



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ÇOCUKLARDA PROBİYOTİKLİ ÜRÜNLERİN
ORAL FLORAYA VE DİŞ ÇÜRÜĞÜ
ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Didem ARGUN VARDARLI

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zeynep ÖKTE**

2010- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇOCUKLARDA PROBİYOTİKLİ ÜRÜNLERİN
ORAL FLORAYA VE DİŞ ÇÜRÜĞÜ
ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Didem ARGUN VARDARLI

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zeynep ÖKTE**

2010- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Pedodonti Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

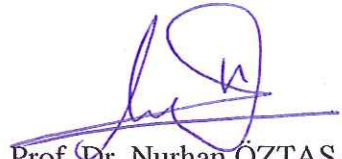
Tez Savunma Tarihi: 05/08/2010



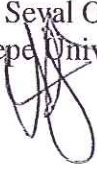
Prof. Dr. Şaziye ARAS
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Firdeys TULGA ÖZ
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Nurhan ÖZTAŞ
Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Seval ÖLMEZ
Hacettepe Üniversitesi



Prof. Dr. Zeynep ÖKTE
Ankara Üniversitesi
Raportör

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖNSÖZ	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER.....	VII
ÇİZELGELER	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Dental Plak	1
1.1.1. Dental Plak ve Çürük Mikrobiyolojisi	2
1.1.1.1. Streptococcus mutans	3
1.1.1.2. Lactobasiller (LB).....	5
1.1.1.3. Diğer Mikroorganizmalar	5
1.1.2. Plak Yapısında Çürüğe Bağlı Oluşan Değişiklikler.....	6
1.1.2.1. Konakçıya Bağlı Faktörler (Tükürüğün Etkileri).....	7
1.1.2.2. Dental Plağın Yapısına Bağlı Faktörler	7
1.1.2.3. Konakçı Dışındaki Faktörler	8
1.1.3. Plağın Mikrobiyal Kompozisyonu ve Plak pH'sı Arasındaki İlişki	9
1.2. Tükürük ve Plak Florasının Koruyucu Yöntemlerle Değiştirilmesi.....	10
1.2.1. Plak Asit Ürünlerinin Değiştirilmesi.....	11
1.2.2. Florid.....	12
1.2.3. Antimikrobiyal Ajanlar	12
1.2.4. Bakteriyoterapi.....	13
1.3. Tükürük ve Plak Florasının Değiştirilmesinde Bakteriyoterapi	14
1.3.1. Prebiyotikler	14
1.3.2. Probiyotikler	16
1.3.2.1. Probiyotik Etkinin Mekanizmaları.....	20
1.3.2.2. Probiyotik İçerikli Ürünler.....	22
1.3.2.2.1. Yoğurt.....	24
1.3.2.2.2. Süt ve Peynir.....	25
1.3.2.2.3. Kefir.....	26
1.4. Kefirin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Yapısı	29
1.4.1. Kefirin Besleyici Değeri.....	32

1.4.2.	Kefirin Genel Sağlık Açısından Yararları	33
1.5.	Probiyotikler ve Ağız Sağlığı.....	34
1.6.	Konu İle İlgili Yapılan Çalışmalar	36
1.7.	Amaç.....	43
2.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
2.1.	Denek Seçim Kriterleri	45
2.2.	Etik Kurul Onayı:.....	45
2.3.	Çalışma Grupları	46
2.4.	Çalışma İçin Uygulanan İşlem Basamakları	47
2.4.1.	Tükürük Örneklerinin Alınması	48
2.4.2.	Plak Örneklerinin Alınması	48
2.4.3.	Klinik İşlemler	49
2.4.4.	Kefir Uygulaması	49
2.4.4.1.	Manuel Kefir Hazırlanışı	51
2.4.5.	Çalışmanın Sonlandırılması	52
2.5.	Mikrobiyolojik Analiz	52
2.5.1.	Besiyerlerinin Hazırlanması.....	52
2.5.2.	Test materyalleri ve İnokulum hazırlanması.....	53
2.6.	Modifiye Mikrotiter Plak Test (Slime Testi)	57
2.7.	İstatistiksel Analiz	58
3.	BULGULAR	59
3.1.	Plak ve Tükürükteki MS ve LB Miktarlarının Dip Slide Yöntemiyle Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi.....	59
3.2.	Slime (Yapışma) Testi Plak Ve Tükürük MS ve LB Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi.....	65
4.	TARTIŞMA	71
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	86
ÖZET		88
SUMMARY		90
KAYNAKLAR		92
EKLER.....		112
ÖZGEÇMİŞ.....		114

ÖNSÖZ

Doğal bir probiyotik içecek olan kefirin, çürük aktif çocuklarda tükürük ve plaktaki *S.mutans*, laktobasil sayısına ve bu bakterilerin biyofilme yapışması üzerine etkisinin değerlendirilmesini amaçladığım tez çalışmam süresince, doktora eğitimimin her aşamasında ve özel hayatımda her türlü desteğini her zaman hissettiğim, yetişmemde büyük emeği geçen tez danışmanım Prof. Dr. Zeynep ÖKTE'ye,

Tezimin başlangıcından bitimine kadar önerileri ve yardımları ile bana destek olan tez izleme komitesindeki değerli hocalarım Prof. Dr. Şaziye ARAS ve Prof. Dr. Seval ÖLMEZ'e,

Araştırmamın deney kısımlarını gerçekleştirmemde desteğini, yardımlarını ve görüşlerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Berrin ÖZÇELİK Hocama,

Doktora programım süresince bana verdikleri eğitim ve ilgileri nedeniyle Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri'ne,

Her türlü yardımı ve desteklerini benden esirgemedikleri ve zor anlarımda yanımda oldukları için sevgili dostlarım Dr. Dt. Tuğba BEZGİN ve Dr. Dt. Aytül ÇİFTÇİ'ye başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, tezimin yapım aşamasındaki yardımlarından ötürü Ferah GÖLGELEYEN, Tülin ÖCAL ve diğer tüm kürsü personeline,

Her zaman yanımda olan ve her türlü maddi ve manevi desteği hiçbir zaman benden esirgemeyen ve beni bugünlere getiren biricik anneme ve babama,

Tezimin yazım aşamasında gecesini gündüzüne katan, motivasyonumun düştüğü anlarda bile beni sevgiyle kucaklayan ablam Nihan KÖKSOY'a, uzaktan yardımlarıyla ablam Ayşen ARGUN'a,

Ve tabii ki; bu tezin her aşamasında yanımda olan, gece gündüz tüm sıkıntılarımla paylaşan eşim Ömer VARDARLI'ya gönülden teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

$\geq$	Büyük ve eşittir
=	Eşittir
%	Yüzde
$\pm$	Artı/Eksi
A	<i>Acetobacter</i>
A ₁	A grubunda ticari kefir tüketenler
A ₂	A grubunda mayalanmış kefir tüketenler
AÜ	Ankara Üniversitesi
B ₁	B grubunda ticari kefir tüketenler
B ₂	B grubunda mayalanmış kefir tüketenler
CFU	Koloni oluşturan birim (Colony forming unit)
CFU/ml	1ml'deki koloni oluşturan birim sayısı
CİS	Cam iyonomer siman
CO ₂	Karbondioksit
° C	Santigrat derece (sıcaklık birimi)
dk	Dakika
g	Gram = 10 ⁻³ kilogram (kütle birimi)
EPS	Ekstraselüler polisakkarit
F	Flor
FAO	Food Agriculture Organisation
FOS	Fruktooligasakkaritler
GIS	Gastro intestinal sistem
HCl	Hidroklorür
K ₂ HPO ₄	Di potasyum fosfat
KH ₂ PO ₄	Mono potasyum fosfat
Ig	İmmunoglobulin
IgA	İmmünglobulin A
l	Litre

LB	<i>Lactobacillus</i>
LGG	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG
mg	Miligram
MG ₂ SO ₄	Magnezyum Sülfat
Mm	Milimetre = 10 ⁻³ metre (uzunluk birimi)
ml	Mililitre = 10 ⁻³ litre (hacim birimi)
µl	Mikrolitre
MS	Mutans Streptokoklar
MSA agar	Mitis salivarius agar
Na ₂ EDTA	
NaCl	Sodyum klorür
NK	Negatif kontrol grubu
(NH) ₄ SO ₄	Amonyum sülfat
Nm	Nanometre
PBS	Phospat Buffer Solution
pH	Power of hydrogen
PK	Pozitif kontrol grubu
RA	Ragosa agar
RTF	Reduced Transport Fluid
° C	Santigrat derece (sıcaklık birimi)
S	Streptococcus
SEM	Scanning Electrone Microscope
slgA	Sekretuar İmmünglobulin A
SS	Standart sapma
TYC agar	Trypticase Yeast Extract Cystine agar
TYCSB agar	Trypticase Yeast Extract Cystine Sucrose Bacitracin agar
THB	Todd-Hewitt Broth
U/ml	1 mililitredeki ünite sayısı
µm	Mikrometre = 10 ⁻⁶ metre (uzunluk birimi)
WOH	World Health Organisation

