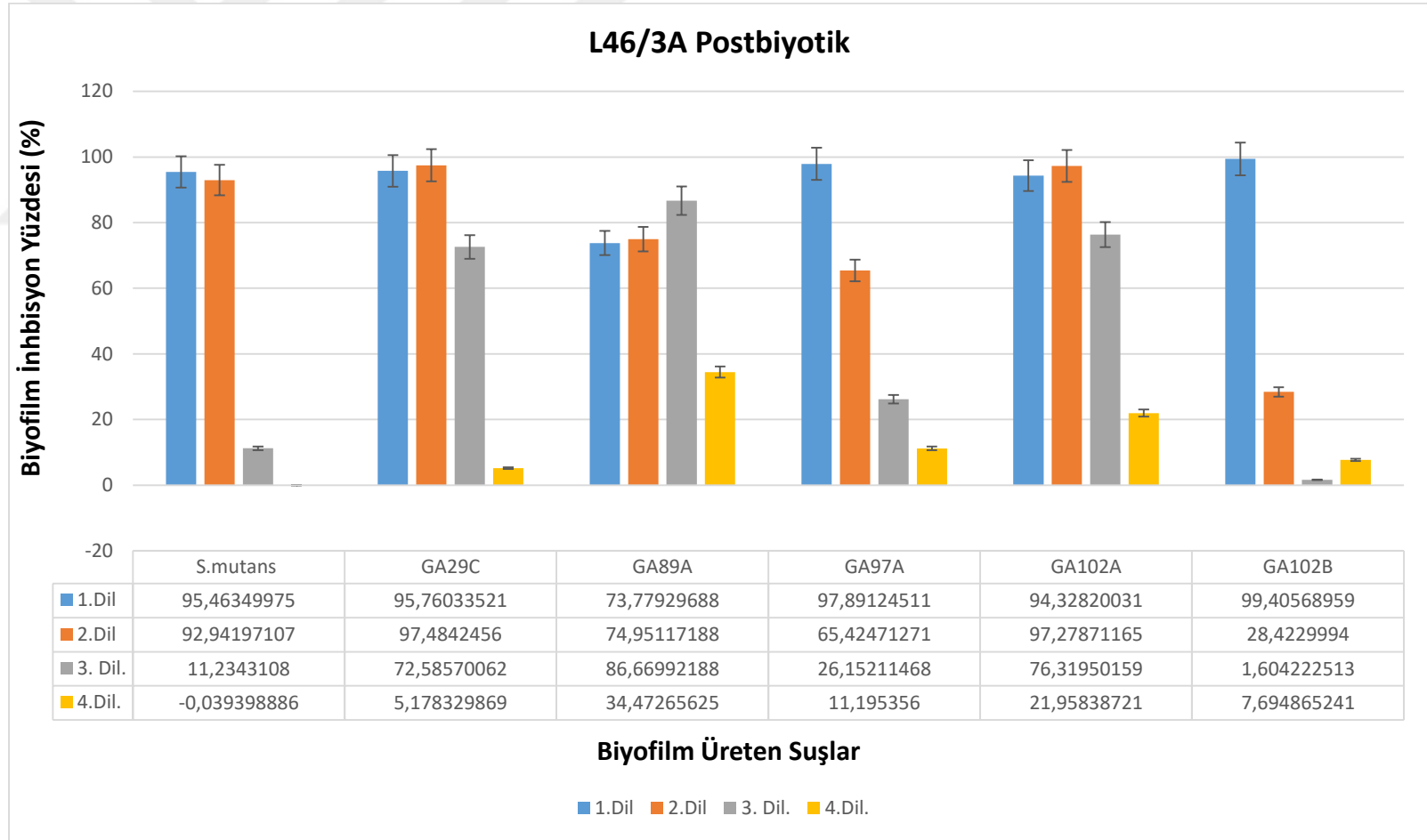
L121/2C postbiyotiği; *S. mutans* suşunu 1. dilüsyonda %99 oranında inhibe ederken 2. dilüsyonda %83 inhibe ettiği bulundu. GA29C suşunu 1. dilüsyonda %100 inhibe ederken 2. dilüsyonda %88 oranında inhibe ettiği bulundu. 1. dilüsyonlarda GA89A suşunu %84, GA97A suşunu %98, GA102A suşunu %96, GA102B suşunu %97 oranında inhibe ettiği bulundu (Şekil 4.9.).



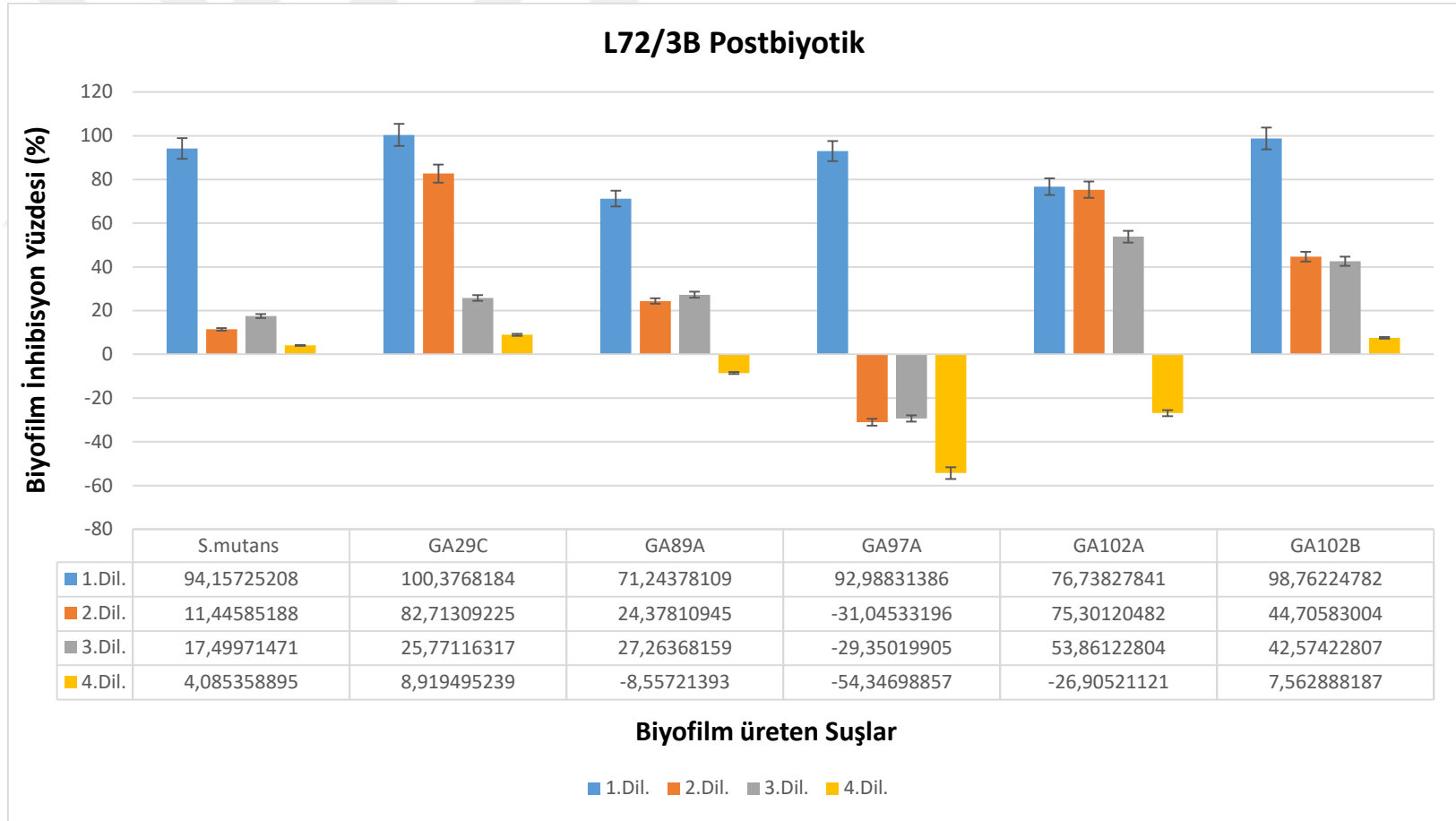
Şekil 4. 9. L121/2C postbiyotiğinin etkinliği



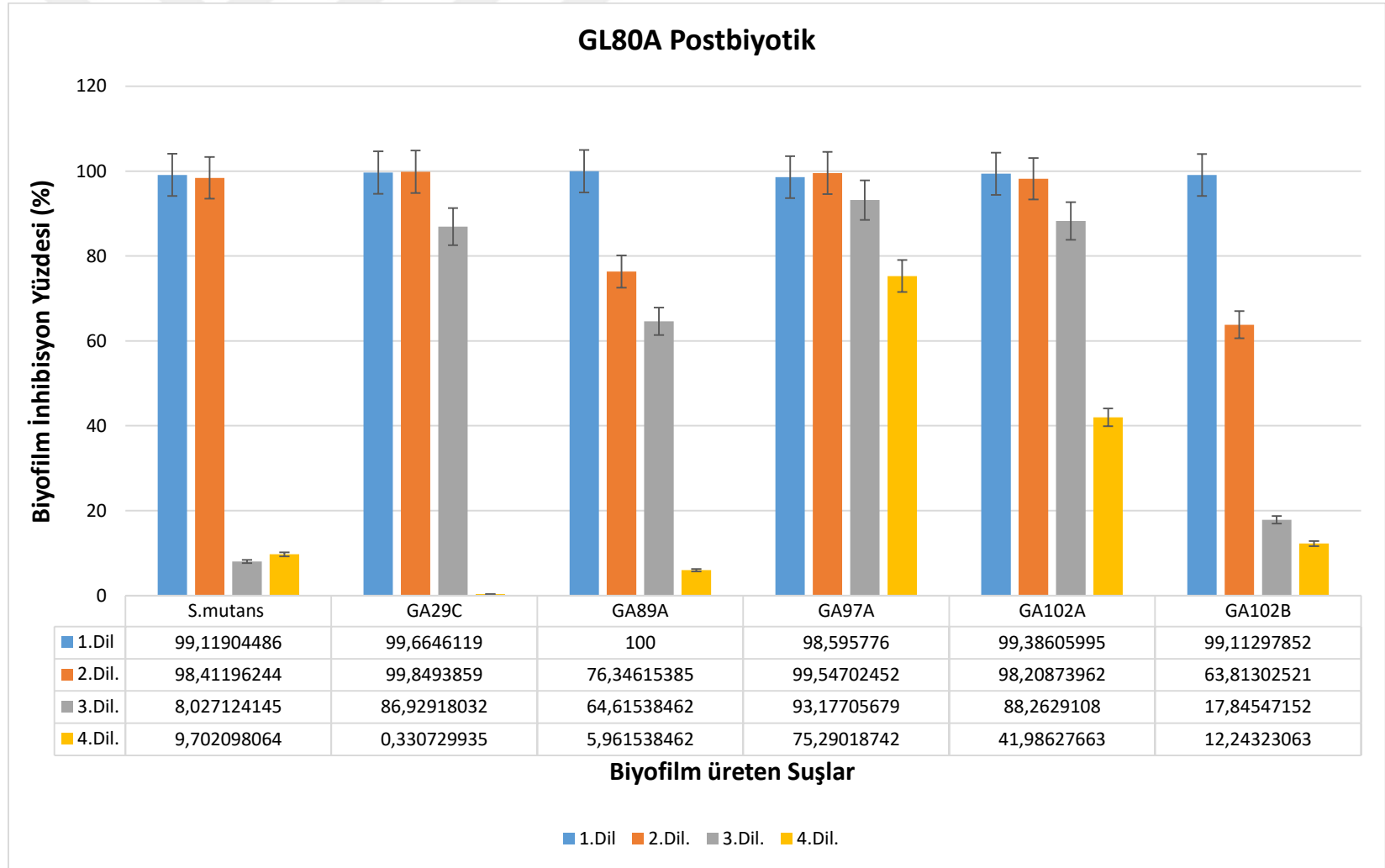
Şekil 4. 10. GL36H postbiyotiğinin etkinliği



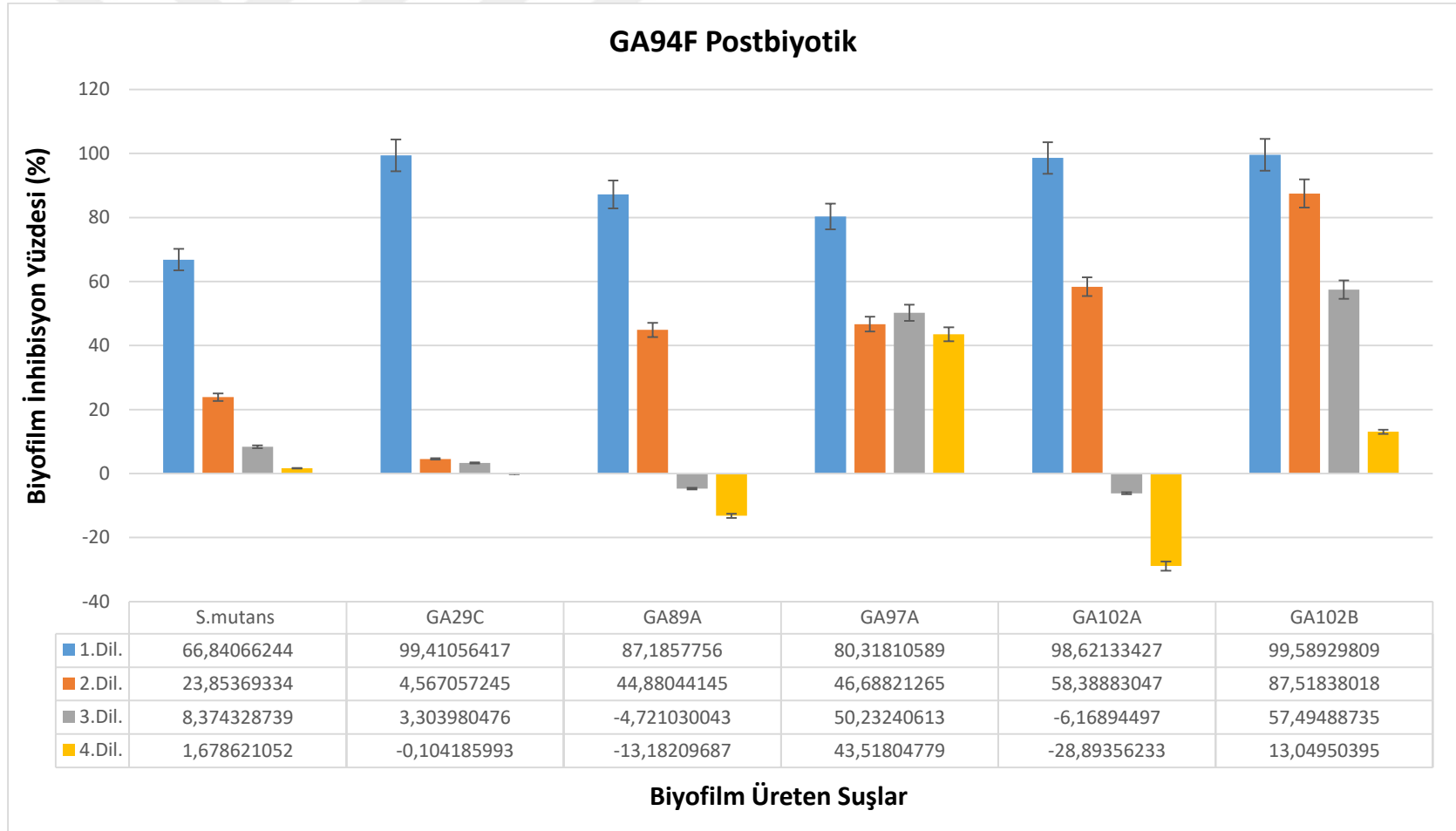
Şekil 4. 11. L46/3A postbiyotiğinin etkinliği