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Türkiye'deki kefir tanelerinin görüntüsü.....	31
Şekil 1.2.	Türkiye'deki kefir tanelerinin 5000x büyütmede SEM Görüntüsü	31
Şekil 2.1.	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama Bölümü'nün üretimi olan içime hazır kefir	50
Şekil 2.2.	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama Bölümü'nün üretimi olan Ticari kefir mayası	50
Şekil 2.3.	Mayalanmış kefirin süzülme şeklinin gösterimi	51
Şekil 2.4.	Mayalanan kefir tanesinin gösterimi.....	51
Şekil 2.5.	Örneklerin homojenize edilmesinde kullanılan vorteks karıştırıcı	53
Şekil 2.6.	Besiyerlerinin 10 µg/ml 3 paralel ekimi.....	54
Şekil 2.7.	Besiyerlerinin olduğu petrilere yapılan ekim.....	55
Şekil 2.8.	Örneklerin dilüsyon ve ekiminde kullanılan steril yatay hava akımı (Laminar flow) cihazı	55
Şekil 2.9.	Etüvde mikrobiyolojik jar içerisinde inkübasyon için bekletilen besiyerleri.	56
Şekil 2.10.1.	MS'nin kolonilerinin görüntüsü	56
Şekil 2.10.2.	<i>Lactobacillus</i> kolonilerinin görüntüsü	56
Şekil 2.11.	Modifiye mikrotitre plak test kartuşu	57
Şekil 3.1.	Tükürük MS miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	63

Şekil 3.2.	Tükürük LB miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	63
Şekil 3.3.	Plak MS miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	64
Şekil 3.4.	Plak LB miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	64
Şekil 3.5.	Tükürük MS yapışma miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	69
Şekil 3.6.	Tükürük LB yapışma miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	69
Şekil 3.7.	Plak MS yapışma miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	70
Şekil 3.8.	Plak LB yapışma miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	70

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Prebiyotik çeşitleri.....	16
Çizelge 1.2.	Ticari olarak kullanılan probiyotik suşları	19
Çizelge 1.3.	Dünyadaki mevcut probiyotikler	23
Çizelge 1.4.	Kefirin bileşimi ve besin değeri	33
Çizelge 2.1.	Deneklerin çalışma gruplarına göre dağılımı	47
Çizelge 2.2.	Çalışmada kullanılan besiyerleri ve solüsyonlar	54
Çizelge 3.1.	Plak ve tükürükteki MS ve LB miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	60
Çizelge 3.2.	Slime test plak MS ve LB miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirilmesi.....	66

1. GİRİŞ

Diş çürüğü gelişimi, çürük yapıcı flora, fermente edilebilir karbohidratlardan zengin diyet ve konakçı ile ilgili faktörlerin (tükürük, tükürüğün tamponlama kapasitesi ve akış hızı) bir arada olması sonucunda oluşan bir durumdur (Koray, 1981; Newburn, 1989; Selwitz ve ark., 2007; Campus ve ark., 2009; Poureslami ve van Amerongen, 2009; Ten Cate, 2009).

1.1. Dental Plak

Dişlerin; tükürük akımı, dil, dudak, yanak tarafından mekaniksel olarak temizlenemeyen yüzeylerine yerleşen, kısmen tükürüğün doku metabolizma ve katabolizma ürünlerinden, kısmen de diyetle alınan yapışkan protein ve karbohidrat kitlesinden oluşmuş, beyaz-sarı ya da beyaz-gri renkli organik yığıntılara **bakteriyel dental plak** adı verilir. Yapışkan protein ve polisakkaritlerden oluşan bu kitleler içinde çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır (Koray, 1981; Ataoğlu ve Gürsel, 1997).

Plağın %80'i su, %20 si katı maddelerden, katı maddelerin % 70'i ise organik maddelerden oluşur. Plağın az miktardaki inorganik kısmını da kalsiyum, fosfat, karbonat ve flor iyonları oluşturur (Mutlu, 2002).

Pelikıl, diş sürdükten sonra oluşan, homojen, membranöz, hücre içermeyen, salya glikoproteinlerinden oluşmuş bir film tabakasıdır (Ataoğlu ve Gürsel, 1997). Başlangıçta hücresiz ve mikroorganizmasızdır. Kalınlığı zamanla artar. Pelikılda amilaz, lizozim, immünoglobulin A (IgA) gibi tükürük proteinleri de bulunur. Pelikılın biyolojik görevleri, mine yüzeyini korumak ve mineye seçici geçirgenlik vermektir. Diş yüzeyine ağız mikroorganizmalarının tutunmasını sağladığı ve diş yüzeyinde koloni yapan plak

mikroorganizmalarına besin kaynağı olduğu da bilinmektedir (Mutlu, 2002; Fejerskov ve Kidd, 2003).

Diş yüzeyindeki pelikula ilk tutunan hücresel yapılar kok formunda bakteriler, az sayıda epitel hücresi ve nötrofillerdir. İlk birkaç saatte pelikıldan ayrılmayan mikroorganizmalar çoğalarak benzer organizmalardan koloniler oluştururlar. Komşu alanlarda farklı organizmaların oluşturduğu koloniler ile plak giderek karmaşık bir yapıya dönüşür (Koray, 1981; Thylstrup ve Fejerskov, 1994; Ataoğlu ve Gürsel, 1997)

Diş yüzeyine bakteri yapışmasındaki mekanizmalar bakterilerin birbirine tutunmasında da rol oynar. Bakteriyel glikokaliks ve salya glikoproteinleri mikrobiyal kitleyi diş yüzeyinde tutan bir matriks oluştururlar (Bowden ve Edwardsson, 1994; Baehni ve Takeuchi, 2003).

S. mutans'ın tek başına diş yüzeyine tutunma yeteneği yoktur. Dişlerdeki başlangıç kolonizasyonu *S. mutans* haricindeki mikroorganizmalarla başlar. Bakterilerin diş yüzeyine yapışabilmeleri için;

- 1) Diş yüzeyinde pelikül varlığı,
- 2) Benzer tür bakterilerin varlığı, bunların birbirlerine ve dişe yapışabilmeleri,
- 3) Bakterilerin yapıştıkları yüzeyde çoğalarak, küçük defektlerden çürük gelişimine sebep olabilmeleri gerekmektedir (Adair, 1988; Scheie, 1994; Whittaker ve ark., 1996).

1.1.1. Dental Plak ve Çürük Mikrobiyolojisi

Ağız boşluğunda kolonize olmuş 500 türden fazla mikroorganizma yaşamaktadır. 1 mililitre (ml) tükürük içerisinde, ağız florasına ait bakterilerden 200 milyona yakın mikroorganizma bulunmaktadır (Whittaker ve ark., 1996). Bu mikroorganizmalar oldukça karmaşık bir yapıya sahip

olmalarına rağmen, ortam içerisindeki doğal dengeleri sayesinde herhangi bir hastalığa ya da bozukluğa neden olmazlar (Koray, 1981; Bowden ve Edwardsson, 1994; Ataoğlu ve Gürsel, 1997).

Ağız boşluğu, muköz membranın ve dişlerin yüzey özelliklerine bağlı olarak, devamlı bir mikrobiyal kolonizasyona maruz kalır. Ağız içi epitelin devamlı olarak yenilenmesiyle, yüzeyde yoğun olarak bulunan streptokoklar dökülerek uzaklaşır. Ancak dişler üzerinde, epiteldeki gibi bir yenilenme söz konusu değildir. Mikroorganizmalar bu bölgelerde herhangi bir mekanik ya da kimyasal etkene maruz kalmadan çoğalabilirler (Bowden ve Edwardsson, 1994; Whittaker ve ark., 1996; Ataoğlu ve Gürsel, 1997; Baehni ve Takeuchi, 2003; Stamatova ve ark., 2009).

Dental plağa yapışarak çürük oluşumuna sebep olan bakterilerin asidojenik (asit üretim kabiliyeti) olmasa da asidürik (asit ortamda varlığını sürdürme yeteneği) olması gerekir (Thylstrup ve Fejerskov, 1994; Bradshaw ve Marsh, 1998; Lingström ve ark., 2000; Hale, 2003). Ağız içinde yer alan mikroorganizma tiplerinden sıklıkla çürüğe sebep olanlar streptokoklardır. Bunlar; *S. mutans* (Lingström ve ark., 2000), *S. sangius*, *S. salivarius* ve *S. milleri*'dir (van Houte, 1994; Law ve ark., 2007).

1.1.1.1. ***Streptococcus mutans***

Clarke 1924 yılında, İngiltere'de bir çocuğun dişinden izole etmiş olduğu Streptokoka *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) adını vermiştir. Brathall 1970 yılında, *S. mutans* suşlarını a, b, c, d, serotipleri olarak sınıflandırmış ve daha sonra bu serotiplere f ve g serotipleri de eklenmiştir. Coykendall (1977), DNA bazlı sınıflandırmasında benzer streptokokları bir bütün olarak "*Mutans Streptokoklar* (MS)" olarak isimlendirmiş; sadece serotip c, e, f suşlarını *S. mutans* olarak ayırmış ve a, b, d, g suşlarını sırasıyla *S. rattus*, *S. cricetus* ve *S. sobrinus* serotipleri olarak isimlendirmiştir. Serotip c MS, insan izolatlarının

yaklaşık %70-100'ünü oluşturur ve çürük yapıcı bir bakterinin sahip olması gereken tüm özellikleri taşımaktadır (Coykendall, 1977; van Houte, 1993; Alaluusua ve ark., 1996; Seki ve ark., 2006; Law ve ark., 2007).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda MS'lerden *S. mutans*'ın ve daha az olmak üzere *S. sobrinus*'un insan diş çürüğündeki primer etken ajanlar olduğu ortaya konmuştur (Hamada ve Slade, 1980; Gibbons ve ark., 1986; Loesche, 1986, van Houte, 1994; Fejerskov ve Kidd, 2003; Banas ve Vickerman, 2003) Plak içinde bulunan *S. mutans*'lar diğer mikroorganizmalara göre daha karyojenik olsa da, miktar olarak *S. sobrinus* daha fazladır (Scheie, 1994; van Houte, 1994; Marsh, 1994). Bu mikroorganizmaların en önemli virulans özelliği ekstraselüler polisakkarit (glukan) (EPS) yapabilmesidir (Banas ve Vickerman, 2003; Koo ve Jeon, 2009). Bu durum plak kütlesindeki artışa bağlı olarak, plağın karyojenitesinin de artacağı konusundaki tartışmaları başlatmıştır (Loesche, 1986; Fejerskov ve Kidd, 2003). Plak kütlesindeki artış, diş yüzeyinde bulunan *S. mutans* kolonizasyonu ve plak matriksindeki difüzyon artışına bağlı oluşur (Koo ve Jeon, 2009). *S. mutans* çürük gelişimiyle pozitif bir ilişki gösterir. Diş yüzeylerinde başlangıç çürük lezyonundaki flora ve kavite oluşmuş çürük lezyonları yüksek seviyede *S. mutans* içerir (van Houte, 1994; Fejerskov ve Kidd, 2003).