Şekil 4. 12. L72/3B postbiyotiğinin etkinliği



Şekil 4. 13. GL80A postbiyotiğinin etkinliği



Şekil 4. 14. GA94F postbiyotiğinin etkinliği

Araştırmada L121/2C’de hem bakteri (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) hem de farklı dilüsyon(dil) uygulamaları (1. dil, 2. dil, 3. dil, 4. dil) ve kontrol grubu arasında yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda her bakteri için farklı dil. uygulamaları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla post-hoc Bonferroni analizi uygulanmıştır. *S. mutans* bakterisi için 4. dil ölçüm yüzdesi 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA29C bakterisi için 4. dil ve 3. dil grupları, 1. dil grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B bakterileri için kontrol grubunun (5. grup) yüzde ölçümü 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur.

Tablo 4. 7. L121/2C suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi

L1212C													
	1.Dil (1)		2.Dil (2)		3.Dil (3)		4.Dil (4)		Kontrol (5)				
	N	rt. ±Ss.	N	rt. ±Ss.	N	rt. ±Ss.	N	rt. ±Ss.	(Min. - Maks.)	rt. ±Ss.	istatistiksel (X ²)	Bonferroni	
MUTA NS (A)	9.458 (99.354-100.429)	9.747±0.593	3.006 (79.975-84.529)	2.503±2.318	34.483 (-50.478-0.561)	29.721±22.362	57.118 (-65.01-49.226)	57.118±11.161	(0-0)	±0	2.388	.015*	<1
A29C (B)	00.215 (99.647-100.369)	00.077±0.38	1.125 (83.843-92.169)	9.046±4.536	4.09 (-6.749-2.509)	4.359±1.961	6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	(0-0)	±0	3.257	.010*	<1; 3<1
A89A (C)	4.24 (82.5-84.24)	3.66±1.005	7.095 (50.813-62.5)	6.803±5.849	2.5 (26.921-90.858)	0.695±2.6185	5.059 (65.059-65.059)	5.059±0	(0-0)	±0	0.492	.033*	<1
A97A (D)	7.09 (88.889-99.854)	5.278±5.703	5.386 (44.444-46.361)	5.397±0.959	3.15 (22.13-33.333)	0.441±5.543	5.145 (35.145-35.145)	5.145±0	(0-0)	±0	3.570	.009*	<1
A102A (E)	7.964 (96.046-98.75)	7.587±1.391	9.772 (72.465-87.5)	9.912±7.518	0.547 (25-77.494)	0.897±2.4426	0.662 (29.03-32.293)	0.662±2.307	(0-0)	±0	2.380	.015*	<1
A102B (F)	7.224 (95.283-99.765)	7.424±2.248	2.815 (27.586-34.99)	1.797±3.806	7.504 (27.467-43.642)	1.529±8.075	3.549 (43.549-43.549)	3.549±0	(0-0)	±0	1.865	.018*	<1
istatistiksel (X ²)		11.585		15.596		17.172		10.883			.000		
		0.041*		0.008*		0.004*		0.054			.000		
Bonferroni		C<B		F<B		A<C; A<E		-			-		

Dilüsyon gruplarına göre bakteriler arasında yapılan Bonferroni analizine göre 1. dil uygulamasına göre GA29C bakterisinin yüzde değeri GA89A bakterisine göre yüksek bulunmuştur. 2. dil uygulamasına göre GA29C bakterisinin yüzde değeri GA102B bakterisine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 3. dil uygulamasında ise farklılığın *S.mutans* ile GA89A ve GA102A arasında olduğu ve *S.mutans* bakteri yüzdesinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. 4. dil. ve kontrol grubunda, tüm bakterilerin yüzde ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Tablo 4. 8. GL36H suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi

GL36H												
	1.Dil (1)		2.Dil (2)		3.Dil (3)		4.Dil (4)		Kontrol (5)			
	(Min.-Maks.)	rt. ±Ss.	(Min.-Maks.)	rt. ±Ss.	(Min.-Maks.)	rt. ±Ss.	(Min.-Maks.)	rt. ±Ss.	(Min.-Maks.)	rt. ±Ss.	istatistiksel değeri (X ²)	bonferroni
MUTANS (A)	8.095 (97.187-98.34)	7.874±0.607	7.143 (95.972-98.037)	7.051±1.036	6.12 (95.095-97.619)	6.238±1.334	6.882 (95.746-98.018)	6.882±1.607	(0-0)	±0	.828	.043* <1
A29C (B)	9.938 (99.828-99.989)	9.918±0.082	9.834 (99.752-99.855)	9.814±0.054	9.524 (98.87-99.692)	9.403±0.381	9.814 (99.641-99.986)	9.814±0.244	(0-0)	±0	1.012	.026* <1
A89A (C)	2.991 (87.741-93)	1.244±3.034	9.888 (88-91.076)	9.655±1.551	9.536 (86-91.707)	9.195±2.726	3.829 (90.814-96.843)	3.829±4.263	(0-0)	±0	.154	.086
A97A (D)	8.766 (98.667-99.846)	9.093±0.654	9.917 (99.916-99.969)	9.934±0.03	8.632 (98.333-99.676)	8.818±0.634	8.194 (97.534-98.854)	8.194±0.933	(0-0)	±0	1.255	.024* <2
A102A (E)	8.846 (97.806-99.009)	8.554±0.653	6.154 (96.121-96.565)	6.28±0.247	6.652 (96.387-99.615)	7.327±1.534	9.58 (99.486-99.674)	9.58±0.133	(0-0)	±0	1.448	.022* <4
A102B (F)	9.914 (99.789-99.927)	9.877±0.076	7.833 (97.578-97.941)	7.784±0.186	8.721 (58.984-99.961)	9.097±2.0107	7.579 (3.275-71.883)	7.579±4.8513	(0-0)	±0	0.139	.038* <1
istatistiksel değeri		14.520		15.526		12.730		10.000		.000		
		0.013*		0.008*		0.026*		0.075		.000		
bonferroni		C<B		C<D		C<B		-		-		

Araştırmada GL36H için hem bakteri (*S.mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) hem de farklı dil. uygulamaları (1. dil, 2. dil, 3. dil, 4. dil) ve kontrol grubu

arasında yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, *S. mutans*, GA29C, GA97A, GA102A ve GA102B bakterileri açısından Dil. grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$). GA89A bakterisinde ise anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Bonferroni analizine göre: *S. mutans*, GA29C ve GA102B için kontrol grubunun yüzde değeri, 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA97A bakterisinde, kontrol grubu 2. dil grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. GA102A bakterisinde kontrol grubu, 4. dil grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktür.

Dilüsyon gruplarına göre bakteriler arasında yapılan Bonferroni analizine göre 1. dil ve 3.dil uygulamasında GA29C bakterisinin yüzde değeri, GA89A bakterisine göre anlamlı düzeyde daha yüksektir. 2. dil uygulamasında GA89A bakterisinin değeri, GA97A bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 4. dil uygulamasında ve Kontrol grubunda tüm bakterilerin ölçüm yüzdeleri arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4. 9. L463A suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi

L463A												
	1.Dil (1)		2.Dil (2)		3.Dil (3)		4.Dil (4)		Kontrol (5)			
	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	Test istatistik iği (X^2)	Bonferroni p
SMUTA NS (A)	96.842 (93.093-97.354)	95.763 $\pm$ 2.326	94.737 (89.554-95.644)	93.312 $\pm$ 3.286	14.211 (-0.025-20.216)	12.153 $\pm$ 9.109	-0.206 (-1.687-1.275)	0.206 $\pm$ 2.094	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	11.239	0.024* 5<1
GA29C (B)	95.082 (93.879-97.681)	95.547 $\pm$ 1.943	97.344 (97.198-97.765)	97.436 $\pm$ 0.294	66.821 (2.295-78.553)	53.622 $\pm$ 34.663	5.063 (-6.131-16.256)	5.063 $\pm$ 15.83	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	12.258	0.016* 5<2
GA89A (C)	87.296 (87.296-87.678)	87.423 $\pm$ 0.221	87.864 (87.864-88.152)	87.96 $\pm$ 0.166	93.525 (69.194-93.589)	87.458 $\pm$ 12.176	68.252 (66.099-70.405)	68.252 $\pm$ 3.045	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	10.576	0.032* 5<3
GA97A (D)	98.522 (97.34-98.818)	98.227 $\pm$ 0.782	71.209 (53.678-72.419)	65.769 $\pm$ 10.488	34.739 (2.063-41.459)	28.25 $\pm$ 8.355	6 (-14.491-26.49)	6 $\pm$ 28.978	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	12.728	0.013* 5<1
GA102 A (E)	94.118 (90.233-98.529)	94.293 $\pm$ 4.151	95.172 (94.118-99.333)	96.208 $\pm$ 2.757	76.218 (5.882-82.717)	60.259 $\pm$ 36.724	22.147 (7.359-36.935)	22.147 $\pm$ 20.913	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	12.545	0.014* 5<2
GA102 B (F)	98.753 (97.745-98.934)	98.477 $\pm$ 0.641	27.265 (25.805-31.041)	28.037 $\pm$ 2.702	1.601 (0.241-1.604)	1.262 $\pm$ 0.681	7.695 (-0.125-15.514)	7.695 $\pm$ 11.058	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	11.957	0.018* 5<1
Test istatistik i	12.053		15.542		16.587		6.000		0.000			
p	0.034*		0.008*		0.005*		0.306		1.000			
Bonferroni	C<F		F<B		F<C		-		-			

Araştırmada L463A için hem bakteri (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) hem de farklı dil. uygulamaları (1. dil, 2. dil, 3. dil, 4. dil) ve kontrol grubu arasında yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, *S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B bakterileri açısından Dil. grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bonferroni analizine göre *S. mutans*, GA97A ve GA102B için kontrol grubunun ölçüm yüzdesi, 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA29C ve GA102A için kontrol grubu, 2. dil grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. GA89A için kontrol grubu, 3. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür.

Dilüsyon gruplarına göre bakteriler arasında yapılan Bonferroni analizine göre 1. dil uygulamasında GA89A bakterisinin değeri, GA102B bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 2. dil uygulamasında GA102B bakterisinin değeri, GA29C bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 3. dil uygulamasında GA102B bakterisinin değeri, GA89A bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 4. dil uygulamasında ve kontrol grubunda bakteriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4. 10. L73/3B suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi

L72/3B													
	1.Dil (1)		2.Dil (2)		3.Dil (3)		4.Dil (4)		Kontrol (5)				
	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	Test istatistiği (X ²)	p	Bonferroni
SMUTANS (A)	94.543 (93.616-95.509)	94.556±0.947	46.108 (45.121-51.747)	17.578±54.372	17.346 (15.17-29.142)	19.751±6.388	3.167 (-2.304-8.637)	3.167±7.736	0 (0-0)	0±0	9.518	0.049*	5<1
GA29C (B)	99.181 (98.559-99.29)	99.01±0.394	78.07 (75.401-89.876)	81.116±7.703	23.15 (7.895-29.723)	20.979±9.328	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0 (0-0)	0±0	13.068	0.011*	5<1
GA89A (C)	71.244 (71.244-71.244)	71.244±0	28.358 (19.303-29.453)	25.705±5.571	23.731 (974.627-37.413)	-222.438±5.01.53	-8.557 (-10.746-6.368)	8.557±3.096	0 (0-0)	0±0	10.082	0.039*	4<1
GA97A (D)	95.062 (90.142-95.932)	93.712±3.122	-30.601 (-31.475-25.926)	-29.334±2.984	-33.175 (-54.321-21.029)	-35.425±14.377	-54.24 (-60.663-47.816)	54.24±9.084	0 (0-0)	0±0	12.103	0.017*	4<1
GA102A (E)	83.099 (62.959-91.592)	79.217±14.706	77.314 (73.132-78.873)	76.44±2.969	42.076 (-25.352-64.96)	30.94±39.048	-27.177 (-34.402-19.951)	27.177±10.218	0 (0-0)	0±0	11.008	0.026*	4<1
GA102B (F)	99.155 (98.215-99.243)	98.871±0.57	64.789 (11.566-73.863)	50.073±33.655	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	7.449 (5.66-9.237)	7.449±2.529	0 (0-0)	0±0	12.670	0.013*	5<1
Test istatistiği	14.956		13.211		8.680		9.846		0.000				
p	0.011*		0.021*		0.123		0.080		1.000				
Bonferroni	C<B		D<B		-		-		-				

Araştırmada L723B için hem bakteri (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) hem de farklı dil. uygulamaları (1. dil, 2. dil, 3. dil, 4. dil) ve kontrol grubu arasında yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, *S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B bakterileri açısından dil. grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bonferroni analizine göre *S. mutans*, GA29C ve GA102B bakterileri için kontrol grubunun ölçüm yüzdeleri, 1. Dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA89A, GA97A ve GA102A bakterileri için 4. dil grubunun ölçüm yüzdeleri, 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür.

Dilüsyon gruplarına göre bakteriler arasında yapılan Bonferroni analizine göre 1. dil uygulamasında GA89A bakterisinin ölçüm yüzdesi, GA29C bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 2. dil uygulamasında GA97A bakterisinin değeri, GA29C

bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 3. dil, 4. dil ve kontrol grubunda bakteriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4. 11. GL80A suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi

GL80A													
	1.Dil (1)		2.Dil (2)		3.Dil (3)		4.Dil (4)		Kontrol (5)				
	M. (Min.- Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.- Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.- Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.- Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.- Maks.)	Ort. ±Ss.	Test istati stiği (X ²)	p	Bonf erron i
SMUTA NS (A)	98.261 (94.186- 99.977)	97.475± 2.975	98.953 (97.809- 99.015)	98.592± 0.679	3.489 (0.151- 15.904)	5.758±7. 009	9.702 (1.194- 18.21)	9.702±1 2.032	0 (0-0)	0±0	12.28 4	0.015 *	5<1; 5<2
GA29C (B)	99.849 (99.445-99.9)	99.731± 0.249	99.759 (99.707- 99.982)	99.816± 0.146	80.275 (4.518- 95.247)	65.079± 41.027	0.132 (-5.669- 5.933)	0.132±8. 204	0 (0-0)	0±0	12.05 7	0.017 *	5<2
GA89A (C)	79.231 (79.231- 79.231)	79.231± 0	80.769 (55.577- 97.115)	77.82±2 0.925	49.231 (1.28- 75.385)	43.782± 37.562	5.962 (3.462- 8.462)	5.962±3. 536	0 (0-0)	0±0	11.47 6	0.022 *	5<1; 5<2
GA97A (D)	99.205 (97.816- 99.377)	98.799± 0.856	99.432 (99.388- 99.706)	99.509± 0.172	93.174 (75- 93.188)	88.634± 9.089	75.289 (72.824- 77.753)	75.289± 3.485	0 (0-0)	0±0	13.25 7	0.010 *	5<2
GA102 A (E)	99.143 (98.825- 99.832)	99.267± 0.515	98.286 (98.147- 98.571)	98.335± 0.216	79.792 (28.571-99.2)	71.839± 30.262	44.818 (20.21- 69.425)	44.818± 34.8	0 (0-0)	0±0	11.29 7	0.023 *	5<1
GA102 B (F)	98.824 (98.681- 99.515)	99.007± 0.446	41.176 (33.333- 92.211)	55.573± 31.971	12.941 (3.416- 33.333)	15.658± 13.182	12.567 (3.416- 21.718)	12.567± 12.941	0 (0-0)	0±0	12.76 0	0.013 *	5<1
Test istatiği	9.906		15.830		13.376		7.692		0.000				
p	0.078		0.007*		0.020*		0.174		1.000				
Bonferroni	-		F<B		A<D		-		-				

Araştırmada GL80A için hem bakteri (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) hem de farklı dil. uygulamaları (1. dil, 2. dil, 3. dil, 4. dil) ve kontrol grubu arasında yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, *S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B bakterileri açısından dil. grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bonferroni analizine göre *S. mutans* ve GA89A için kontrol grubunun ölçüm yüzdesi, 1. dil ve 2. dil gruplarına göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA29C ve GA97A için kontrol grubu, 2. dil grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. GA102A ve

GA102B için kontrol grubunun ölçüm yüzdesi, 1. dil grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür.

Dilüsyon gruplarına göre bakteriler arasında yapılan Bonferroni analizine göre 2. dil uygulamasında GA102B bakterisinin ölçüm yüzdesi, GA29C bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 3. dil uygulamasında *S. mutans* bakterisinin değeri, GA97A bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 1. dil, 4. dil ve kontrol grubunda bakteriler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4. 12. GA94F suşunun karyojenik suşlara karşı etkinliğinin istatistiksel analizi

GA94F													
	1.Dil (1)		2.Dil (2)		3.Dil (3)		4.Dil (4)		Kontrol (5)				
	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. $\pm$ Ss.	Test istatistik değeri (X ²)	p	Bonferroni
SMUTANS (A)	81.203 (50.509-83.172)	71.628 $\pm$ 18.316	23.854 (23.771-23.854)	23.826 $\pm$ 0.048	5.302 (3.759-12.16)	6.631 $\pm$ 3.802	1.679 (-2.839-6.196)	1.679 $\pm$ 6.389	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	12.146	0.016*	5<1
GA29C (B)	98.892 (98.539-100.344)	99.258 $\pm$ 0.957	7.756 (1.067-7.834)	5.552 $\pm$ 3.885	6.217 (-0.541-7.202)	4.774 $\pm$ 3.616	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346 $\pm$ 9.913	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	9.711	0.046*	5<1
GA89A (C)	87.186 (87.099-87.186)	87.157 $\pm$ 0.05	44.88 (44.88-50.617)	46.792 $\pm$ 3.312	-5.556 (-12.753-3.311)	5.138 $\pm$ 8.601	-13.182 (-21.704-4.66)	13.182 $\pm$ 12.052	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	11.751	0.019*	4<1
GA97A (D)	97.241 (60.38-97.432)	85.018 $\pm$ 21.337	50.851 (43.115-51.724)	48.563 $\pm$ 4.739	46.138 (38.877-59.979)	47.783 $\pm$ 8.993	43.387 (41.66-45.113)	43.387 $\pm$ 2.442	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	11.255	0.024*	5<1
GA102A (E)	98.913 (96.602-100.329)	98.615 $\pm$ 1.881	58.763 (57.946-61.957)	59.555 $\pm$ 2.12	-18.441 (-25-13.438)	12.111 $\pm$ 17.665	-30.592 (-50.908-10.275)	30.592 $\pm$ 28.732	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	11.935	0.018*	3<1
GA102B (F)	99.155 (98.819-100.137)	99.37 $\pm$ 0.685	87.919 (82.886-90.813)	87.206 $\pm$ 4.011	56.493 (17.151-62.025)	48.04 $\pm$ 2.1215	4.709 (-44.712-54.129)	4.709 $\pm$ 9.891	0 (0-0)	0 $\pm$ 0	12.388	0.015*	5<1
Test istatistik değeri	12.756		16.191		17.890		5.769		0.000				
p	0.026*		0.006*		0.003*		0.329		1.000				
Bonferroni	A<F		B<F; C<F		C<F; E<F		-		-				

Araştırmada GA94F için hem bakteri (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) hem de farklı dil. uygulamaları (1. dil, 2. dil, 3. dil, 4. dil) ve kontrol grubu arasında yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı, normal dağılıma sahip olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, Smutans, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B bakterileri açısından Dil. grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir

(p<0.05). Bonferroni analizine göre *S. mutans*, GA29C, GA97A ve GA102B için kontrol grubunun ölçüm yüzdesi, 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA89A için 4. dil grubunun yüzdesi, 1. dil grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA102A için 3. dil grubunun yüzdesi, 1. dil grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür.

Dilüsyon gruplarına göre bakteriler arasında yapılan Bonferroni analizine göre 1. dil uygulamasında, *S.mutans* bakterisinin yüzdesi, GA102B bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 2. dil uygulamasında, GA29C ve GA89A bakterilerinin yüzdesi, GA102B bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 3. dil uygulamasında, GA89A ve GA102A bakterilerinin yüzdesi, GA102B bakterisine göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 4. dil ve kontrol gruplarında bakteriler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p > 0.05).

Tablo 4. 13. Dilüsyonlara göre her suş için postbiyotik etkinliğinin istatistiksel analizi