Çocukların plak florasında *S. mutans*, gerek biberon çürüklerinde, gerekse aktif çürüklerde son derece baskındır (van Houte ve ark., 1982; van Houte, 1994). Çürük florasında, neredeyse tamamen, *S. mutans* varlığı söz konusudur. *S. mutans*'ın çürük lezyonunun ilerlemesinde olduğu kadar, başlangıcında da etkili olduğu gösterilmiştir (Stephan, 1944; Bolgöl ve ark., 2004, Poureslami ve van Amorengen, 2009). *S. mutans*'ların çürük lezyonuyla ilgili plak bölgesinde, aktif olmayan çürük bölgesine oranla daha çok EPS ürettiği gösterilmiştir (van Houte, 1994; Lingström ve ark., 2000). EPS sentezi daha hacimli plak yapımına katkıda bulunur (Lingström ve ark., 2000).

Plak pH'sı ile plaktaki *S. mutans* ve Laktobasil (LB) seviyeleri arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (Stephan, 1944; van Houte, 1994). Plak pH'sının düştüğü bölgelerde *S. mutans* ve LB aktivitesi son derece yüksektir. Özellikle "beyaz nokta" lezyonları buna iyi bir örnektir. Bu lezyonun yüzeyinde var olan *S. mutans* sayısı, dişlerin diğer yüzeylerindeki plaktan birkaç kat daha fazladır (Stephan, 1944; Marsh, 1994; Bolgöl ve ark., 2004).

1.1.1.2. Lactobasiller (LB)

Asit ortam içinde görülen LB'lerin asidürisi ve asidojenitesi son derece yüksektir (van Houte, 1980; Loesche, 1986; van Houte ve ark., 1990; van Houte, 1994; Chung ve ark., 2004). Fissürlerde, aproksimal bölgelerde, bukkal ve lingual kuron yüzeylerinde bulunan plaktaki LB'ler, plak florasının oldukça az ya da ihmal edilebilecek bölümünü oluştururlar (van Houte, 1994). Buna karşın, ilerlemiş (kavitasyon oluşmuş) çürük lezyonlarında miktarı ve görülme sıklığı daha fazla bulunmuştur (Loesche, 1986; Toi ve ark., 2000; Chung ve ark., 2004). Bu da LB'lerin gerek kuron, gerekse kök yüzeyindeki başlangıç aşamasındaki yüzeyel çürük lezyonlarında yer almasına rağmen, çürük lezyonunun ilerlemesinde daha etkin olduğunu gösterir (Loesche, 1986; Adair, 1988; van Houte ve ark., 1990; Bowden ve Edwardsson, 1994; Marsh, 1994; van Houte, 1994; Chung ve ark., 2004).

1.1.1.3. Diğer Mikroorganizmalar

Plakta *S. mutans* ve LB'lerden başka birçok mikroorganizma bulunmaktadır (van Houte, 1994). Bunlardan sayıca baskın olanlar, *S. mutans* hariç diğer Streptokok türleri, Aktinomiçes ve Weillonella'dır (van Houte ve ark., 1980; van Houte, 1994). Bu üç grup, toplam floranın neredeyse yarısını

oluşturmaktadır. Bunlardan daha az sıklıkla olmak *Neisseria*, *Bakteroides*, *Bifidobakteriyum*, *Klostridyum*, *Eubakteriyum*, *Propionibakteriyum* ve *Rothia* da plakta bulunan asidojenik potansiyele sahip mikroorganizmalardır (van Houte, 1994). Çürük etiyolojisinde *S. mutans* ve LB'lerin diğerlerine göre daha çok görülmesinin sebebi, diğer mikroorganizmaların asidojenitesinin ve asidürisinin daha düşük olması, buna bağlı olarak da karyojenik potansiyellerinin ya çok düşük olması ya da olmamasıdır (Gibbons ve ark., 1986; Scheie, 1994; van Houte, 1994; Marsh, 1994). Plakta bulunan bu mikroorganizmalardan bir ya da iki grup, çürük etiyolojisinde rol oynayacak derecede çürük yapıcı özelliğe sahiptir (van Houte, 1994). Ancak bunlarda temel problem asidojenik olmalarına rağmen, yeterli karyojenik potansiyel göstermemeleridir (Gibbons ve ark., 1986; Scheie, 1994; van Houte, 1994; Marsh, 1994).

1.1.2. Plak Yapısında Çürüğe Bağlı Oluşan Değişiklikler

Plak içinde bulunan mikroorganizmalar bölgeden uzaklaştırılmadıkları ya da herhangi bir etki altında kalmadıkları sürece, plağın altında kalan diş bölgesinde, artan metabolik aktiviteye bağlı olarak, çürük yapıcı etkileri artar (Whittaker ve ark., 1996). Tüm bunlar, insanlarda bulunan plaktaki bakteriyel asit ürünlerinin varlığında ve artışı sonucunda normal olarak görülen demineralizasyon-remineralizasyon dengesinin demineralizasyon lehine bozulduğunu gösterir (Featherstone, 2000). Bu durumda da çürük başlar (Whittaker ve ark., 1996; Hicks ve ark., 2003).

Plak yapısında çürüğe bağlı oluşan değişiklikler üç ana başlık altında incelenebilir:

1.1.2.1. Konakçıya Bağlı Faktörler (Tükürüğün Etkileri)

Tükürük, ağız sağlığının korunmasında birçok etkiye sahiptir (Mandel, 1974; Lagerlöf ve Oliveby, 1994; van Houte, 1994; Miletic ve ark., 1996; Marcotte ve Lavoie, 1998; Brambilla ve ark., 2000; Lenander-Lumikari ve Loimoranta, 2000; Humphrey ve Williamson, 2001; Hicks ve ark., 2003; Amerongen ve Veerman, 2002).

Tükürük, diş yüzeylerinin demineralizasyondan korunmasına ve oral floranın yaşayış tarzı üzerine etki eder (Brambilla ve ark., 2000). Tükürük azlığına bağlı olarak oral florada asidojenik ve asidürik bakteriler çoğalmaya başlar. Özellikle ağız kuruluğu olan hastalarda görülen yüksek miktarda *S. mutans* ve LB'ler bu duruma iyi birer örnektir. Tükürükteki antibakteriyel etki gösteren faktörlerin azalması, beraberinde yıkama ve tamponlama kapasitesindeki azalma çürük lezyonunun ilerlemesine yardımcı olur. Bununla birlikte ağız kuruluğu olan hastaların kullandığı yapay tükürük ve floridli preperatlar tamponlama, yıkama ve remineralizasyon açısından başarılı olmuştur (Bowden ve Edwardsson, 1994; Hicks ve ark., 2003)

1.1.2.2. Dental Plakın Yapısına Bağlı Faktörler

Dental plak içinde bulunan asidojenik ve asidürik bakterilerin metabolitleri, çürük oluşumu için olması gerekli maddelerdir (Stephan, 1944; Bradshaw ve Marsh, 1998; Bolgöl ve ark., 2004). Dental plakta, lokalize alanlarda bulunan odontopatojenlerden baskın olanlarının sayısının artmasıyla, plak pH'sı düşer ve çürük riski artar (Lingström ve ark., 2000; Campus ve ark., 2009). Tükürüğün azlığı, karbonhidrat alımında artış ve diğer daha az bilinen faktörler (katyon salınım miktarı gibi) plak pH'sındaki düşüşe yardım ederler. Bu durum dengeyi odontopatojenler yararına değiştirir. Yüksek karbonhidrat

tüketimi sonucu oluşan ekstraselüler ve intraselüler polisakkarit ürünlerinin normalden fazla oluşu da çürüğe yol açar (Bowden ve Edwardsson, 1994; Hicks ve ark., 2003).

1.1.2.3. Konakçı Dışındaki Faktörler

Karbonhidrattan zengin diyet, plak bakterileri için son derece elverişli bir besin kaynağıdır. Diş sağlığını, dental plak kompozisyonuna olan etkisiyle değiştirir. (van Houte, 1994; Marsh, 2003; Ten Cate, 2009). Özellikle monosakkaritlerden; glukoz ve sukroz içeriği fazla olan diyetle beslenenlerde, bakteriyel asit ürünleri ve düşük pH daha çok görülür (van Houte, 1994; Edgar, 1998; Gales ve Nyugen, 2000; Campus ve ark., 2009; Ten Cate, 2009). Alınan yüksek miktar karbonhidratlar, plağın hacmini artırır ve kompozisyonunu değiştirir (Marsh, 2003; Bowden ve Edwardsson, 1994; Hicks ve ark., 2003; Ten Cate, 2009).