		L1212C (1)		GL36H (2)		L463A (3)		L723B (4)		GL80A (5)		GA94F (6)		Test istatistigi (X ²)	p	Bonferroni
		M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.	M. (Min.-Maks.)	Ort. ±Ss.			
1. Dil	SMU TAN S	99.458 (99.354-100.429)	99.747 ±0.593	98.095 (97.187-98.34)	97.874 ±0.607	96.842 (93.093-97.354)	95.763 ±2.326	94.543 (93.616-95.509)	94.556±0.947	98.261 (94.186-99.977)	97.475 ±2.975	81.203 (50.509-83.172)	71.628 ±18.31	13.234	0.0	6<1
	GA2	100.215 (99.647-100.369)	100.07 ±0.38	99.938 (99.828-99.989)	99.918 ±0.082	95.082 (93.879-97.681)	95.547 ±1.943	99.181 (98.559-99.29)	99.01±0.394	99.849 (99.445-99.9)	99.731 ±0.249	98.892 (98.539-100.344)	99.258 ±0.957	11.503	0.0	3<1
	GA8	84.24 (82.5-84.24)	83.66±1.005	92.991 (87.741-93)	91.244 ±3.034	87.296 (87.296-87.678)	87.423 ±0.221	71.244 (71.244-71.244)	71.244±0	79.231 (79.231-79.231)	79.231 ±0	87.186 (87.099-87.186)	87.157 ±0.05	16.769	0.0	4<2
	GA9	97.09 (88.889-99.854)	95.278 ±5.703	98.766 (98.667-99.846)	99.093 ±0.654	98.522 (97.34-98.818)	98.227 ±0.782	95.062 (90.142-95.932)	93.712±3.122	99.205 (97.816-99.377)	98.799 ±0.856	97.241 (60.38-97.432)	85.018 ±21.33	9.000	0.1	-
	GA1	97.96 (96.046-98.75)	97.587 ±1.391	98.846 (97.806-99.009)	98.554 ±0.653	94.118 (90.233-98.529)	94.293 ±4.151	91.592 (62.959-91.592)	79.217±14.706	99.143 (98.825-99.832)	99.267 ±0.515	98.915 (96.602-100.329)	98.615 ±1.881	11.901	0.0	4<5
	GA1	97.224 (95.283-99.765)	97.424 ±2.248	99.914 (99.789-99.927)	99.877 ±0.076	98.753 (97.745-98.934)	98.477 ±0.641	99.155 (98.215-99.243)	98.871±0.57	98.824 (98.681-99.515)	99.007 ±0.446	99.155 (98.819-100.137)	99.37±0.685	7.985	0.1	-
	SMU TAN S	83.006 (79.975-84.529)	82.503 ±2.318	97.143 (95.972-98.037)	97.051 ±1.036	94.737 (89.554-95.644)	93.312 ±3.286	46.108 (-45.121-91.592)	17.578±54.372	98.592 (97.809-99.023)	98.592 ±0.679	23.854 (23.771-23.854)	23.826 ±0.048	15.987	0.0	6<5
	GA2	91.125 (83.843-92.169)	89.046 ±4.536	99.834 (99.752-99.855)	99.814 ±0.054	97.344 (97.198-97.765)	97.436 ±0.294	78.07 (75.401-80.765)	81.116±7.703	99.759 (99.707-99.803)	99.816 ±0.146	7.756 (1.067-7.834)	5.552±3.885	15.924	0.0	6<2; 6<5
	GA8	57.095 (50.813-62.5)	56.803 ±5.849	89.888 (88-91.076)	89.655 ±1.551	87.864 (88.152)	87.96±0.166	28.358 (19.303-29.453)	25.705±5.571	99.231 (99.707-99.803)	99.816 ±0.146	44.88 (44.88-50.617)	46.792 ±3.512	14.550	0.0	4<2
	GA9	45.386 (44.444-46.361)	45.397 ±0.959	99.917 (99.916-99.969)	99.934 ±0.03	71.209 (53.678-72.419)	65.769 ±10.48	-30.601 (-25.926)	-	99.432 (99.388-99.700)	99.509 ±0.172	50.851 (43.115-51.724)	48.563 ±4.739	16.158	0.0	4<2
	GA1	79.772 (72.465-87.5)	79.912 ±7.318	96.154 (96.121-96.565)	96.28±0.247	95.172 (94.118-99.333)	96.208 ±2.757	77.314 (73.132-78.873)	76.44±2.969	98.285 (98.147-98.571)	98.335 ±0.216	58.762 (57.946-61.957)	59.555 ±2.12	14.895	0.0	6<5
2. Dil	GA1	32.815 (27.586-34.99)	31.797 ±3.806	97.833 (97.578-97.941)	97.784 ±0.186	27.265 (25.805-31.041)	28.037 ±2.702	64.789 (11.566-73.863)	50.073±33.655	41.176 (33.333-32.211)	55.573 ±31.97	87.919 (82.886-90.813)	87.206 ±4.011	13.070	0.0	3<2
	SMU TAN S	-34.483 (-50.478-0.561)	29.721 ±22.36	96.12 (95.095-97.619)	96.238 ±1.334	14.211 (-0.025-20.216)	12.153 ±9.109	17.346 (15.17-29.142)	19.751±6.388	3.489 (0.151-15.904)	5.758±7.009	5.302 (3.759-12.16)	6.631±3.802	18.110	0.0	1<2
	GA2	-4.09 (-6.749-2.509)	4.359±1.961	99.524 (98.87-99.692)	99.403 ±0.381	66.821 (2.295-78.553)	53.622 ±34.66	23.15 (7.895-29.723)	20.979±9.328	80.275 (4.518-95.247)	65.079 ±41.02	6.217 (-0.541-7.202)	4.774±3.616	18.590	0.0	6<2
	GA8	62.5 (26.921-90.850)	60.695 ±26.18	89.536 (86-91.707)	89.195 ±2.726	93.525 (69.194-93.589)	87.458 ±12.17	23.731 (-12.17-37.175)	-	49.231 (1.28-75.385)	43.782 ±37.56	-5.556 (-12.753-3.111)	-	17.395	0.0	6<3
	GA9	33.15 (22.13-33.333)	30.441 ±5.543	98.632 (98.333-99.676)	98.818 ±0.634	34.739 (2.063-41.459)	28.25±18.355	-33.175 (-21.029)	35.425±14.377	93.174 (75-93.188)	88.634 ±9.089	46.138 (39.877-58.979)	47.783 ±8.993	21.359	0.1	4<5
	GA1	70.547 (25-77.494)	60.897 ±24.42	96.652 (96.387-99.615)	97.327 ±1.534	76.218 (5.882-82.717)	60.259 ±36.72	42.076 (-5.882-64.96)	30.94±3.9048	79.792 (28.571-99.2)	71.839 ±30.26	-18.441 (-25-13.438)	12.111 ±17.66	15.900	0.0	6<2
	GA1	27.504 (27.467-43.642)	31.529 ±8.075	98.721 (58.984-99.961)	99.814 ±0.210	1.601 (0.241-1.604)	1.262±0.681	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	12.941 (3.416-33.333)	15.658 ±13.18	56.493 (17.151-62.025)	48.04±21.215	16.985	0.0	3<2
	SMU TAN S	-57.118 (-65.01-49.226)	57.118 ±11.6	96.882 (96.810)	96.882 ±1.607	-0.206 (-1.687-1.275)	-0.206±2.094	3.167 (-1.687-8.637)	3.167±7.736	9.702 (1.194-18.21)	9.702±12.032	1.679 (-2.839-6.196)	1.679±6.389	8.231	0.1	-
	GA2	-6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	99.814 (99.641-99.986)	99.814 ±0.244	5.063 (-6.131-16.256)	5.063±15.83	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0.132 (-5.669-5.933)	0.132±8.204	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346±9.913	8.077	0.1	-
	GA8	65.059 (65.059-65.059)	65.059 ±0	93.829 (90.814-96.843)	93.829 ±4.263	68.252 (66.099-70.405)	68.252 ±3.045	-8.557 (-10.746-6.368)	-	5.962 (3.462-8.462)	5.962±3.536	-13.182 (-21.704-4.66)	13.182 ±12.05	10.498	0.0	-
	GA1	27.504 (27.467-43.642)	31.529 ±8.075	98.721 (58.984-99.961)	99.814 ±0.210	1.601 (0.241-1.604)	1.262±0.681	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	12.941 (3.416-33.333)	15.658 ±13.18	56.493 (17.151-62.025)	48.04±21.215	16.985	0.0	3<2
3. Dil	SMU TAN S	-57.118 (-65.01-49.226)	57.118 ±11.6	96.882 (96.810)	96.882 ±1.607	-0.206 (-1.687-1.275)	-0.206±2.094	3.167 (-1.687-8.637)	3.167±7.736	9.702 (1.194-18.21)	9.702±12.032	1.679 (-2.839-6.196)	1.679±6.389	8.231	0.1	-
	GA2	-6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	99.814 (99.641-99.986)	99.814 ±0.244	5.063 (-6.131-16.256)	5.063±15.83	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0.132 (-5.669-5.933)	0.132±8.204	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346±9.913	8.077	0.1	-
	GA8	65.059 (65.059-65.059)	65.059 ±0	93.829 (90.814-96.843)	93.829 ±4.263	68.252 (66.099-70.405)	68.252 ±3.045	-8.557 (-10.746-6.368)	-	5.962 (3.462-8.462)	5.962±3.536	-13.182 (-21.704-4.66)	13.182 ±12.05	10.498	0.0	-
	GA1	27.504 (27.467-43.642)	31.529 ±8.075	98.721 (58.984-99.961)	99.814 ±0.210	1.601 (0.241-1.604)	1.262±0.681	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	12.941 (3.416-33.333)	15.658 ±13.18	56.493 (17.151-62.025)	48.04±21.215	16.985	0.0	3<2
	SMU TAN S	-57.118 (-65.01-49.226)	57.118 ±11.6	96.882 (96.810)	96.882 ±1.607	-0.206 (-1.687-1.275)	-0.206±2.094	3.167 (-1.687-8.637)	3.167±7.736	9.702 (1.194-18.21)	9.702±12.032	1.679 (-2.839-6.196)	1.679±6.389	8.231	0.1	-
	GA2	-6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	99.814 (99.641-99.986)	99.814 ±0.244	5.063 (-6.131-16.256)	5.063±15.83	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0.132 (-5.669-5.933)	0.132±8.204	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346±9.913	8.077	0.1	-
	GA8	65.059 (65.059-65.059)	65.059 ±0	93.829 (90.814-96.843)	93.829 ±4.263	68.252 (66.099-70.405)	68.252 ±3.045	-8.557 (-10.746-6.368)	-	5.962 (3.462-8.462)	5.962±3.536	-13.182 (-21.704-4.66)	13.182 ±12.05	10.498	0.0	-
	GA1	27.504 (27.467-43.642)	31.529 ±8.075	98.721 (58.984-99.961)	99.814 ±0.210	1.601 (0.241-1.604)	1.262±0.681	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	12.941 (3.416-33.333)	15.658 ±13.18	56.493 (17.151-62.025)	48.04±21.215	16.985	0.0	3<2
	SMU TAN S	-57.118 (-65.01-49.226)	57.118 ±11.6	96.882 (96.810)	96.882 ±1.607	-0.206 (-1.687-1.275)	-0.206±2.094	3.167 (-1.687-8.637)	3.167±7.736	9.702 (1.194-18.21)	9.702±12.032	1.679 (-2.839-6.196)	1.679±6.389	8.231	0.1	-
	GA2	-6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	99.814 (99.641-99.986)	99.814 ±0.244	5.063 (-6.131-16.256)	5.063±15.83	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0.132 (-5.669-5.933)	0.132±8.204	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346±9.913	8.077	0.1	-
	4. Dil	GA8	65.059 (65.059-65.059)	65.059 ±0	93.829 (90.814-96.843)	93.829 ±4.263	68.252 (66.099-70.405)	68.252 ±3.045	-8.557 (-10.746-6.368)	-	5.962 (3.462-8.462)	5.962±3.536	-13.182 (-21.704-4.66)	13.182 ±12.05	10.498	0.0
GA1		27.504 (27.467-43.642)	31.529 ±8.075	98.721 (58.984-99.961)	99.814 ±0.210	1.601 (0.241-1.604)	1.262±0.681	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	12.941 (3.416-33.333)	15.658 ±13.18	56.493 (17.151-62.025)	48.04±21.215	16.985	0.0	3<2
SMU TAN S		-57.118 (-65.01-49.226)	57.118 ±11.6	96.882 (96.810)	96.882 ±1.607	-0.206 (-1.687-1.275)	-0.206±2.094	3.167 (-1.687-8.637)	3.167±7.736	9.702 (1.194-18.21)	9.702±12.032	1.679 (-2.839-6.196)	1.679±6.389	8.231	0.1	-
GA2		-6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	99.814 (99.641-99.986)	99.814 ±0.244	5.063 (-6.131-16.256)	5.063±15.83	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0.132 (-5.669-5.933)	0.132±8.204	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346±9.913	8.077	0.1	-
GA8		65.059 (65.059-65.059)	65.059 ±0	93.829 (90.814-96.843)	93.829 ±4.263	68.252 (66.099-70.405)	68.252 ±3.045	-8.557 (-10.746-6.368)	-	5.962 (3.462-8.462)	5.962±3.536	-13.182 (-21.704-4.66)	13.182 ±12.05	10.498	0.0	-
GA1		27.504 (27.467-43.642)	31.529 ±8.075	98.721 (58.984-99.961)	99.814 ±0.210	1.601 (0.241-1.604)	1.262±0.681	19.868 (10.423-69.856)	30.004±27.778	12.941 (3.416-33.333)	15.658 ±13.18	56.493 (17.151-62.025)	48.04±21.215	16.985	0.0	3<2
SMU TAN S		-57.118 (-65.01-49.226)	57.118 ±11.6	96.882 (96.810)	96.882 ±1.607	-0.206 (-1.687-1.275)	-0.206±2.094	3.167 (-1.687-8.637)	3.167±7.736	9.702 (1.194-18.21)	9.702±12.032	1.679 (-2.839-6.196)	1.679±6.389	8.231	0.1	-
GA2		-6.514 (-6.766-6.262)	6.514±0.356	99.814 (99.641-99.986)	99.814 ±0.244	5.063 (-6.131-16.256)	5.063±15.83	8.928 (8.116-9.74)	8.928±1.148	0.132 (-5.669-5.933)	0.132±8.204	-0.346 (-7.355-6.664)	0.346±9.913	8.077	0.1	-

GA9 7A	35.145 (35.145- 35.145)	35.145 ±0	98.194 (97.534- 98.854)	98.194 ±0.933	6 (-14.491- 26.49)	6±28.9 78	-54.24 (- 60.663- 47.816)	- 54.24±9 .084	75.289 (72.824- 77.753)	75.289 ±3.485	43.387 (41.66- 45.113)	43.387 ±2.442	10.807	0.0 55	-
GA1 02A	30.662 (29.03- 32.293)	30.662 ±2.307	99.58 (99.486- 99.674)	99.58± 0.133	22.147 (7.359- 36.935)	22.147 ±20.91 3	-27.177 (- 34.402- 19.951)	- 27.177± 10.218	44.818 (20.21- 69.425)	44.818 ±34.8	-30.592 (- 50.908- 10.275)	- 30.592 ±28.73 2	9.308	0.0 97	-
GA1 02B	43.549 (43.549- 43.549)	43.549 ±0	37.579 (3.275- 71.883)	37.579 ±48.51 3	7.695 (- 0.125- 15.514)	7.695± 11.058	7.449 (5.66- 9.237)	7.449±2 .529	12.567 (3.416- 21.718)	12.567 ±12.94 1	4.709 (- 44.712- 54.129)	4.709± 69.891	2.393	0.7 93	-

Araştırmada dil. uygulamalarına göre her bir bakteri açısından farklı postbiyotik grupları (L1212C, GL36H, L463A, L723B, GL80A, GA94F) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir.

Analiz sonucuna göre 1.dil için *S. mutans*, GA29C, GA89A ve GA102A bakterileri açısından probiyotik grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$). GA97A ve GA102B bakterileri açısından ise anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Bonferroni analizine göre *S. mutans* bakterisi açısından GA94F grubunun yüzde değeri, L1212C grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA29C bakterisi için L463A grubunun değeri, L1212C grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. GA89A bakterisi açısından L723B grubunun değeri, GL36H grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. GA102A bakterisi için L723B grubunun değeri, GL80A grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür.

2. dil uygulamasında tüm bakteriler (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) açısından probiyotikler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$). Bonferroni analizine göre *S. mutans* bakterisi için GA94F grubu, GL80A grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük ölçüm değerine sahiptir. GA29C bakterisinde GA94F grubunun ölçüm değeri, GL36H ve GL80A gruplarına göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA89A bakterisi için L723B grubunun değeri, GL36H grubuna göre daha düşüktür. GA97A bakterisi için L723B grubunun değeri, GL36H grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA102A bakterisinde GA94F grubunun ölçüm değeri, GL80A grubuna göre daha düşüktür. GA102B bakterisi açısından L463A grubunun ölçüm değeri, GL36H grubuna göre daha düşüktür.

3. Dil uygulamasında tüm bakteriler (*S. mutans*, GA29C, GA89A, GA97A, GA102A ve GA102B) açısından probiyotikler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bonferroni analizine göre: *Smutans* için L1212C grubunun ölçüm değeri, GL36H grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA29C için GA94F ve L1212C gruplarının ölçüm değerleri, GL36H grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA89A açısından GA94F grubunun ölçüm değeri, L463A ve GL36H gruplarına göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA97A için L723B grubunun ölçüm değeri, GL36H ve GA94F gruplarına göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. GA102A bakterisinde GA94F grubunun değeri, GL36H grubuna göre daha düşüktür. GA102B açısından L463A grubunun ölçüm değeri, GL36H grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür.

4. dil uygulamasında her bir bakteri türü açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Çalışmadan elde edilen bulgular hem ticari olarak temin edilen hem de laboratuvar ortamında üretilen postbiyotiklerin, biyofilm oluşumunu anlamlı düzeyde inhibe ettiğini gösterdi. Çalışma bulgularına göre başlangıçta belirlenen hipotezlerden “H₀: Süt dişlerindeki karyojenik bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapının engellenmesinde postbiyotiklerin etkinliği yoktur” hipotezi reddedilmiş, “H₁: Süt dişlerindeki karyojenik bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapının engellenmesinde postbiyotiklerin etkinliği vardır” hipotezi kabul edilmiştir.

Mevcut çalışma kapsamında çekilmiş çürüklü süt dişlerinden elde edilen karyojenik bakterilerin mikrobiyolojik olarak petri görüntüleri ve gram boyama ile tanımlamaları yapılarak Kongo kırmızısı agar ve mikropilaka yöntemiyle biyofilm oluşturma potansiyelleri belirlendi. Biyofilm oluşturma potansiyeli fazla olan streptokok suşları GL102B, GA102A, GA75B, GA101E, GA60A, GA54C, GA56A*, GL81F, GA29C ve GL101H olarak bulundu. . Biyofilm üretim potansiyeli yüksek olan laktobasil suşları ise GL25B, GL28F, GL34G, GL40XD, GL45C, GL53E, GL60B, GL94E, GL100G, L14/2A olarak bulundu. Biyofilm üretim potansiyeli fazla olan suşlara agar plug metodu uygulandı ve en iyi biyofilm yapan streptokok suşları GL102B, GA102A, GA29C; en iyi biyofilm yapan laktobasil suşları GL25B, GL60B, GL94E bulundu. Biyofilm üretimi minimum olan suşlar ise ticari olarak elde edilen probiyotik suşlar gibi kullanılıp postbiyotik eldesi yapılarak biyofilm inhibisyon testlerinde kullanıldı. En az biyofilm oluşturan(karyojenik bakterilerin üremesini en iyi engelleyen) suşlardan laktobasil suşları GL36H, GL80A, L46/3A, L146/3A, L72/3B, L121/2C; streptokok suşu ise GA94F bulundu. Bu suşlardan elde edilen postbiyotikler biyofilm oluşturma potansiyeli en yüksek olan bakterilere uygulandı ve elde edilen verilere göre bu postbiyotik suşların biyofilm oluşumunu engelleme yüzdeleri belirlendi. Çalışma

sonucuna göre L121/2C postbiyotiğinin biyofilm inhibisyonunun en fazla GA29C suşunda etkili olduğu bulunmuştur. GL36H suşu hazır olarak temin edilmiş ticari postbiyotik suşu olmayıp çekilmiş süt dışından elde edilen bakterilerden oluşturulmuş bir postbiyotik suşudur ve bu postbiyotik incelenen tüm karyojenik bakterilere yüksek oranda etkili bulundu. Biyofilm ihhibisyon yüzdeleri minimum %89 ve üzeri değerlerde bulundu. L46/3A postbiyotiğinin 1. dilüsyonda en etkili inhibe ettiği suş GA102B olarak bulundu. L72/3B postbiyotiğinin 1. ve 2. dilüsyonlarda en yüksek inhibisyon yüzdesine sahip suşu GA29C olarak bulundu. GL80A postbiyotiğinin 1. dilüsyonda inhibisyon yüzdeleri tüm karyojenik bakterilerde yüksekken 2. Dilüsyonda GA102B nin yüzdesi GA29Cye göre anlamlı derecede düşük bulundu. GA94F postbiyotiğinin biyofilm inhibisyon yüzdesi en fazla GA102B suşunda bulundu. Genel olarak tüm gruplarda 1. dilüsyonlarda biyofilm inhibisyon yüzde değerleri en yüksekken 2. ve 3. dilüsyonlarda yüzde değerleri azaldı. 4. dilüsyon ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Tüm dilüsyonlarda inhibisyon değerlerinin en yüksek olduğu postbiyotik suşu süt dışının kendisinden elde edilen bir suş olan GL36H suşu olarak bulundu.