Karbonhidrat alımının, çürük başlangıcında ve çürük aktivitesindeki artışta pozitif rol aldığı gösterilmiştir (van Houte, 1994; Gales ve Nyugen, 2000; Hicks ve ark., 2003; Paes Leme ve ark., 2006; Ten Cate, 2009). Sukroz, tüm fermente olabilir karbonhidratlar arasında en önemlisidir (Gales ve Nyugen, 2000; Paes Leme ve ark., 2006; Ten Cate, 2009). Bu önemi de oral kavitede yüksek miktarda bulunmasından değil, *S. mutans* ve LB tarafından EPS yapımında kullanılıyor olmasından kaynaklanır (Hicks ve ark., 2003).

EPS'lerin çürük gelişiminde rol oynadığı ve plak patojenitesini arttırdığı görülmektedir. Bazı bakterilerin (*S. sangius*, *S. salivarius* ve *S. mutans*) sukrozdan ekstraselüler homopolisakkaritleri oluşturma kapasiteleri vardır. Bu mikroorganizmalardan salgılanan glikozil transferaz enzimi ile sukroz, fruktoz ve glukozu parçalanır. Fruktozlardan, yüksek derecede çözünebilir

fruktan polimerleri oluşmakta ve bakterilerce karbonhidrat kaynağı olarak kullanılmaktadır (Hicks ve ark., 2003).

1.1.3. Plağın Mikrobiyal Kompozisyonu ve Plak pH'sı Arasındaki İlişki

Karbonhidrat alımı, plağın mikrobiyal kompozisyonu, plak pH'sı ve çürük aktivitesi arasında aktif bir ilişki varlığı da diğer bir tartışma konusudur. MS ve LB'ler, diyetle alınan karbonhidratlardan bakteriyel–enfeksiyöz bir hastalık olan çürüğü meydana getirirler. Diyetle alınan karbonhidratlar, EPS yapımını kolaylaştırarak plak florasında MS ve LB gibi organizmaların sayısının artmasına, plak pH'sında düşüğe ve çürük riskinde artışa sebep olur (Mandel, 1974; van Houte, 1994; Edgar, 1998; Gales ve Nyugen, 2000; Koo ve Jeon, 2009).

MS ve LB'lerin plaktaki sayılarındaki değişimden sorumlu olan faktörler de önemli bir sorundur. Bunlar genelde; sükrozdan EPS sentezleyebilme yeteneği ve bu bakterilerin yüksek asidüresidir. MS, EPS sentezi sayesinde dış yüzeyindeki pelikula yapımakta ve plaktaki sayılarını arttırmaktadır (van Houte, 1994; Hicks ve ark., 2003). MS ve LB'lerin asidüresi, plakta bulunan diğer mikroorganizmalara oranla, plak içindeki düşük pH'da daha kolay çoğalırlar (Mandel, 1974; van Houte, 1994).

Plak pH'sını değiştiren bir diğer durum ise plak matriksidir. *S. mutans* tarafından sukrozdan yapılan ve plakta bulunan suda çözünmeyen EPS'ler bakteriyel asitlerin plak dışına doğru çıkışını engeller ve plağın karyojenik potansiyelini arttırırlar (Whittaker ve ark., 1996; Banas ve Vickermann, 2003). Prensipte plak matriksi EPS'lere ek olarak bakteriyel ekstrasellüler polimerlerin sıralanmasıyla oluşur. Bunlara tükürük glikoproteinleri örnek olarak verilebilir (Marsh, 1994; Whittaker ve ark., 1996; Banas ve Vickermann, 2003).

1.2. Tükürük ve Plak Florasının Koruyucu Yöntemlerle Değiştirilmesi

Tükürük ve dental plakta diş çürüğüne sebep olan değişikliklerin ortadan kaldırılması, bu duruma neden olan çevresel ve mikrobiyolojik faktörlerin elimine edilmesine bağlıdır (Adair ve Xie, 2009). Birbirleri ile ilişkili birçok zıt faktör bulunsa da, sinerjizm oluşturacak farklı metodlar kullanılarak çürüğün ortadan kaldırılması başarılabılır (Bowden ve Edwardsson, 1994; Adair ve Xie, 2009; Allaker ve Douglas, 2009).

Plak ekolojisiyle ilgili genel kavramlar göz önüne alındığında, plak ve oral dokular arasında, oral flora açısından bir denge sağlanmalıdır (Hale, 2003; Adair ve Xie, 2009). Oral hijyen motivasyonu, diyetin düzenlenmesi, odontopatojenik bakterilerin eliminasyonu ya da fissür örtücü kullanılarak ortamın korunması veya değiştirilmesi de bu dengenin sağlanmasında yararlı yaklaşımlardır (Bowden ve Edwardsson, 1994; Adair ve Xie, 2009). Çalışmalar, dental plakta bulunan bakteriyel içeriğin değiştirilmesi, ortadan kaldırılması ve çürük oluşumunun azaltılması üzerinde yoğunlaşmıştır (Bowden ve Edwardsson, 1994; Hale, 2003).

Mikrobiyal ortamın, oral sağlık yönünden değiştirilmesinin etkinliğinde en önemli nokta, plak patojenitesini azaltan ajanlar (Flor, klorheksidin vb gibi) ve /veya çevresel değişikliklere karşı plak mikroflorasının adaptasyonudur (Bowden ve Edwardsson, 1994; Adair ve Xie, 2009).

Çürük içindeki bakteriyel adaptasyonun pratik önemi, patojenik plak ya da spesifik odontopatojen olup olmasına dayanır. Bunların patojeniteleri çevresel faktörlere ve spesifik durumlara adaptasyonları ile devam eder. Karyolojide ideal mikrobiyolojik kontrol ya da tedavi edici yaklaşım, yerleşik oral flora üzerine uzun süreli ve floranın kendini adapte edemeyeceği süre

uygulanan tedavi şeklidir (Bowden ve Edwardsson, 1994; Adair ve Xie, 2009).

1.2.1. Plak Asit Ürünlerinin Değiştirilmesi

Plaktaki bakteriyel metabolizma üzerine etki ederek çürüğün ortadan kaldırılmasına ilişkin yaklaşımlardan biri, rafinerize karbonhidrat yerine (sukroz), aspartam, siklamat ve sakkarin gibi yapay şekerlerin konmasıdır (Featherstone, 2000; Burt, 2006; Adair ve Xie, 2009). Bu yapay şekerler çok az bakteri tarafından kullanılabilir. Oral bakteriler tarafından fermente edilemedikleri için çürük yapmayan maddeler olarak kabul edilirler (Burt, 2006; Makinen, 2010).

Kullanılan diğer tip maddeler de sukrozla yer değiştiren sorbitol, mannitol, pentinol ve ksilitol gibi şeker alkolleridir (van Loveren, 2004; Burt 2006; Deshpande ve Jadad, 2008; Makinen, 2010). Şeker alkollerinin metabolizasyonları sonucunda ya çok az ekstraselüler polisakkarit oluşur ya da hiç oluşmaz (van Loveren, 2004). *S. mutans* ve *S. sangius* gibi dental plakta bulunan bazı bakteriler, şeker alkollerinin metabolizasyonu için kendilerini adapte edebilmektedir. Ancak şeker alkollerinden bazıları sukrozla beraber verildiğinde bu etki görülmemiştir (van Loveren, 2004). Sorbitol tüketim artışıyla beraber, plak içinde sorbitol fermente edebilen bakteri sayısının yükseldiği görülmüştür (Chandler, 1992; Burt 2006). *S.sangius* da bu bakterilere örnek olarak verilebilir (Bowden ve Edwardsson, 1994; Cury ve ark., 2000). Plak florasındaki bu değişiklik, değiştirilmiş karbonhidrat alımına uyumu en iyi şekilde açıklar. Ancak bu değişimin çürük fizyolojisi üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir (Bowden ve Edwardsson, 1994; Cury ve ark., 2000; van Loveren, 2004; Burt 2006; Deshpande ve Jadad, 2008; Makinen, 2010).

1.2.2. Florid

Günlük oral hijyen aktivitelerine ek olarak florun günlük kullanımının, plak florasının metabolik aktivitesini düşürdüğü kanıtlanmıştır (Bradshaw ve Marsh, 1998; Baehni ve Takeuchi, 2003; Ten Cate, 2009). Diş macunları gibi, mekanik diş temizliğine ek olarak, florürlerin günlük kullanımının, çürük önlemede en başarılı yol olduğu görülmüştür (Featherstone, 2000; Adair ve Xie, 2009). Floridin plak florasının metabolik aktiviteleri üzerine etkisi, insanlarda çürüğü azaltıcı birkaç nedenden biri olarak görülebilir (Bowden ve Edwardsson, 1994; Bradshaw ve Marsh, 1998; Featherstone, 2000; Baehni ve Takeuchi, 2003; Ten Cate, 2009).

Plak florası yüksek miktardaki flor varlığına adapte olabilmesine rağmen, bu yüksek miktar florun varlığında düşük pH oluşturmamaktadırlar (Featherstone, 2000). Floridin yüksek miktarlarındaki varlığında plak pH'sının sabitlenmesi hem mineyi korur, hem de *S. mutans* gibi odontopatojenlerin düşük pH oluşturabilme yeteneklerini azaltır (Cury ve ark., 2000; Featherstone, 2000).

1.2.3. Antimikrobiyal Ajanlar

Bakteriyel dental plak kompozisyonunun değiştirilmesi için, diğer oral hijyen uygulamalarına ek olarak ticari uygunluğu olan gargara ve macunlara antimikrobiyal ve antiplak ajanlar eklenmiştir (Featherstone, 2000; Allaker ve Douglas, 2009). Ancak eklenen bu ajanların önemli bir etkisi görülmemiştir (Fejerskov ve Kidd, 2003).

Klorheksidin antiplak etkisi, 20 yıldan fazla bir süredir bilinmektedir. Bugün klorheksidin, profilaktik amaçla ve çürük aktif bireylerde tedavi edici olarak

kullanılmaktadır (Bowden ve Edwardsson, 1994; Featherstone, 2000; Baehni ve Takeuchi, 2003; Allaker ve Douglas, 2009).

Klorheksidin diglukonat, çürük tedavisinde, plaktaki ve tükürükteki *S. mutans* sayısını azaltmak suretiyle kullanılabilir. Klorheksidin cilayla yapılan yoğun tedavi sonrası, *S. mutans* sayısı uzun süre düşük miktarda tutulmasına rağmen, tam olarak elimine edilememiştir (Bowden ve Edwardsson, bölüm 3, 1994; Scheie, 1994; Ogaard ve ark., 1997; Twetman, 2004; Wicht ve ark., 2004; Zhang ve ark., 2006).

1.2.4. Bakteriyoterapi

Çok dirençli suşların ortaya çıkmasıyla beraber oluşan antibiyotik bağışıklığı, dünya çapında gittikçe artan bir öneme sahiptir ve enfeksiyon hastalıklarıyla savaşımında, bilim adamlarının yeni arayışlar içine girmesine neden olmuştur (Borody ve ark., 2003; Adair ve Xie, 2009).

Geçmişte, sağlığa yararlı bakterilerin kullanılmasını içeren düşünce, günümüzde modern çalışma tasarım metotları kullanılarak, yaygın şekilde araştırılmaktadır (Borody ve ark., 2003; Çağlar ve ark., 2005a; Meurman ve Stamatova, 2007; Adair ve Xie, 2009). Bu tip bakterilerin çeşitli gastrointestinal sistem hastalıklarının tedavisinde yardımcı, çocuklarda allerjik reaksiyonların ortaya çıkışını geciktirmede etkin, kadınlarda vajinal ve üriner sistem enfeksiyonlarının tedavi ve önlenmesinde yararlı olduğu ortaya konulmuştur (Koop-Hoolihan, 2001; Ouwehand ve ark., 2002a; Borody ve ark., 2003; Broussard ve Surawicz, 2004; Isolauri, 2004; Floch ve Montrose, 2005; Vanderhoof ve Young, 2005; de Vrese ve Marteu, 2007).

Besinlerle birlikte veya ayrı olarak alınan, mukozal ve sistemik immüniteyi düzenleyerek, konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen bu canlı

mikroorganizmalara "probiyotik" adı verilir. "Pro" ve "biota" olmak üzere iki kısımdan oluşan bu terim "for life" (yaşam için) anlamını taşımakta olup, antibiyotik teriminin karşıtıdır (Gibson ve Roberfroid, 1995; Ötleş ve ark., 2003; Hill ve Guarner, 2004; Isolauri ve ark., 2004). Patojen bakterilerin kontrolü için, patojen olmayan bakterilerin kullanılması anlamına gelir. Probiyotiklere "biyoterapötik ajanlar" da denir. Probiyotik ile tedaviye "bakteriyel yerine koyma tedavisi", "bakteriyoterapi" ve "patojen mikroorganizmaların patojen olmayanlar ile kontrolü tedavisi" şeklinde adlandırmalar da yapılmaktadır (Gibson ve Roberfroid, 1995; Markowitz ve Bengmark, 2002; Reid ve ark., 2003; Hill ve Guarner, 2004; Isolauri ve ark., 2004; Cabana ve ark., 2006, de Vrese ve Marteau, 2007). Bakteriyoterapi, enfeksiyonlarla mücadele etmenin alternatif ve umut vaat eden bir yolu olup enfeksiyon hastalıklarını, özellikle de; mide-bağırsak yolunda dirençli suşlar tarafından oluşturulan sorunları araştıran ve patojen mikroorganizmaların yerine, zararsız bakterilerin yerleştirilmesi şeklinde uygulanan bir tedavi yöntemidir (Houvinen, 2001).

1.3. Tükürük ve Plak Florasının Değıştirilmesinde Bakteriyoterapi

1.3.1. Prebiyotikler

İnsanlarda gastrointestinal sistemdeki (GİS) bakteriyel populasyon, karmaşık bir ekosistemden oluşur. GİS' te bulunan organizmaların çoğu yararlı olmakla birlikte (örneğin bifidobakteriumlar ve LB'ler), bazıları da zararlı etkiye sahiptir (örneğin Salmonella türleri, *Helicobacter pylori*, *Clostridium perfringens*). Prebiyotikler, GİS'te bir veya daha fazla yararlı bakterinin çoğalmasını ve gelişimini etkileyen, konakçı için faydalı sindirilemeyen besin maddeleridir (Gibson ve Roberfroid, 1995; Bengmark,

2001; Guarner ve Malagelada, 2003; Gibson, 2004; Çağlar ve ark., 2005a; de Vrese ve Marteau, 2007).

Prebiyotiklerin temel yararları, bağırsaktaki zararlı ve zararlı olma potansiyeline sahip bakterilerin sayısını azaltmasıdır (Gibson ve Roberfroid, 1995; Bengmark, 2001; Guarner ve Malagelada, 2003; Gibson, 2004; Salvini ve ark., 2004). Prebiyotikler, enfeksiyöz diyare gibi durumların oluşma riskini azaltır (de Vrese ve Marteau, 2007). İkinci olarak, kalın bağırsak hareketlerinin artışı sağlayarak besinlerin bağırsaktan geçiş sürecini hızlandırır. Dışkı niteliğini değiştirir, bağırsak düzenliliğini sağlar, kan kolesterol ve trigliserid düzeylerini olumlu yönde etkiler, immün sistemi güçlendirir ve dışkı kütlesini arttırmaları (Gibson ve Roberfroid, 1995; Salvini ve ark., 2004).

Bir besin bileşeninin prebiyotik olarak nitelenebilmesi için;

1. Mide ve pankreas enzimlerine dirençli olması,
2. Fermente olarak seçici bir biçimde bir veya daha çok türde bakterinin çoğalmasını sağlaması,
3. Kolon florasını daha sağlıklı olacak şekilde değiştirebilmesi,
4. Kolon florasının bağırsak lümeni içinde ve genel sağlık açısından yararlı etkilerini indüklemesi koşulları aranmaktadır. (Gibson ve Roberfroid, 1995; Bengmark, 2001)

Çizelge 1.1. Prebiyotik çeşitleri (Gibson ve Roberfroid, 1995)

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

Prebiyotikler arasında inülin, frukto-oligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkarit ve laktüloz yer alır (Gibson ve Roberfroid, 1995, Guigoz ve ark., 2002; de Vrese ve Marteau, 2007). FOS ve diğer prebiyotikler, insanlar tarafından sindirilemeyen veya emilimi sağlanamayan doğal olarak meydana gelmiş karbonhidratlardır. Bunlar bifidobakterilerin çoğalmasını desteklerler. Prebiyotikler, kolon florasında yer alan LB'ler ve bifidobakterilerin çoğalmasını uyarırlar. Probiyotik etkiyi güçlendirmek için, bifidobakteri alan hastalara, bir prebiyotik olan, FOS takviyesi yapılması tavsiye edilmektedir (Vanderhoof ve Young, 2002).

1.3.2. Probiyotikler

Bakterilerin, vücudumuza zararlı ve hastalıklara neden olduğu kanısı uzun yıllar kabul görmüştür. Oysa günümüzde sayıları giderek artan bilimsel araştırma sonuçları, canlı mikroorganizmaların bazı hastalıkların tedavisinde, hatta önlenmesinde kullanılabileceğine işaret etmektedir. Genelde "doğal" olanı kullanma ve tüketme alışkanlığının bulunması "probiyotiklere" olan ilgiyi arttırmıştır (Ouwehand ve ark., 2002b; Borody ve ark., 2003; Broussard ve

Surawicz, 2004; Isolauri, 2004; Floch ve Montrose, 2005; Vanderhoof ve Young, 2005).

Probiyotikler; gıdalar yoluyla alındığında, insan sağlığı üzerinde (bağırsaklar ve immün sistem) yararlı etki gösteren bakteri kültürleri veya mikro organizmalardır. (Gorbach, 2002; Ouwehand ve ark., 2002a; Guarner ve ark., 2005, Elahi ve ark., 2005; Meurman ve Stamatova, 2007; Twetman ve Steckslen-Blicks, 2008; Bonifait ve ark., 2009).

Probiyotikleri ilk gündeme getiren 1907 yılında, Ukrayna doğumlu biyolog ve Nobel ödüllü Elie Metchnikoff, laktik asit bakterisi içeren Bulgar yoğurdunun sağlığa iyi geldiğini gözlemlemiş ve Paris'te Pasteur Enstitüsünde yaptığı çalışmaları sonucunda *L. bulgaricus* adındaki suşu keşfetmiştir (Koop-Holihan, 2001; Ouwehand ve ark., 2002a; Ötleş ve ark., 2003; Sanders, 2003). Böylece probiyotik kavramı doğmuş ve mikrobiyolojide yeni bir çağır açılmıştır. Antibiyotik teriminin bir karşıt anlamlı olan probiyotik terimi ise ilk olarak 1965 yılında Lilley ve Stillwell tarafından ortaya atılmıştır. Araştırma yapılan ilk probiyotik türleri, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobakteriyum bifidum* olmuştur (Reid ve ark., 2003; Kargul ve ark., 2003; Çağlar ve ark., 2005a; Guarner ve ark., 2005, Meurman ve Stamatova, 2007).