Diş çürüğü, mikrobiyal dental biyofilmin metabolik faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan ve dişin sert dokularında geri dönüşü olmayan mineral kaybı ile seyreden, çok faktörlü etiyojolojiye sahip oral bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar, *S. mutans*' ın asidojenik ve asidürik özellikleri nedeniyle biyofilm içinde baskın kariyojenik bakteri olarak öne çıktığını göstermektedir. Bu mikroorganizma, glukoziltransferaz enzimleri aracılığıyla ürettiği çözünmeyen ekstraselüler polisakkaritler sayesinde diş yüzeyine tutunmayı kolaylaştırmakta ve diğer bakterilerin yerleşimi için uygun bir biyofilm matrisi oluşturmaktadır.¹³² *Lactobacillus* türleri, erken dönem çürük lezyonlarında baskın mikroorganizmalar arasında bulunmasa da, düşük pH ortamlarına karşı yüksek tolerans göstermeleri ve dentin gibi daha derin dental dokularda çoğalabilme yetenekleri

nedeniyle çürüğün ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır.¹³³ Bu bakteriler, oluşturdukları asidik mikrosistem aracılığıyla dentin dokusunda mineral kaybını artırarak çürüğün derin dokulara ilerlemesine neden olmaktadır. Öte yandan, *S. aureus* genellikle deri ve mukozal yüzeylerde patojen olarak tanımlansa da, bazı araştırmalar bu bakterinin ağız florasında da bulunabildiğini ortaya koymuştur. Özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde veya ağız içi protez ve ortodontik aparey kullanan hastalarda biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir.¹³⁴ Literatürde, bu bakterilerin biyofilm oluşturma yetenekleri farklı yöntemlerle değerlendirilmiştir. Nascimento ve çalışma arkadaşlarının yürüttüğü bir araştırmada¹³⁵, *S. mutans* 'ın mono- ve disakkarit varlığında biyofilm yoğunluğunun arttığı; ayrıca glukoziltransferaz enzim üretiminin biyofilm matrisinin yapısal dayanıklılığını desteklediği belirlenmiştir. Öte yandan, *L. acidophilus* 'un yüksek düzeyde laktik asit üretme kapasitesi nedeniyle, dentin lezyonlarında sık rastlanan mikroorganizmalar arasında yer aldığı bildirilmiştir.¹³⁶ *S. aureus* 'un, protein bakımından zengin kültür ortamlarında ekstraselüler polisakkarit (EPS) sentezini artırarak diş plağı üzerinde kalıcı koloniler oluşturabildiği gösterilmiştir. Bu özelliği, özellikle sert yüzeylere başta diş yüzeyi olmak üzere tutunmasını kolaylaştırmakta ve oral mikrobiyotada fırsatçı bir patojen olarak yer almasına zemin hazırlamaktadır.¹³⁷ Elde edilen bulgular, dental biyofilm oluşumunun yalnızca tek bir patojenin etkisiyle değil, farklı mikroorganizma türleri arasındaki sinerjik etkileşimler sonucunda meydana geldiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, postbiyotik uygulamaların söz konusu kompleks mikrobiyal yapıyı hedef alacak şekilde planlanması gerektiğini göstermektedir. Bu sebeple mevcut çalışmada da *S. mutans*, *L. acidophilus*, *S. aureus* olmak üzere üç çeşit bakterinin biyofilm oluşturma ve biyofilmi engelleme etkinliği incelenmiştir.

İnsanlar üzerinde en çok incelenen biyofilmlerden biri olan dental biyofilm ve buna bağlı bulaşıcı hastalıkların kontrolü, önemli bir küresel sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir.^{138, 139} Bu nedenle, özellikle güçlü biyofilm oluşturan bakterilerin kontrolüne yönelik geliştirilecek yeni stratejilerin, toplam karyojenik biyofilm miktarını azaltmaya odaklanması önerilmektedir.

Diş çürüğünün önlenmesinde uzun süredir florür, klorheksidin ve triklosan gibi kimyasal antimikrobiyal ajanlar yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu maddeler, bakteriyel metabolizmayı baskılayarak, plak oluşumunu azaltarak ve mine yüzeyini güçlendirerek çürük gelişimini engellemektedir. Ancak, uzun süreli kullanımlarda tat bozukluğu, mukozal irritasyon ve diş taşı artışı gibi yan etkiler bildirilmiş; ayrıca bazı patojenlerde direnç gelişimi rapor edilmiştir.¹⁴⁰ Bu durum, daha güvenli ve hedefe yönelik alternatif ajanlara duyulan ihtiyacı ortaya koymuştur. Kimyasal maddelerin yan etkilerinin yaygın olması nedeniyle, son çalışmalar doğal bileşiklerin *S. mutans*'ın canlı hücre sayısını ve biyofilm oluşumunu azaltarak diş çürüklerini önlemedeki etkinliğine odaklanmıştır.¹⁰⁴ Bitkilerden elde edilen fito-kimyasallar diş çürüğünün önlenmesinde etkili sonuçlar vermektedir, birçok bitki bazlı ajanın insan hücrelerinde toksik etkiler gösterebildiği bildirilmektedir.¹⁴¹ Bu bağlamda, yeni ve etkili doğal bileşikler de dâhil olmak üzere fonksiyonel antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine yönelik karşılanmamış bir ihtiyaç devam etmektedir. Son yıllarda bitkisel kökenli antimikrobiyal bileşiklere olan ilgi artmış; kateşin, kurkumin, karvakrol, öjenol ve timol gibi fitokimyasalların, özellikle *S. mutans* başta olmak üzere birçok karyojenik bakteriye karşı antibiyotik benzeri etkiler gösterdiği bildirilmiştir.⁵¹ Bu ajanlar, hücre duvarının yıkımı, zar geçirgenliğinin artışı, glukoziltransferaz enzim aktivitesinin inhibisyonu ve EPS üretiminin azalması gibi mekanizmalarla biyofilm oluşumunu engellemektedir. Ancak, bu bileşiklerin düşük çözünürlük, sınırlı biyoyararlanım ve doku penetrasyonu gibi kısıtlamaları

bulunmaktadır. Bu nedenle, fitokimyasallar genellikle tek başına değil, destekleyici ajanlar veya taşıyıcı sistemlerle birlikte kullanılmaktadır.¹⁴² Son yıllarda, diş çürüğünün önlenmesine yönelik olarak belirli probiyotiklerin kullanımı giderek artan bir ilgi görmektedir. Bu kapsamda, pek çok mikroorganizma karyojenik patojenlere karşı sahip oldukları antibakteriyel, antibiyofilm ve antioksidan etkiler açısından araştırılmıştır.¹⁴³

Inchingolo ve arkadaşları¹⁴⁴ tarafından probiyotiklerin ağız hastalıklarının tedavisinde kullanılmasının, ağız mikrobiyal dengeyi yeniden sağladığı ve diş plağı ve tükürükteki *S. mutans* seviyelerini azalttığı bulunmuştur. Lin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya göre¹⁴⁵ probiyotik laktobasillerin aktif çürük hastalığı olan çocuklardan izole edilen 12 *S. mutans*'tan en az dördünün büyümesi ve inhibisyonu üzerinde bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmada farklı streptokok suşlarının farklı karyojenik potansiyele sahip olduğu literatür bilgisine dayanarak klinik streptokok suşları kullanılmıştır.¹⁴⁶ Probiyotiklerin ve dolayısıyla postbiyotiklerin klinik olarak izole edilmiş streptokok suşları üzerindeki etkisini anlamak, çocuklarda çürüklerin önlenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Mevcut çalışmada da hem klinik hem ticari olarak elde edilmiş laktobasil ve streptokok suşları kullanıldı. Mattsson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada¹⁴⁷ deneklerin kendi *Lactobacillus*'larının *S. mutans* üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışma deneklerin ağız boşluğundan izole edilen *Lactobacillus*'un *S. mutans*' ın büyümesini etkili bir şekilde engelleyebileceğini göstermiştir. Mevcut çalışmada da örnek çalışmayla benzer sonuçlara ulaşıldı. Bu çalışmadan farklı ve ek olarak hem klinik olarak elde edilen hem de ticari olarak elde edilen laktobasil suşları karşılaştırıldığında klinik olarak insan süt dişinden elde edilen laktobasil postbiyotiğinin karyojenik bakterilere karşı biyofilm inhibisyon yüzdesi ticari olarak elde edilen laktobasil suşlarına göre daha yüksek bulundu.

Laktobasiller, bir asırdan uzun süredir insan diş çürüklerine önemli katkıda bulunanlar olarak kabul edilmektedir. Son in vitro model çalışmaları, insan diş çürüğünün temel patojeni olan *S. mutans* ile karşılaştırıldığında, laktobasillerin biyofilm oluşturma yeteneğinin zayıf olduğunu göstermiştir. Wen ve ark. yaptığı çalışma¹⁴⁸ laktik asit bakterilerinin dişlere karşı nispeten düşük bir afinitesi olduğunu ve in vitro biyofilm oluşturma yeteneklerinin *S. mutans*' ınkinden daha zayıf olduğunu göstermiştir.

Lactobacillus genellikle protein açısından zengin olan ve patojen yapışmasını önemli ölçüde engelleyebilen surfaktin tipi biyosüpfaktanlar üretir ve bu da onları benzersiz yapışma önleyici ve biyofilm önleyici özellikleri nedeniyle giderek daha da ilgi çekici hale getirir.¹⁴⁹ Örneğin, Ciandrini, E. ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada¹⁵⁰ *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* DDS-1, *L. rhamnosus* ATCC 53103 ve *L. paracasei* B21060 tarafından üretilen biyosüpfaktanların, titanyum yüzeylerde *S. mutans* ve *Streptococcus oralis* yapışmasını ve biyofilm oluşumunu doza bağlı bir şekilde engellediği bulunmuştur.¹⁵⁰

Probiyotiklerin oral ortamda etkili olabilmeleri, hayatta kalma ve kalıcı olarak kolonize olabilme gibi çeşitli engelleri aşmalarına bağlıdır.¹⁰⁴ Bu mikroorganizmaların canlılığını sürdürebilmesiyle ilgili zorluklar göz önünde bulundurulduğunda, patojenlere karşı gösterdikleri etkinliğin büyük ölçüde metabolizmaları sırasında ürettikleri antimikrobiyal peptitler, organik asitler ve hidrojen peroksit, biyosüpfaktan gibi biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle, PM'lerin probiyotiklere alternatif olarak kullanılabileceği görüşü giderek daha fazla kabul görmektedir.¹⁵¹ Postbiyotiklerin başlıca avantajlarından biri, canlı probiyotiklerde karşılaşılabilen enfeksiyon oluşturma potansiyeli, toksin üretimi ve antibiyotik direnç genlerinin taşınması gibi riskleri içermemesidir. Bu özellik, özellikle bağışıklık sistemi henüz olgunlaşmamış çocuk bireylerde güvenli kullanım açısından önemli bir tercih nedeni

oluşturmaktadır.¹⁵² Polonya'dan iki çalışma, postbiyotiklerin okul öncesi çocuklarda çürük insidansı üzerindeki etkisini değerlendirdi. Çok kısa bir müdahale döneminden sonra (2 hafta), Staszczek ve ark.¹⁵³, test grubunda bir yıl sonra kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşük çürük gelişimi buldular. İkinci Polonya çalışması, çürük açısından aktif okul öncesi çocuklardan oluşan bir grup üzerinde plasebo kontrollü bir denemeydi.¹⁵⁴ Başlangıçtaki çürük lezyonlarının 9 aylık insidansı, aktif grupta plasebo grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşüktü.

Bugüne kadar en çok bilinen laktat, çeşitli peptitler, galaktooligosakkaritler gibi farklı postbiyotiklerin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* bakterilerine ait suşlar tarafından bağırsakta veya gıda sistemlerindeki fermantasyonla üretildiği bilinsede *Streptococcus* ve *Faecalibacterium* gibi birçok bakteri veya maya tarafından da postbiyotik sayılabilecek metabolitlerin üretildiği bilinmektedir.¹⁴² Mevcut çalışmada da streptokok suşlarından olan GA94F izolatı biyofilm oluşumunu belirli oranlarda engellediği için postbiyotik olarak kullanıldı.

Isıl işlem görmüş laktik asit bakterileri (postbiyotikler), depolanması ve taşınması daha kolay olduğu ve canlı laktik asit bakterilerine kıyasla diğer gıda bileşenleriyle daha az etkileşime girdiği için bazı gıdalara eklenir. Tobita ve ark. yaptığı bir çalışmada¹⁵⁵ oral yolla uygulanan ısıl işlem görmüş *Lactobacillus crispatus* KT-11 suşunun, plasebo grubuna kıyasla plak skorlarında azalma sağladığı bildirilmiştir.

Çalışmaların çoğu, *Lactobacillus* türlerinden türetilen postbiyotiklerin in vitro diş çürüğü sıklığını ve şiddetini etkili bir şekilde azalttığını göstermiştir. In vitro çalışmalar, postbiyotiklerin karyojenik bakterilerin büyümesini ve biyofilm oluşumunu önemli ölçüde engellediğini göstermiştir.^{40,150,156,157} Postbiyotiklerin ayrıca *S.mutans* yapışmasında, asit üretiminde ve ekzopolisakkarit sentezinde rol oynayan virülans genlerinin ifadesini de azalttığı bulunmuştur.^{40,158,159} Yapılan in vivo çalışmalarda,

postbiyotik müdahalelerin tükürükteki *S. mutans* sayısını azalttığını^{145, 159, 160} ve tükürük pH'ını arttırdığını¹⁶⁰ bulunmuştur; bu da daha düşük çürük riski anlamına gelmektedir. Postbiyotiklerin çürük önleyici etkilerinin altında yatan mekanizmalar çok yönlüdür ve antimikrobiyal aktivite, bakteriyel yapışmanın inhibisyonu, biyofilm oluşumunun bozulması, bağışıklık tepkilerinin modülasyonu ve asidik pH'ın tamponlanmasını içerir.^{145, 150, 160, 161} Postbiyotiklerin karyojenik bakterilerin biyofilm oluşumu üzerindeki inhibe edici etkileri, bakteriyel yapışma mekanizmalarına müdahale etme ve biyofilm matrisinin temel bileşenleri olan ekzopolisakkaritlerin sentezini bozma yeteneklerine bağlanabilir.⁴⁰ Postbiyotiklerin *S. mutans* ve diğer oral patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi, çürük önleyici etkilerinin bir diğer önemli yönüdür. Birçok çalışma, *Lactobacillus* türleri tarafından üretilen postbiyotiklerin organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal bileşikler içerdiğini göstermiştir. Bu kimyasalların doğrudan karyojenik bakterilerin büyümesini sınırlayabileceği ve dolayısıyla ağız mikrobiyomundaki popülasyonlarını azaltabileceği öne sürülmüştür.¹⁶¹⁻

163

Bu çalışmada postbiyotikler, hem belirtilen nedenler hem güvenli yapıları hem de literatürde daha önce rapor edilen biyofilm inhibisyon potansiyelleri nedeniyle tercih edildi. Natarajan ve ark.¹⁶⁴, postbiyotiklerin *S. mutans*'ın glukoziltransferaz enzim aktivitesini azaltarak EPS üretimini engellediğini ve biyofilm oluşumunu önemli ölçüde baskıladığını rapor etmiştir. Ayrıca Hardy ve ark.¹⁶⁵, postbiyotiklerin asidojenik bakteriler üzerinde inhibe edici etkiler gösterdiğini ve konak mikroflora dengesinin korunmasına katkı sağladığını rapor etmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular da literatürdeki verilerle uyumlu olup, önceki sonuçları destekler niteliktedir. Streptokok, laktobasil ve stafilokok suşlarına karşı uygulanan postbiyotiklerin tamamının, biyofilm oluşumunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde inhibe ettiği bulundu. ($p < 0.05$). Benzer

şekilde, ticari postbiyotikler de biyofilm oluşumunu baskıladı; ancak bu etkinin, laboratuvar ortamında elde edilen postbiyotiklere kıyasla daha düşük düzeyde olduğu gözlemlendi. Bu bulgular, postbiyotiklerin biyofilm inhibitör etkinliğinin postbiyotik türüne bağlı olarak değişebileceğini gösterdi. Ayrıca hem ticari hem de laboratuvar kaynaklı postbiyotiklerin benzer yönde etkiler göstermesi, farklı üretim kaynaklarından elde edilen postbiyotiklerin benzer antikaryojenik potansiyele sahip olabileceğini ortaya koydu. Elde edilen veriler, postbiyotiklerin hem laboratuvar ortamında hem de ileri düzey klinik uygulamalarda alternatif biyolojik ajanlar olarak değerlendirilebileceğini destekledi. Bu tez kapsamında elde edilen bulgular, Laktobasil ve Streptokok suşlarından izole edilen postbiyotiklerin, biyofilm oluşturan Laktobasil, Streptokok ve Stafilokok bakterilerine karşı hem hücre canlılığını azaltma hem de biyofilm oluşumunu inhibe etme açısından etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, postbiyotiklerin yalnızca patojenik bakteri yükünü azaltmakla kalmayıp aynı zamanda biyofilm gelişimini de anlamlı düzeyde engelleyebileceğini göstermektedir. Bu çalışma, postbiyotiklerin süt dişlerinden izole edilen karyojenik bakteriler üzerindeki biyofilm inhibitör etkilerini değerlendirmesi bakımından literatüre anlamlı bir katkı sunmaktadır. Ancak elde edilen bulgular, bazı sınırlılıklar çerçevesinde değerlendirilmelidir. Öncelikle, araştırma in vitro koşullarda gerçekleştirilmiş olup; kullanılan deneysel model, ağız içindeki karmaşık mikrobiyal etkileşimleri ve çevresel faktörleri tam olarak temsil edememektedir. Postbiyotiklerin in vivo ortamda göstereceği biyolojik etkiler; tükürük akışı, pH dalgalanmaları ve oral mukozal bariyer gibi fizyolojik değişkenlerden etkilenebilir. Buna ek olarak, yalnızca üç bakteri türüyle (Laktobasil, Streptokok ve Stafilokok) sınırlı kalınması, oral mikrobiyotanın çeşitliliği göz önünde bulundurulduğunda, sonuçların genellenebilirliğini kısıtlamaktadır. Ayrıca, çalışmada kullanılan postbiyotiklerin kimyasal bileşenleri detaylı olarak karakterize edilmemiştir. Biyofilm inhibitör etkilerin

hangi spesifik metabolitler aracılığıyla gerçekleştiği henüz net olarak ortaya konulamamıştır. Bu durum, postbiyotiklerin etki mekanizmasının daha kapsamlı biçimde anlaşılmasını kısıtlamaktadır.

Gelecek araştırmalarda, postbiyotiklerin kimyasal bileşenleri kapsamlı analiz yöntemleriyle detaylı olarak incelenmeli ve biyofilm inhibitör etkiden sorumlu fraksiyonlar izole edilmelidir. Ayrıca, postbiyotiklerin gerçek ağız ortamındaki etkinlikleri, in vivo veya ex vivo modeller aracılığıyla değerlendirilmelidir. Farklı yaş gruplarından elde edilen mikroorganizmalarla yapılacak karşılaştırmalı çalışmalar, postbiyotiklerin pedodontik uygulamalardaki potansiyel rolünü daha net ortaya koyabilir. Son olarak, postbiyotik içeren ağız bakım ürünlerinin geliştirilmesi ve bu ürünlerin klinik çalışmalarda etkinliğinin doğrulanması, postbiyotiklerin diş hekimliği pratiğinde yaygın kullanımının önünü açacaktır.

Postbiyotikler, ağız sağlığını desteklemede umut vadeden biyolojik ajanlar olarak dikkat çekmektedir; ancak klinik uygulamalara entegrasyonları çeşitli engellerle sınırlıdır. Bu zorluklar arasında, standart formülasyonların ve doz rejimlerinin henüz netleştirilememiş olması, düzenleyici çerçevelerin yetersizliği, üretim süreçlerinin ölçeklenebilirliğine ilişkin sınırlamalar, geleneksel tedavi seçeneklerine kıyasla maliyet-etkinlik analizlerinin eksikliği ve farklı popülasyonlar üzerinde uzun vadeli güvenlik verilerinin yetersizliği sayılabilir. Özellikle diş macunu ve ağız gargarası gibi uygulama biçimlerinde postbiyotiklerin stabilitesinin korunması, formülasyon açısından başlıca teknik sorunlardan biridir. Mevcut literatürde, geniş katılımlı ve uzun süreli insan klinik çalışmalarının sınırlı oluşu, postbiyotiklerin farklı yaş grupları ve demografik özelliklere sahip bireylerdeki etkinliğini ve güvenilirliğini ortaya koyacak güçlü bilimsel kanıtların eksikliği ile ilişkilidir. Postbiyotik temelli yaklaşımların florür bazlı geleneksel tedavilerle karşılaştırıldığında ekonomik açıdan uygulanabilirliğini değerlendirmek,

gelecekteki çalışmalarda ele alınması gereken önemli bir araştırma alanıdır. Bu bağlamda, araştırmacılar, endüstri temsilcileri ve düzenleyici otoriteler arasındaki iş birliği, mevcut sınırlamaların aşılması ve postbiyotiklerin rutin ağız sağlığı uygulamalarında yer bulması açısından kritik öneme sahiptir.^{10, 40}

Bu çalışmanın güçlü yönleri ise şunlardır: Mevcut çalışma, süt dişlerinden izole edilen karyojenik bakterilere odaklanarak postbiyotiklerin etkilerini çocuk ağız sağlığı açısından değerlendiren nadir araştırmalardan biridir. Bu yönüyle pedodontik mikrobiyoloji alanında önemli bir boşluğu doldurmaktadır. Sadece Streptokok suşlarının değil, aynı zamanda Laktobasil ve Stafilokok gibi çürükle ilişkili farklı bakteriler üzerinde postbiyotiklerin etkisini karşılaştırmalı olarak değerlendirmesi, çalışmanın bilimsel kapsamını genişletmiştir. Hem hazır (ticari) hem de laboratuvar ortamında üretilen postbiyotiklerin kullanılmış olması, bu ürünlerin karşılaştırmalı etkinliğini görmeyi sağlamış ve uygulamaya yönelik kıymetli bilgiler sunmuştur. Kristal viyole boyama ve Kongo red agar gibi yaygın ve validite edilmiş yöntemlerle yapılan biyofilm analizleri, çalışmanın tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini artırmıştır. Doğrudan klinikten alınan çocuk hastalara ait izolatlarla çalışılması, bu araştırmayı yalnızca laboratuvar düzeyinde değil, aynı zamanda klinik açıdan da değerli hale getirmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, süt dişlerinden izole edilen Streptokok, Laktobasil, Stafilokok gibi karyojenik bakterilere karşı farklı kaynaklardan elde edilen postbiyotiklerin biyofilm inhibitör etkinliğini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Elde edilen bulgular hem ticari hem de laboratuvar ortamında üretilen postbiyotiklerin, biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir. Özellikle *S. mutans* suşlarında gözlemlenen yüksek orandaki biyofilm baskılayıcı etki, bu mikroorganizmanın çürük etiyolojisindeki merkezi rolü dikkate alındığında dikkat çekicidir.

Elde edilen bulgular, postbiyotiklerin çocuklarda sık karşılaşılan karyojenik mikroorganizmalar üzerinde etkili bir biyofilm inhibitörü olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Özellikle süt dişlerinde çürük riski yüksek bireylerde, postbiyotik içeren ağız bakım ürünlerinin geliştirilmesi, çürük önleme stratejilerine yenilikçi ve güvenli bir katkı sunabilir. Hücre içermeyen yapıları nedeniyle canlı probiyotiklere kıyasla daha stabil, raf ömrü uzun ve immün yanıt oluşturma riski düşük olan postbiyotiklerin, çocuk hastalarda klinik kullanıma adaptasyonu daha kolay olabilir.¹⁶⁶

Postbiyotiklerin biyofilm inhibitör etkileri in vitro düzeyde başarılı şekilde gösterilmiştir. Ancak bu etkinin in vivo koşullarda da doğrulanabilmesi için klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Postbiyotiklerin farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarla kullanımının, sinerjistik etkiler yaratıp yaratmadığı ileri çalışmalarda araştırılmalıdır.

Postbiyotik bileşenlerin karakterizasyonu (peptitler, SCFA'lar, enzimler vb.) detaylandırılarak hangi fraksiyonların daha etkin olduğu belirlenmelidir.

Çocuk hastalar üzerinde yapılacak güvenlik ve biyoyumluluk çalışmaları, postbiyotiklerin pediatrik uygulamalardaki potansiyelini ortaya koymak açısından kritik öneme sahiptir.

Diş hekimliği pratiğine entegrasyon açısından, postbiyotik içeren ağız bakım ürünlerinin (gargara, diş macunu, jel vb.) geliştirilmesine yönelik AR-GE çalışmaları teşvik edilmelidir.

Postbiyotiklerin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmaların detaylı biçimde aydınlatılması gerekmektedir. Özellikle glukoziltransferaz aktivitesi üzerindeki etkiler, hücre zarı geçirgenliği ve metabolik yollar düzeyindeki değişimlerin ileri düzey moleküler ve genomik tekniklerle araştırılması, mekanistik bilgilerin derinleştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Bununla birlikte, postbiyotiklerin yalnızca in vitro düzeyde değil, aynı zamanda hayvan modelleri ve insan klinik çalışmaları ile de değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler, pediatrik hastalar ve dental aparat kullanan popülasyonlar gibi risk gruplarında güvenlik ve etkinliğe yönelik veri elde edilmesi, bu ajanların terapötik uygulamalarını destekleyecek önemli bir adımdır. Bu nedenle daha fazla klinik teste ihtiyaç vardır ve gelecekteki araştırmalar, standartlaştırılmış optimum postbiyotik formülasyonu, dozajı ve uygulama yönergeleri sağlamak için büyük ölçekli randomize kontrollü çalışmalara odaklanmalıdır. Yaş, beslenme alışkanlıkları ve temel ağız sağlığı durumunu dikkate alan çeşitli popülasyonlarda uzun vadeli etkinlik ve güvenlik değerlendirmeleri, postbiyotikleri kapsamlı çürük önleme stratejilerinin önemli bir parçası haline getirebilir, hastalık yaygınlığını azaltabilir ve dünya çapında ağız sağlığını iyileştirebilir.