Tanım olarak probiyotikler; genel beslenmenin ötesinde, belli miktarlarda gıdalar yoluyla alındığında, sağlıklı bağırsak bakteriyel florasını destekleyen bakteri kültürleri veya mikro organizmalardır (Gorbach, 2002; Ouwehand ve ark., 2002a; Guarner ve ark., 2005; Elahi ve ark., 2005; Meurman ve Stamatova, 2007; Twetman ve Steckslen-Blicks, 2008; Bonifait ve ark., 2009). Bu işlevi nedeniyle probiyotikler, konakçıda bağırsak mikrobiyal dengesini geliştirerek, yararlı bir şekilde etki gösteren ve gerektiğinde floraya yerleşerek yaşayabilen bakterilerdir (Salminen ve ark.; 1998). Bu bakterilerin bağırsaktaki taşınma esnasında canlı kalabilmeleri, bağırsak mukozasına yapışabilmeleri, yararlı etkilerini

göstermek üzere antimikrobiyal maddeleri üretmeleri, asit ve safraya karşı koyabilmeleri için, doğal floraya ait olmaları gerekmektedir (Salminen ve ark., 1998, Tuomola ve ark.; 2001).

Probiyotik mikroorganizmalarda aranan özellikler:

1. Patojen ve toksikojenik olmamalı,
2. Mide asidi ve safraya dirençli olmalı,
3. Bağırsak hücre epiteline tutunabilmeli,
4. Gastrointestinal sistemde geçici olarak kolonize olabilmeli,
5. Doğal floraya adapte olabilmeli,
6. Antimikrobiyal özellikte salgı yapabilmeli,
7. Konakçının sağlığına olumlu katkı yapmalı (Saarela ve ark., 2000; Ouwehand ve ark., 2002a; Young ve Huffman, 2003).

Probiyotiklerin bağırsak ortamında oluşturduğu değişikliklerden doğan bir takım potansiyel yararlar vardır (Golledge and Riley, 1996). Bu potansiyel yararlar arasında;

- a) Enfeksiyöz hastalıklara artan direnç (Perdigon ve ark.; 1995; Arunachalam ve ark.; 2000),
- b) Laktoz intoleransının hafifletilmesi (McDonough ve ark.; 1987),
- c) Gastrit tedavisinde yardımcı araç olarak kullanılması (Elmer ve ark.; 1996),
- d) Vajinal ve ürogenital enfeksiyonların önlenmesi (Hilton ve ark.; 1992),
- e) Diyarenin önlenmesi (Vanderhoof ve ark., 1999),
- f) Gut hastalığının önlenmesi (Naidu ve ark.; 1999),
- g) Kan basıncının düşürülmesi ve hipertansiyonun düzenlenmesi (Fuller, 1997),
- h) Serum kolesterol konsantrasyonunu azaltılması (Ataie-Jafari ve ark., 2009),

- i) Allerjiyi hafifletmesi (Bengmark, 2000; Martinez-Canavate ve ark., 2009),
- j) Kanser kemotarepisine direncin arttırılması ve kolon kanseri riskinin azaltması (von Bultzingslowen ve ark.; 2003) yer alır.

Ayrıca probiyotiklerin bir diğer yararı da, çocuklarda solunum yolu enfeksiyonlarının gelişimini ve şiddetini de azaltmasıdır (Gibson, 1998).

Probiyotik olarak sıklıkla kullanılan suşlar arasında *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *B. longum* ve *B. infantis* sayılabilir (Ouwehand ve ark., 2002a). *Escherichia*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Streptococcus* ve *Saccharomyces* (bir maya türü) grubundan suşlar da vardır (Koop-Hoolihan, 2001; Ouwehand ve ark., 2002a; Young ve Huffman, 2003; Şenok ve ark., 2005, Meurman ve Stamatova, 2007).

Çizelge 1.2. Ticari olarak kullanılan probiyotik suşları (Coşkun, 2006)

<i>Lactobacillus</i> suşları	<i>Bifidobacterium</i> suşları
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. johnsonii</i>	
<i>L. lactis</i>	<i>Mayalar</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>	
<i>L. reuteri</i>	
<i>L. rhamnosus</i>	
<i>L. salivarius</i>	
<i>Streptococcus</i> suşları	
<i>S. thermophilus</i>	

Tüm probiyotik bakteriler aynı etkinliğe sahip değildir. En sık kullanılan ve çalışılan probiyotikler, LB'ler ve bifidobakterilerdir (Juntunen ve ark., 2001; Ouwehand ve ark., 2002a). Probiyotik amaçlı olarak en yaygın kullanılan mikroorganizma *Lactobacillus rhamnosus* GG, ATCC 53103 (veya *Lactobacillus* GG) dir. Tufts Üniversitesi'nde Sherwood Gorbach ve Barry

Goldin tarafından bulunduğu için “GG” eki kullanılmaktadır (Doron ve ark., 2005). LGG’lerin insan sağılığı üzerine olan faydalı etkileri, birçok deneysel ve klinik çalışmayla gösterilmiştir (Surawicz ve ark., 1989; Saavedra ve ark., 1994; Isolauri ve ark., 2000; Kalliomaki ve ark., 2001a; Ouwehand ve ark., 2002a; Meurman, 2005). LGG’nin, içerisinde karyojenik Streptokok türlerinin de bulunduğu farklı bakteri tiplerine karşı, potansiyel durdurucu aktivite gösteren bir madde ürettiğı belirlenmiştir (Silva ve ark., 1987). Bazı ürünlerde ise birkaç probiyotik mikroorganizma türü bir araya getirilmiştir (Gionchetti ve ark., 2005).

1.3.2.1. Probiyotik Etkinin Mekanizmaları

Probiyotikler mide patojenlerinin kolonizasyonuna karşı mukozal bariyeri güçlendirir ve diyare sonrası mide mikrobiyotasının normale dönmesini sağlar (Saavedra ve ark., 1994; Ouwehand ve ark., 2002a; Antoine, 2010). İnce bağırsak mikrobiyotası yetersiz olduğunda bağırsakta permeabilite ve buna bağılı olarak da antijen taşınması artar (Ouwehand ve ark., 2002a; 2002b). Bakterilerin ince bağırsak mukozasına veya oral mukozaya bağlanmaları sonucu kolonizasyonlar oluşmaktadır (Ouwehand ve ark., 2002a). Probiyotikler, patojenlerle bağlantı bölgeleri ve mevcut substratlar için yarışır. Probiyotiklerin ince bağırsak mukozasına adezyonu, faydalı etkileri bakımından önemlidir (Ouwehand ve ark., 1999; Reid, 2001; Ouwehand ve ark., 2002b). Aynı zamanda probiyotiklerin, deney hayvanlarında görülen kalın bağırsak kanserlerinde enflamasyondan displaziye doğru olan ilerlemeyi azalttıkları da düşünülmektedir (Mego ve ark., 2005).

Tam olarak dökümente edilmiş en iyi probiyotik müdahale, akut enfeksiyöz diyarenin tedavisinde probiyotiklerin kullanılmasıdır. Klinik çalışmalar, bazı probiyotiklerin, daha çok süt çocuklarında görülen, akut rotavirüs diyaresinin

süresini azaltabileceğini göstermiştir (Shanahan, 2001). Meta analizlere göre de probiyotik uygulanmasının, antibiyotikle ilişkili diyarelerde çok faydalı olduğu görülmektedir (Cremonini ve ark., 2002).

Bağırsak dışı uygulamalarda probiyotik tedavisinin etkisi hakkında yapılan çalışmalarda, ağızdan verilen LGG içeren fermente süt ürünlerinin, potansiyel patojenik bakteriler tarafından oluşturulan nasal kolonizasyonu ciddi şekilde azalttıkları gösterilmiştir. Bunların arasında *Stafilokokus aureus*, *S. pneumony* ve beta-hemolitik streptokoklar mevcuttur (Glück ve Gebbers, 2003).

Probiyotik tür olarak yaygın şekilde kullanılan LGG'nin atopik egzama üzerindeki koruyucu etkisinin, bebeklikten erişkinliğe doğru arttığı görülmüştür (Kalliomaki ve ark.; 2001a, Kalliomaki ve ark.; 2001b). Bir probiyotik grubu olan bifidobakteriyumların sayıları, atopik dermatitli hastalarda sağlıklı bireylere göre belirgin derecede düşüktür ve alerjik bebeklerin feçeslerinde düşük düzeyde laktik asit üreten bakteriler mevcuttur (Watanabe ve ark.; 2003).

Probiyotiklerin gıda alerjisiyle ilgili olarak, alerjik enflamasyonun kontrol edilmesinde büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Vanderhoof ve Young, 2002).

Probiyotik tedavisinin güvenilirliğinin ele alınması gerekmektedir. Bu bakımdan akılda bulundurulması gereken önemli bir nokta, bu tarih tam olarak bilinmemekle beraber, yaklaşık milattan önce 3000'den itibaren laktik asidin gıda fermentasyonunda kullanıldığıdır. Laktik asit bakterilerinin güvenilirliği, probiyotik tedavisinin tanımlanmasıyla beraber sorgulanmıştır (Salminen ve ark., 2002). Bu açıdan Saavedra ve ark. (2004), probiyotik katkısı içeren formüllerin toleranslarını ve büyüme üzerine olan etkilerini, genel klinik durum ve ince bağırsak sağlığı bakımından incelemişlerdir. Sonuçlar formüllerin iyi tolere edildiğini ve güvenli olduklarını, kolik veya

irritabilitede azalmayı ve daha düşük antibiyotik kullanım frekansını göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları daha önceden iki *Bifidobakteriyum longum* suşunun güvenilirliğini inceleyen çalışmayla da uyumludur ve herhangi bir yan etki bulunamamıştır (Makelainen ve ark., 2003). Bu çalışmalarda da belirtildiği gibi gıda kullanımıyla ilgili herhangi bir kısıtlama olmamıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) nün de belirlediği kriterler göz önüne alınarak (2002), probiyotik özelliklere sahip suşların güvenle kullanılabileceği belirtilmektedir (Bonifait ve ark., 2009).

1.3.2.2. Probiyotik İçerikli Ürünler

Süt endüstrisi tarafından ticari probiyotik içeren ürünlerin üretiminde sağlanan artış, günümüzde “probiyotik” bakteri içermeyen yoğurt satmanın gittikçe zorlaşacağını göstermektedir. Kültür üreticileri bu ürünlerin, süt ürünlerinin her bir gram veya mililitresinde 10^6 probiyotik bakteri içerecek şekilde formüle edilmesini önermektedir (WHO ve FAO probiyotik değerlendirme rehberi, 2002). Ancak özellikle raf ömrünün sonlarında canlı bakteri sayıları bu düzeylerin altına düşebilmektedir (Çağlar ve ark., 2005a).

“Medikal probiyotikler” (mikrobik preperasyon) veya “diğer probiyotikler” (işlevsel gıda) başlıkları altında tanımlanan probiyotikler, market ürünlerinin içinde dört temel şekilde yer alır (Çağlar ve ark., 2005a; 2006; 2007; 2008a; 2008b).

- Bir içeceğe, gıdaya ya da aracı bir materyale (emzik, kamış, sakız) ilave edilen bir kültür konsantresi (örneğin meyve suyu).
- Probiyotik liflere aşılınmış şekilde.
- Süt kökenli gıdalara aşılınmış şekilde (süt, sütlü içecek, yoğurt, ayran, peynir, kefir, bio-içecek, dondurma).

- Diyet takviyesi olarak paketlenmiş konsantre ve kurutulmuş hücreler (toz, kapsül, jelatinli tabletler gibi süt dışı ürünler).

Ülkemizde en çok süt kökenli gıdalara aşılınmış olan probiyotikli ürünler tüketilmektedir. Dünyadaki mevcut probiyotik tür ve ürünler aşağıdaki çizelge 1.3.'de değerlendirilmiştir (Çağlar ve ark., 2005a):

Çizelge 1.3. Dünyadaki mevcut probiyotikler

TÜR	ÜRÜN	ÜRETİLDİĞİ ÜLKE
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Süt çocuğu Formülü	Türkiye
<i>B. breve</i>	İçecek	Japonya
<i>B. lactis</i>	Süt çocuğu formülü Araştırma İçecek	İsrail İsviçre Güney Afrika, Şili
<i>B. lactis HN019</i>	Araştırma	Yeni Zelanda
<i>B. longum</i>	Süt çocuğu formülü	Türkiye
<i>B. longum</i> SBT-2928	Süt	Japonya
<i>B. longum</i> BB536	Süt	Japonya
<i>B. sp.</i>	İçecek	Birleşik Krallık
<i>L. acidophilus</i>	Yoğurt İçecek Ayrar	Şili, ABD, Birleşik Krallık Avusturya
<i>L. acidophilus</i> 5	Yoğurt	Birleşik Krallık
<i>L. acidophilus</i> 7	İçecek	Avusturya
<i>L. acidophilus</i> Lat11/83	Araştırma	Rusya
<i>L. acidophilus</i> NCFB 1748	Yoğurt	Danimarka
<i>L. acidophilus</i> SBT-2062	Süt	Japonya
<i>L. bulgaricus</i>	İçecek	Fransa, Avusturya
<i>L. casei</i> DN-114 002	İçecek	Fransa, Avusturya
<i>L. casei</i> Shiorata	İçecek	Arjantin, Avustralya, Belçika, Brezilya, Brunei, Çin, Almanya, Fransa, Hong- Kong, Kore, Lüksemburg, Endonezya, Japonya, Meksika, Hollanda, Filipinler, Singapur, Tayvan, Tayland, Uruguay, Birleşik Krallık, New York/ABD
<i>L. casei</i>	İçecek Yoğurt Kefir	ABD Kolarado-Arizona/ABD İllinois/ABD, Avusturya
<i>L. helveticus</i>	Sütlü İçecek İçecek	Finlandiya İzlanda
<i>L. johnsonii</i> La 1	Yoğurt	İsviçre, Almanya, Japonya, Avusturya
<i>L. lactis</i> L1A	Yoğurt	İsveç
<i>L. plantarum</i>	Kefir	İllinois/ABD
<i>L. plantarum</i> 299v	Meyve Suyu Dondurma Enerji İçeceği Yulaf karışımı	İsveç
<i>L. plantarum</i> JI:1	Araştırma	İsveç
<i>L. reuteri</i>	Süt çocuğu formülü Peynir	İsrail İspanya, Portekiz, Finlandiya

	Süt Yoğurt Ayrar Dondurma Meyve Suyu	Japonya, Finlandiya Finlandiya, ABD Birleşik Krallık Finlandiya Finlandiya
<i>L. rhamnosus</i> ATCC53103 (<i>L. bacillus</i> GG)	Yoğurt	Avustralya, Papua Yeni Gine, Endonezya, Finlandiya, Litvanya, Estonya, Hırvatistan, Bosna-Hersek, Slovenya, Ekvador, İsrail, İtalya, Hollanda, Güney Kore, Japonya, Norveç, İsveç
	Ayrar	Avustralya, Finlandiya, İsveç, Hırvatistan, Bosna-Hersek, Slovenya, Ekvador, Uruguay, Hollanda, Tayvan, Norveç
	Meyveli Yoğurt	Finlandiya, İsveç
	Süt	Birleşik Arap Emirlikleri, İsrail, İtalya
	Süt Kaynaklı İçecekler	Almanya, Portekiz, Japonya, İzlanda, Grönland, İspanya, Estonya, İrlanda, İsrail, Güney Kore
	Meyveli İçecek	Finlandiya
	Peynir	Finlandiya
	Kefir	Litvanya
	İçecek	Finlandiya, Estonya, İsveç, İsveçre
	Yayık Ayrarı	Finlandiya
	Tuzsuz Beyaz Peynir	İsveç
<i>L. rhamnosus</i>	İçecek	Finlandiya, İsveç, Şili, Güney Afrika
<i>L. rhamnosus</i> LB21	Yoğurt	İsveç
<i>L. rhamnosus</i> 271	İçecek	İsveç
<i>L. salivarius</i> U CC 118	Araştırma	İrlanda
<i>L. rhamnosus</i> VTE-97800	Araştırma	Finlandiya
<i>S. salivarius</i> K12	Pastil	Yeni Zelanda
<i>S. thermophilus</i>	İçecek Ayrar	Fransa, Avusturya Avusturya
<i>Enterococcus faecium</i>	Araştırma	Danimarka
<i>Enterococcus faecium</i> <i>Fargo</i> 688	Araştırma	ABD

1.3.2.2.1. Yoğurt

Probiyotik suşları içeren yoğurdun, sürekli kullanımında, intestinal flora, (Saavedra ve ark., 1994; Ouwehand ve ark., 2002a; Schiffrin ve ark., 2009

Elmadfa ve ark., 2010; Higashikawa ve ark., 2010), çeşitli hastalıklar (Ataie-Jafari ve ark., 2009; Martinez-Canavate ve ark., 2009; Sadrzadeh-Yeganeh ve ark., 2010) ve son birkaç yıldır yapılan çalışma sonuçlarına göre de (Petti ve ark., 2001; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b, Çıldır ve ark., 2009) ağız içi flora üzerine etkileri gösterilmektedir. Yoğurta mikroorganizma olarak bifidobakterler ve LB'ler bulunur (Koçkar, 2009). Yoğurt içinde yer alan tüm *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşları yüksek düzeyde laktaz aktivitesi göstermektedir. Bu özelliği sayesinde yoğurt, tüketimiyle beraber laktoz sindirimini artırır ve laktoz intoleransı belirtilerini ortadan kaldırır (Guarner ve ark., 2005).

Dental araştırmalarda, probiyotik yoğurt tüketimiyle birlikte LB'lerin oral yerleşiminin sağlanamadığını gösteren olumsuz sonuçlar mevcuttur (Busscher ve ark., 1999; Petti ve ark., 2001).

1.3.2.2.2. Süt ve Peynir

Süt ve peynirin dental çürük riskini azaltan bileşikler içerdiği bilinmektedir (Jenkins ve Hargreaves, 1989; Bowen ve Pearson, 1993; Nase ve ark., 2001). Peynir tüketimi remineralizasyonu arttırmakta, demineralize mine yüzeyini korumakta ve tükürükteki karyojenik MS seviyesini azaltmaktadır (Harper ve ark., 1986). Buna ek olarak peynirin, fermentasyon olayı içinde yer alan, doğal probiyotik bakteriler sayesinde de etkili olabildiği düşünülmektedir (Saavedra ve ark., 2004).