KAYNAKLAR

1. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J*, 2000; 45:235-245.
2. Clarke JK. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Br J Exp Pathol*, 1924; 5:141.
3. Sneath PH, Mair NS, Sharpe ME, ve ark. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2. Baltimore, Williams & Wilkins, 1986.
4. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 2003; 149:279-294.
5. Costerton JW. Overview of microbial biofilms. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 1995; 15:137-140.
6. McDonald RE, Avery DR. *Dentistry for the Child and Adolescent*. St. Louis, Mosby, 1974.
7. Moynihan P, Petersen PE. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. *Public Health Nutr*, 2004; 7:201-226.
8. Hepdeniz ÖK, Seçkin Ö. Dinamik mikrobiyal bir yaşam: Oral biyofilm. *Süleyman Demirel Üniv Sağlık Bilimleri Derg*, 2017; 8:47-55.
9. Gruner D, Paris S, Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: systematic review and meta-analysis. *J Dent*, 2016; 48:16-25.
10. Aguilar-Toalá J, Garcia-Varela R, Garcia H, ve ark. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol*, 2018; 75:105-114.
11. Homayouni Rad A, Aghebati Maleki L, Samadi Kafil H, ve ark. Postbiotics as novel health-promoting ingredients in functional foods. *Health Promot Perspect*, 2020; 10:3-4.
12. World Dental Federation. Definition of oral health. <https://www.fdiworldddental.org/fdis-definition-oral-health> (2023).
13. Heilmann A, Tsakos G, Watt RG. Yaşam Boyunca Ağız Sağlığı. İçinde: Burton-Jeangros C, Cullati S, Sacker A (editörler). *Sağlık Yörüngeleri ve Geçişleri Üzerine Bir Yaşam Boyu Perspektif*. Cham (CH), Springer, 2015: Bölüm 3.
14. Cohen LK, Jago JD. Toward the formulation of sociodental indicators. *Int J Health Serv*, 1976; 6:681-698.

15. Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, ve ark. Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990-2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. *J Dent Res*, 2017; 96:380-387.
16. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003;31 Suppl 1:3-24.
17. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, ve ark. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet*, 2019; 394:249-260.
18. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Oxford, John Wiley & Sons, 2015.
19. World Health Organization. *Global Oral Health Status Report: Towards Universal Health Coverage for Oral Health by 2030*. Geneva, World Health Organization, 2022.
20. Adair S. The dynamics of change: epidemiology and mechanisms of dental disease. In: *Pediatric Dentistry: Infancy Through Adolescence*, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders Publishers, 1988:252-256.
21. Craig G, Powell K, Cooper M. Caries progression in primary molars: 24-month results from a minimal treatment programme. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1981;9:260-265.
22. Saç DD. Çürük değerlendirmesinde kullanılan indeksler. Lisans tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2021.
23. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet*. 2007;369:51-59.
24. Milgrom P, Riedy C, Weinstein P, ve ark. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6-to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000;28:295-306.
25. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res*. 2011;90:294-303.
26. Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc*. 2000;131:887-899.
27. Klein MI, Hwang G, Santos PH, ve ark. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*. 2015;5:10.

28. Bowen W, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res.* 2011;45:69-86.
29. Koo H, Falsetta M, Klein M. The exopolysaccharide matrix: a virulence determinant of cariogenic biofilm. *J Dent Res.* 2013;92:1065-1073.
30. Jain I, Jain P, Bisht D, ve ark. Use of traditional Indian plants in the inhibition of caries-causing bacteria - *Streptococcus mutans*. *Braz Dent J.* 2015;26:110-115.
31. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res.* 2011;90:294-303.
32. Zhu L, Kreth J, Cross SE, ve ark. Functional characterization of cell-wall-associated protein WapA in *Streptococcus mutans*. *Microbiology.* 2006;152:2395-2404.
33. Tirali RE, Bodur H. Pulpa hastalıklarında bakterilerin rolü. *ADO Klin Bilim Derg.* 2009;3:374-379.
34. Kelstrup J, Gibbons RJ. Bacteriocinogeny among oral streptococci. *Infect Immun.* 1971;3:755-762.
35. Hamada S, Ooshima T. Studies on the cariogenicity of various strains of oral streptococci with reference to production of bacteriocin-like substances. *J Dent Res.* 1975;54:134-140.
36. Hossain MI, Sadekuzzaman M, Mizan MFR. Postbiotic metabolites derived from *Lactobacillus paracasei* ET-22 inhibit cariogenic virulence factors and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *Front Microbiol.* 2023;14:991983.
37. Pourhajibagher M, Ghafari HA, Bahador A. Postbiotic mediators derived from *Lactobacillus* species enhance riboflavin-mediated antimicrobial photodynamic therapy for eradication of *Streptococcus mutans* planktonic and biofilm growth. *BMC Oral Health.* 2024;24:836.
38. Zhang Z, Yang Y, Sun Q, ve ark. Inhibition of biofilm formation and virulence factors of cariogenic oral pathogen *Streptococcus mutans* by shikimic acid. *Microbiol Spectr.* 2022;10:e01199-22.
39. Li YH, Hanna MN, Svensäter G, ve ark. Cell density modulates acid adaptation in *Streptococcus mutans*: implications for survival in biofilms. *J Bacteriol.* 2001;183:6875-6884.
40. Banakar M, Pourhajibagher M, Etemad-Moghadam S, ve ark. Antimicrobial effects of postbiotic mediators derived from *Lactobacillus rhamnosus* GG and

- Lactobacillus reuteri* on *Streptococcus mutans*. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2023;28:88.
41. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 2002; 13: 108-125.
 42. Cengiz T, Mısırlıgil A, Aydın M. Tıp ve Diş Hekimliği'nde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Yayınevi, 2004.
 43. Gold OG, Jordan H, Van Houte J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Archives of Oral Biology* 1973; 18: 1357-1364.
 44. Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *Journal of Dental Research* 1994; 73: 672-681.
 45. Köll-Klais P, Mändar R, Leibur E, ve ark. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiology and Immunology* 2005; 20: 354-361.
 46. Powers JM. Craig's restorative dental materials. Mechanical properties 2006: 51-96.
 47. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews* 2002; 15: 167-193.
 48. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2000; 64: 847-867.
 49. Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, ve ark. In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. *European Journal of Oral Sciences* 2006; 114: 243-249.
 50. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* 2004; 2: 95-108.
 51. Bowen WH, Aukh K. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res*, 2011; 45:69-86.
 52. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE ve ark. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 1995; 49:711-745.
 53. Chacko DA, Dhaded N. Biofilm: an emergent form of bacterial life-a review.

54. Gün İ, Ekinci FY. Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. Gıda, 2009; 34:165-173.
55. Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. Adv Dent Res, 1995; 9:244-254.
56. Nadell CD, Xavier JB, Foster KR. The sociobiology of biofilms. FEMS Microbiol Rev, 2008; 33:206-224.
57. Cámara M. Quorum sensing: a cell-cell signalling mechanism used to coordinate behavioral changes in bacterial populations. In: International Workshop on Membrane Computing, 2006:42-48. Springer.
58. Arnold J, Silvers S. Comparison of poultry processing equipment surfaces for susceptibility to bacterial attachment and biofilm formation. Poult Sci, 2000; 79:1215-1221.
59. Novick RP, Muir TW. Virulence gene regulation by peptides in staphylococci and other Gram-positive bacteria. Curr Opin Microbiol, 1999; 2:40-45.
60. Donabedian H. Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. J Infect, 2003; 46:207-214.
61. Kempner E, Hanson FE. Aspects of light production by *Photobacterium fischeri*. J Bacteriol, 1968; 95:975-979.
62. Hentzer M, Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. J Clin Invest, 2003; 112:1300-1307.
63. Sauer K, Stoodley P, Goeres DM ve ark. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. Nat Rev Microbiol, 2022; 20:608-620.
64. Lejeune P. Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. Trends Microbiol, 2003; 11:179-184.
65. Lindsay D, Von Holy A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. J Hosp Infect, 2006; 64:313-325.
66. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis, 2002; 8:881-890.
67. Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D ve ark. Biofilms, the customized microniche. J Bacteriol, 1994; 176:2137-2142.
68. Van Loosdrecht MC, Lyklema J, Norde W, Zehnder A. Influence of interfaces on microbial activity. Microbiol Rev, 1990; 54:75-87.
69. Omar A, Wright JB, Schultz G ve ark. Microbial biofilms and chronic wounds. Microorganisms, 2017; 5:9-20.

70. Marcinkiewicz J, Strus M, Pasich E. Antibiotic resistance: a “dark side” of biofilm-associated chronic infections. 2013.
71. Vlassova N, Han A, Zenilman JM ve ark. New horizons for cutaneous microbiology: the role of biofilms in dermatological disease. *Br J Dermatol*, 2011; 165:751-759.
72. Marsh PD. The oral microflora and biofilms on teeth. In: *Dental caries: the disease and its clinical management*. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008:163-187.
73. Ertuğral F. Farklı dental materyallerde sükrözlu ve sükrözsüz in situ oluşan oral biyofilmin kazein fosfopeptid–amorf kalsiyum fosfat ile etkileşiminin taramalı elektron mikroskopunda incelenmesi ve florid salımıyla ilişkisinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, 2012.
74. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol*, 2000; 54:413-437.
75. Temel A, Eraç B. Bakteriyel biyofilmler: Saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2018; 48:1-13.
76. Ozturk I, Yurtman A, Erac B ve ark. In vitro effect of moxifloxacin and rifampicin on biofilm formation by clinical MRSA isolates. *Bratisl Lek Listy*, 2014; 115:483-486.
77. Stepanović S, Vuković D, Hola V ve ark. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 2007; 115:891-899.
78. Atshan SS, Shamsudin MN, Thian Lung LT ve ark. Comparative characterisation of genotypically different clones of MRSA in the production of biofilms. *Biomed Res Int*, 2012; 2012:417247.
79. Cengiz SA, Us E, Cengiz AT. Slime faktörünün klinikteki yeri ve önemi. *J Turgut Ozal Med Cent*, 2006; 13:193-197.
80. Yang L, Liu Y, Wu H ve ark. Combating biofilms. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2012; 65:146-157.
81. Sakaue Y, Takenaka S, Ohsumi T ve ark. The effect of chlorhexidine on dental calculus formation: an in vitro study. *BMC Oral Health*, 2018; 18:1-7.
82. Cao X, Ye Q, Fan M, Liu C. Antimicrobial effects of the ginsenoside Rh2 on monospecies and multispecies cariogenic biofilms. *J Appl Microbiol*, 2019; 126:740-751.

83. Liao S, Klein MI, Heim KP ve ark. Streptococcus mutans extracellular DNA is upregulated during growth in biofilms, actively released via membrane vesicles, and influenced by components of the protein secretion machinery. J Bacteriol, 2014; 196:2355-2366.
84. Jeon JG, Rosalen P, Falsetta M, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. Caries Res, 2011; 45:243-263.
85. Chauhan DN, Singh PR, Shah K, Chauhan NS. Natural oral care in dental therapy: current and future prospects. In: Natural Oral Care in Dental Therapy. 2020:1-29.
86. Adil M, Singh K, Verma PK, Khan AU. Eugenol-induced suppression of biofilm-forming genes in Streptococcus mutans: an approach to inhibit biofilms. J Glob Antimicrob Resist, 2014; 2:286-292.
87. Choi HA, Cheong DE, Lim HD ve ark. Antimicrobial and anti-biofilm activities of the methanol extracts of medicinal plants against dental pathogens Streptococcus mutans and Candida albicans. J Microbiol Biotechnol, 2017; 27:1242-1248.
88. Philip N, Leishman SJ, Bandara H, Walsh LJ. Polyphenol-rich cranberry extracts modulate virulence of Streptococcus mutans-Candida albicans biofilms implicated in the pathogenesis of early childhood caries. Pediatr Dent, 2019; 41:56-62.
89. Hill C, Guarner F, Reid G ve ark. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014; 11:506-514.
90. WHO/FAO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group, Geneva, 2002.
91. Ouwehand AC, Derrien M, de Vos W ve ark. Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. Curr Opin Biotechnol, 2005; 16:212-217.
92. Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G ve ark. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019; 16:605-616.
93. Dunne C, O'Mahony L, Murphy L ve ark. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. Am J Clin Nutr, 2001; 73:386S-392S.

94. Varışlı LS. Probiotikler ve diş hekimliğinde kullanımı. Arşiv Kaynak Tarama Derg, 2014; 23:705-725.
95. Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics. Nutrients, 2020; 12:2189.
96. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci, 2005; 113:188-196.
97. Keller MK, Bardow A, Jensdottir T ve ark. Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. Acta Odontol Scand, 2012; 70:246-250.
98. Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V ve ark. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. Oral Microbiol Immunol, 2006; 21:326-332.
99. Giacaman RA. Sugars and beyond: the role of sugars and other nutrients and their potential impact on caries. Oral Dis, 2018; 24:1185-1197.
100. Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS Microbiol Rev, 2004; 28:405-440.
101. Reid G, Younes JA, van der Mei HC, ve ark. Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. Nat Rev Microbiol. 2011;9:27-38.
102. Minocha A. Probiotics for preventive health. Nutr Clin Pract. 2009;24:227-241.
103. Zaura E, Twetman S. Critical appraisal of oral pre- and probiotics for caries prevention and care. Caries Res. 2019;53:514-526.
104. Chen X, Daliri EB, Kim N, ve ark. Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. Pathogens. 2020;9:569.
105. Piwat S, Pahumunto N, Srisommai P, ve ark. Effect of probiotic delivery vehicles for probiotic *Lactobacillus rhamnosus* SD11 in caries prevention: a clinical study. J Food Process Preserv. 2019;43:e14147.
106. Ramanujam P, Poorni S, Srinivasan MR, Sureshbabu NM. Probiotics in dental caries prevention. Indian J Nutr Diet. 2019;56:22609.
107. Villalobos-Delgado LH, Nevárez-Moorillon G, Caro I, ve ark. Natural antimicrobial agents to improve foods shelf life. In: Food Quality and Shelf Life. Amsterdam: Elsevier; 2019. p.125-157.

108. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, *ve ark*. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14:491-502.
109. Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 2013;5:1417-1435.
110. Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. *J Nutr*. 2007;137:830S-837S.
111. Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, Walter J. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12:303-310.
112. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, *ve ark*. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17:687-701.
113. Allaker RP, Stephen AS. Use of probiotics and oral health. *Curr Oral Health Rep*. 2017;4:309-318.
114. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, *ve ark*. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res*. 2001;35:412-420.
115. Amargianitakis M, Antoniadou M, Rahiotis C, Varzakas T. Probiotics, prebiotics, synbiotics and dental caries: new perspectives, suggestions, and patient coaching approach for a cavity-free mouth. *Appl Sci*. 2021;11:5472.
116. Salminen S, Szajewska H, Knol J. The biotics family in early life. Chichester: Wiley; 2019.
117. Salminen S, Collado MC, Endo A, *ve ark*. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18:649-667.
118. Wegh CA, Geerlings SY, Knol J, *ve ark*. Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. *Int J Mol Sci*. 2019;20:4673.
119. Homayouni Rad A, Aghebati Maleki L, Samadi Kafil H, Abbasi A. Postbiotics: a novel strategy in food allergy treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;61:492-499.
120. Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics—a step beyond pre- and probiotics. *Nutrients*. 2020;12:2189.
121. Jang HJ, Lee NK, Paik HD. A narrative review on the advance of probiotics to metabiotics. *J Microbiol Biotechnol*. 2024;34:487.

- 122.Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.* 2011;6:261-274.
- 123.Servi B, Ranzini F. Protective efficacy of antidiarrheal agents in a permeability model of *Escherichia coli*-infected CacoGoblet® cells. *Future Microbiol.* 2017;12:1449-1455.
- 124.Moradi M, Mardani K, Tajik H. Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT.* 2019;111:457-464.
- 125.Uğur E, Öner Z, Bektaş A, Ulusoy M. Paraprobiyotikler, postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda.* 2021;46:428-442.
- 126.Tinanoff N, Reisine S. Update on early childhood caries since the Surgeon General's Report. *Acad Pediatr.* 2009;9:396-403.
- 127.Zhao Z, Wu J, Sun Z, ve ark. Postbiotics derived from *L. paracasei* ET-22 inhibit the formation of *S. mutans* biofilms and bioactive substances: an analysis. *Molecules.* 2023;28:1236.
- 128.Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.* 2011;6:261-274.
- 129.Procop GW, Church D, Hall G, ve ark. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2017.
- 130.Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1992.
- 131.Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol*, 1989; 42:872-874.
- 132.Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res*, 2011; 45:69-86.
- 133.Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol*, 2017; 44(Suppl 18):S12-S22.
- 134.Zhou M, Liu X, Chen L. *Staphylococcus aureus* in oral infections: a growing concern. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021; 11:698055.

- 135.Nascimento MM, Gordan VV, Garvan CW, ve ark. Correlations of oral bacterial arginine and urea catabolism with caries experience. *Oral Microbiol Immunol*, 2009; 24:89-95.
- 136.Badet C, Thebaud NB. Ecology of *Lactobacilli* in the oral cavity: a review of literature. *Open Microbiol J*, 2008; 2:38-48.
- 137.Muthukrishnan P, Kandaswamy D, Prabakar J. Biofilm formation and detection of genes for biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from dental implants. *J Oral Biol Craniofac Res*, 2022; 12:44-49.
- 138.Dincer S, Özdenefe MS, Arkut A. *Bacterial Biofilms*. Germany, BoD–Books on Demand, 2020.
- 139.Jiao Y, Tay FR, Niu L-N, ve ark. Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections. *Int J Oral Sci*, 2019; 11:28.
- 140.Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc*, 2006; 137:1649-1657.
- 141.Bodiba DC, Prasad P, Srivastava A, ve ark. Antibacterial activity of *Azadirachta indica*, *Pongamia pinnata*, *Psidium guajava*, and *Mangifera indica* and their mechanism of action against *Streptococcus mutans*. *Pharmacogn Mag*, 2018; 14:76.
142. Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, ve ark. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol*, 2018; 75:105-114.
- 143.Jeong D, Kim D-H, Song K-Y, ve ark. Antimicrobial and anti-biofilm activities of *Lactobacillus kefiranofaciens* DD2 against oral pathogens. *J Oral Microbiol*, 2018; 10:1472985.
144. Inchingolo AD, Malcangi G, Semjonova A, ve ark. Oralbiotica/oralbiotics: the impact of oral microbiota on dental health and demineralization: a systematic review of the literature. *Children (Basel)*, 2022; 9:1014.
- 145.Lin X, Chen X, Tu Y, ve ark. Effect of probiotic *Lactobacilli* on the growth of *Streptococcus mutans* and multispecies biofilms isolated from children with active caries. *Med Sci Monit*, 2017; 23:4175-4181.
- 146.Wang C, Hu D, Liu J, ve ark. [Selection and identification of ssDNA aptamers specific to clinical isolates of *Streptococcus mutans* strains with different cariogenicity]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2013; 33:738-741.

147. Simark-Mattsson C, Emilson CG, Håkansson EG, ve ark. *Lactobacillus*-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur J Oral Sci*, 2007; 115:308-314.
148. Wen ZT, Huang X, Ellepola K, ve ark. *Lactobacilli* and human dental caries: more than mechanical retention. *Microbiology (Reading)*, 2022; 168.
149. Satpute SK, Kulkarni GR, Banpurkar AG, ve ark. Biosurfactant/s from *Lactobacilli* species: properties, challenges and potential biomedical applications. *J Basic Microbiol*, 2016; 56:1140-1158.
150. Ciandrini E, Campana R, Casettari L, ve ark. Characterization of biosurfactants produced by *Lactobacillus* spp. and their activity against oral streptococci biofilm. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016; 100:6767-6777.
151. Ohshima T, Kawai T, Maeda N. Bacterial cell-free probiotics using effective substances produced by probiotic bacteria, for application in the oral cavity. In: *Prebiotics and probiotics: Potential benefits in nutrition and health*. IntechOpen, 2019.
152. Vinderola G, Sanders ME, Salminen S, ve ark. The concept of postbiotics. *Food Sci Technol Bull Funct Foods*, 2022; 19:1-15.
153. Staszczuk M, Jamka-Kasprzyk M, Kościelniak D, ve ark. Effect of a short-term intervention with *Lactobacillus salivarius* probiotic on early childhood caries: an open-label randomized controlled trial. *Int J Environ Res Public Health*, 2022; 19:929.
154. Olczak-Kowalczyk D, Turska-Szybka A, Twetman S, ve ark. Effect of tablets containing a paraprobiotic strain and cranberry extract on caries incidence in preschool children: a randomized controlled trial. *Dent Med Probl*, 2025; 62:209-215.
155. Tobita K, Watanabe I, Tomokiyo M, ve ark. Effects of heat-treated *Lactobacillus crispatus* KT-11 strain consumption on improvement of oral cavity environment: a randomised double-blind clinical trial. *Benef Microbes*, 2018; 9:585-592.
156. Ahn KB, Baik JE, Park OJ, ve ark. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS One*, 2018; 13:e0192694.
157. Zhao Z, Wu J, Sun Z, ve ark. Postbiotics derived from *L. paracasei* ET-22 inhibit the formation of *S. mutans* biofilms and bioactive substances: an analysis. *Molecules*, 2023; 28:1236.

- 158.OmerOglou E, Karaca B, Kibar H, ve ark. The role of microbiota-derived postbiotic mediators on biofilm formation and quorum sensing-mediated virulence of *Streptococcus mutans*: a perspective on preventing dental caries. *Microb Pathog*, 2022; 164:105390.
- 159.Liu Q, Ma T, Feng C, ve ark. Adjuvant postbiotic administration improves dental caries prognosis by restoring the oral microbiota. *Food Sci Hum Wellness*, 2024; 13:2690-2702.
- 160.Basir L, Moghimipour E, Saadatzadeh A, ve ark. Effect of postbiotic-toothpaste on salivary levels of IgA in 6- to 12-year-old children: study protocol for a randomized triple-blind placebo-controlled trial. *Front Pediatr*, 2022; 10:1042973.
- 161.Park DY, Hwang J, Kim Y, ve ark. Antimicrobial activity of *Limosilactobacillus fermentum* strains isolated from the human oral cavity against *Streptococcus mutans*. *Sci Rep*, 2023; 13:7969.
- 162.Kim JH, Jang HJ, Lee NK, ve ark. Antibacterial and antibiofilm effect of cell-free supernatant of *Lactobacillus brevis* KCCM 202399 isolated from Korean fermented food against *Streptococcus mutans* KCTC 5458. *J Microbiol Biotechnol*, 2022; 32:56-63.
- 163.Rossoni RD, Velloso MDS, de Barros PP, ve ark. Inhibitory effect of probiotic *Lactobacillus* supernatants from the oral cavity on *Streptococcus mutans* biofilms. *Microb Pathog*, 2018; 123:361-367.
- 164.Natarajan N, Platel K, Srinivasan K. Postbiotics suppress cariogenic biofilm formation by inhibiting glucosyltransferase expression in *Streptococcus mutans*. *J Funct Foods*, 2021; 83:104502.
- 165.Hardy H, Harris J, Lyon E, ve ark. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients*, 2020; 12:2170.
- 166.Vinderola G, Sanders ME, Salminen S, ve ark. The concept of postbiotics. *Food Sci Technol Bull Funct Foods*, 2022; 13:1-12.

EKLER

EK-1 Öz Geçmiş

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Gizem AKÇAY
Eğitim	
Lise	Ulubatlı Hasan Anadolu Lisesi (2015)
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2015-2020)
Uzmanlık	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Pedodonti Ana Bilim Dalı (2022-2025)
Araştırmalar, Sunumlar	
Sözlü sunum	Evaluation of cone-beam computed tomography images taken from a group of pediatric patients- 2nd International Congress of Contemporary Pediatric Dentistry (ICCPD 2022), 2 - 4 Eylül 2022
Sözlü sunum	Farklı içeceklerde bekletilen nanohibrit ve mikrohibrit kompozitlerin renk stabilitelerinin karşılaştırılması- 29. Uluslararası Türk Çocuk Diş Hekimliği Derneği Kongresi, Ankara, Türkiye, 12 - 15 Ekim 2023
Sözlü sunum	The Relationship Between Dental Anxiety and Menstrual Cycle Phases- FDI World Dental Congress, İstanbul, Türkiye, 12-15 September 2024
Sözlü sunum	Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yetiştirilen farklı çay çeşitlerinde flor içeriğinin incelenmesi- Ulusal Çay Kongresi, Rize, Türkiye, 21 - 23 Mayıs 2024
Poster Sunumu	Ektodermal displazili hastada restoratif ve protetik rehabilitasyon- Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Diş hekimliği Fakültesi, Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi, Rize, Türkiye, 05 Mayıs 2023
Araştırma	Evaluation Of The Relationship Between Children's Emotional Intelligence And Compliance With Dental Treatment, 2022
Yabancı Dil	
İngilizce	

EK-2 Etik Kurul Onayı



T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı



Sayı : E-40465587-050.01.04-931
Konu : Etik Kurul

19.01.2024

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayça KURT

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğumuz “Süt Dişlerindeki Karyojenik Bakterilerin Oluşturduğu Biyofilm Yapının Engellenmesinde Postbiyotiklerin Etkinliği” isimli başvurunuz etik kurulunuz yönergesine göre 11.01.2024 tarihinde yapmış olduğu toplantıda incelenmiş olup, 2024/15 karar numarası ile bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla rica ederim.

Doç. Dr. Tahsin Gökhan TELATAR
Başkan

Bu belge güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu : 34d367887fc8 *Belge Takip Adresi: <http://ehys.erdogan.edu.tr/EBYS/cimzadogrulama>*

Fener Mah. Zilni Derin Yerleşkesi 53100 Rize / TÜRKİYE
Telefon No : +90 (464) 223 61 26 Faks No : +90 (464) 223 53 76
e-Posta : iletisim@erdogan.edu.tr
Kep Adresi:

Bilgi için : BURAK HANKAYA
Bilgisayar işletmeni



EK-3 Bap Onay Formu



TC
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
(Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi)

Konu:Yürürlüğe Giren Proje Öneriniz

Tarih
24.06.2024

Sayın : Dr.Öğr.Üyesi AYÇA KURT

Aşağıda bilgileri özetlenen proje önerinize yönelik değerlendirme süreci tamamlanmış ve BAP Komisyonu tarafından desteklenmesi uygun görülen projeniz, proje sözleşmesinin Rektörlük Makamı tarafından onaylanmasıyla yürürlüğe girmiştir.

Tebrik eder, çalışmalarınızda başarılar dilerim.

Saygılarımla,

Prof.Dr. Erol YILMAZ
Koordinatör

Proje Başlığı: Süt Dişlerindeki Karyojenik Bakterilerin Oluşturduğu Biyofilm Yapının Engellenmesinde Postbiyotiklerin Etkinliği

Proje No: TSA-2024-1658

Proje Türü: N. Araştırma

Süresi: 12 ay

Başlama Tarihi: 24.06.2024

Onaylanan Bütçesi: 150000 TL

Proje Yürütücüsü: Dr.Öğr.Üyesi AYÇA KURT

Araştırmacı(lar): ARŞ.GÖR. GİZEM AKÇAY, DR.ÖĞR.ÜYESİ ARIF BOZDEVECİ, PROF.DR. ŞENGÜL ALPAY KARAOĞLU

EK-4 İntihal Raporu

GİZEM AKÇAY TEZ BELGESİ 08.07.25 kaynakçasız.docx

ORJİNALLİK RAPORU

% 15	% 14	% 7	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	dspace.ankara.edu.tr	%5
	İnternet Kaynağı	
2	acikbilim.yok.gov.tr	%2
	İnternet Kaynağı	
3	dergipark.org.tr	%1
	İnternet Kaynağı	
4	pdffox.com	%1
	İnternet Kaynağı	
5	Submitted to Ege Üniversitesi	%1
	Öğrenci Ödevi	
6	www.rumelide.com	<%1
	İnternet Kaynağı	
7	magic-web.blog.cz	<%1
	İnternet Kaynağı	
8	www.festo.com	<%1
	İnternet Kaynağı	
9	adudspace.adu.edu.tr:8080	<%1
	İnternet Kaynağı	
10	tez.sdu.edu.tr	<%1
	İnternet Kaynağı	
11	acamedicine.org	<%1
	İnternet Kaynağı	
12	acikerisim.alanya.edu.tr	<%1
	İnternet Kaynağı	