Probiyotiklerin çoğu, yüksek miktarda kalsiyum içeren süt formunun içerisinde olduğu için, demineralizasyonu önleyici etkileri bulunmaktadır. Bu "yararlı" mikroorganizmaların biyolojik bir tabakada yaşadığı ve gerçekte oral dokuyu hastalıktan koruduğu yönünde bir anlayış mevcuttur. Bu biyolojik tabakanın patojenleri uzak tutmasına ilişkin mekanizmalarından biri de muhtemelen başka bir patojen tarafından işgal

edilebilecek bir boşluğu doldurmasıdır. *In vitro* bir çalışmada, *L. rhamnosus* GG'nin (LGG) çürüğe neden olan streptokokların kolonileşmesinin inhibe edildiği ve sonuç olarak çocuklarda çürük insidansını azalttığı ileri sürülmüştür (Meurman ve ark., 1995).

Laktik asit bakterilerinin şekerleri fermente etmeleri ve pH'yı düşürmeleri sebebiyle, probiyotikli süt ürünleriyle beraber alındıklarında, flor gibi diğer koruyucu elementlerle etkileşmediğinden emin olmak gerekir. Bu fikirle Wei ve ark. (2002), LGG'yle fermente sütlerin çürüğe karşı pasif immünizasyon sağlayan antikorlara (saf immün protein) etkili olmadığını rapor etmişlerdir. Karyojenik streptokoklara karşı antikor aktivitesi 2 aylık bir süre boyunca korunmuştur. Antikaryojenik bakış açısından bakıldığında probiyotik süt ürünlerine, MS'e karşı sığır spesifik antikorlarının katılmasının faydalı olabileceği bulunmuştur (Wei ve ark., 2002).

1.3.2.2.3. Kefir

Kefir, polisakkarit ve protein matriks içine hapsedilmiş laktik asit bakterileri ve mayaların aktiviteleriyle oluşturulan fermente edilmiş bir süt ürünüdür (Lopitz-Otsoa ve ark., 2006). Krema kıvamında, hafif ekşimsi bir tadı vardır (Vinderola ve ark., 2005; Turan ve İlter, 2007; Güzel-Seydim ve ark., 2010). İçerdiği karbondioksit (CO₂) nedeni ile köpüren bir özelliğe sahiptir (Karagözlü, 1990). Genellikle inek, koyun ve keçi sütlerinden üretilmektedir (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Kefirin birleşiminde yer alan maddeler esas itibarıyla yapıldığı sütün özelliklerine bağlıdır (Turan ve İlter, 2007). Ayrıca bileşimi, tadı ve aroması üzerine sütün mayalanma sıcaklığı, bekleme süresi yapımından sonra içilinceye kadar geçen süre etkili olmaktadır (Turan ve İlter, 2007). Kalıtsal yüksek beslenme değerinin yanı sıra protein ve kalsiyum kaynağı olan kefir, diyet olarak önem verilen ülkelerde sağlık açısından faydalı olarak tanımlanan uzun süreli bir geleneksel içecektir. (Vinderola ve ark., 2005; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Öte yandan, insan

ve hayvanlardaki beslenme özelliği olarak veya kefirin ortaya çıkardığı olumlu etkilerin mekanizmaları hali hazırda belirgin olarak yayımlanmamıştır. Rusya kaynaklı yayınlar kefir tüketiminin etkilerini açıklayan makalelere sahip olduğu halde, bu çalışmalar batılı ülkelerde yazılı olarak bulunmamaktadır.

Kefir adı, keften türetilmiş olup, Türkçe mutluluk verici tat olarak tanımlanmıştır (Ötleş ve ark., 2003). İlk kefir granüllerine veya kefirin ilk kez üretildiği zamana ait tarihi bir kayıt bulunmamaktadır. Kefir granülleri ilk kez Rusya'da, Kuzey Kafkasya dağlık bölgesindeki kabilelerden gelmektedir (Ötleş ve ark., 2003; Lopitz-Otsoa ve ark., 2006). Bu bölge Karadeniz'le Hazar denizi arasında doğu batı yönündedir. Hala üretilmekte olan ürünler kefir, kiaphur, kefyur, kefer, knaphon, kepi ve kipe adlarını almaktadırlar (Lopitz-Otsoa ve ark., 2006; Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Kefir de diğer bazı fermente ürünler gibi yeterli doz ve sürede verilirse insan ve hayvan organizmalarında sağlık için katkıları olan probiyotik olarak nitelendirilen fermente bir ürün grubundandır. Bu noktadan hareketle kefir de probiyotikler arasında değerlendirilmektedir (Gönülateş, 2008; Cameron, 2008; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Kefirin üretiminde laktik asit fermentasyonlarının bir arada yürümesi ile sindirimi kolay, ferahlatıcı ve iştah açıcı özelliklerinin yanı sıra bazı hastalıklara da iyi geldiği belirtilmektedir (Cameron, 2008).

Mayalanmış süt ürünleri, ürettikleri metabolitler baz alınarak üç gruba ayrılmıştır (Robinson ve Tamime, 1990):

1. Laktik Mayalanma (Yoğurt)
2. Köpüklü Mayalanma (Kefir)
3. Küflü Mayalanma

Yoğurt ve terayağı sadece laktik asit mayalanmasını içeren birinci grupta yer alırken, kefir ve kıymız ökaryotik (*Candida kefir*, *Sacharomyces* türleri

gibi maya mantarları) ve prokaryotik (LGG vb bakteri türleri) mayalanmanın kombinasyonunu içeren ikinci grupta yer alır (Robinson ve Tamime, 1990)

Kefir tanesi sarımtırak renkte, çapı 1-2 mm 'den 3-6 mm 'ye kadar değişen büyüklükte olup, karnıbahar ya da patlamış mısır görünümündedir. İyi bir kefir tanesi elastiki olmalı, yapışkan ve yumuşak olmamalıdır (Karagözlü, 1990; Terzi, 2007; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Tanenin matriks kısmı (kefiran) (La Riviere ve ark., 1967) polisakkaritten oluşmuştur, içerisinde bir miktar kazein ve yağ vardır (Marshall ve Cole, 1984; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Mikroorganizmalar bu tane içerisinde simbiyoz olarak yaşarlar. Süt içerisine bırakılan tane, immobilize bir sistemle süte mikroorganizma vermektedir. Tanede süt asidi bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayalar mevcuttur (Ötleş ve ve ark., 2003). Laktozu fermente edemeyen mayalar tanenin daha iç kısımlarında, laktozu fermente edenler daha yüzeyde bulunur (Kılıç ve ark., 1999). Tanenin yüzeyinde ise laktik asit bakterileri ile asetik asit bakterileri mevcuttur. Ancak tanelerdeki mikroorganizma türü, birbirine oranı ve sayıları, tanelerin orijinine ve kullanım şartlarına göre değişmektedir (Karagözlü, 1990). Ayrıca kefir tanelerindeki mikrobik kalite, süt ve kefir tanesi oranı, kefirin mayalanma süresi ve ısısı, kefir tanelerinin sıhhi durumu ve soğuk taşıma zincirine dikkat edilip edilmediği de kefirin kalitesini etkiler (Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Kefir, asit ve alkol fermentasyonunun bir arada oluşmasıyla elde edilen bir üründür. Fermentasyon süresinin uzunluğuna bağlı olarak içinde oluşan alkol oranına göre bir sınıflandırma yapılmıştır. Buna göre 24 saat sonucunda tatlı kefir, 48 saat fermentasyondan sonra orta sert kefir, 3 güne kadar uzayan fermentasyon sonucunda sert kefir ve 3 günden daha uzun süren fermentasyon sonunda çok sert kefir olarak adlandırılmaktadır. Kefir türlerinin süt asidi oranı %0,6–0,9 arasında değişmekte (Simova ve ark., 2002), etil alkol miktarları da %0,6–1,1 arasında kefir sertliğiyle orantılı olarak oluşmaktadır (Kuo ve Lin, 1999; Terzi, 2007).

Kefir taneleriyle mayalanan sütte oluşan fermentasyon neticesinde aroması ayrana benzeyen bir içecek oluşur (Terzi, 2007). Süt olarak her türlü inek sütünün dışında koyun ve keçi sütü de kullanılabildiği gibi, hindistan cevizi sütü, soya ve pirinç sütü de bu amaçla kullanılabilmektedir (Ötleş ve ark, 2003; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Peynir altında yer alan suya da kefir tanelerinin mayalanmasıyla daha kaliteli protein içeriğine sahip kefir retilenmektedir (Assadi ve ark., 2008). Kefir proteinlerinin tamamına yakını kolayca sindirilip vücut tarafından kullanılabılme özelliğine sahiptir (Karagözlü, 1990; Terzi, 2007).

1.4. Kefirin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Yapısı

Tipik final kefirin içeriğinde laktik asit, etanol, CO₂ ve diğer tat ürünlerinden asetaldehit, diasetil ve aseton yer alır (Kuo ve Lin, 1999; Guzel-Seydim ve ark., 2000; Simova ve ark., 2002; Ötleş ve ark., 2003; Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Geleneksel kefirin ferahlatıcı tadı köpüklü ve laktik asit fermentasyonunun bir arada olmasından kaynaklanmaktadır (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Paketlenmiş kefirin şişmesine sebep de köpüklü mayalanma sonucu ortaya çıkan karbondioksittir. Bazı firmalar bu şişmeyi engellemek için köpüklü mayalanma bakterileri içermeyen maya kullanmaktadırlar (Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Kefirin mikrobiyal kalitesi, süt ve tane oranına, mayalanma süresine ve sıcaklığına, kefir tanelerinin mayalanmadan saklandığı sredeki saklama koşullarına bağlıdır (Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Laktik asit bakterilerinin çeşitliliği ve mayası kefire eşsiz bir lezzet kazandırmaktadır (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Kefir taneleri içinde sıklıkla rastlanılan bakteriyel türler;

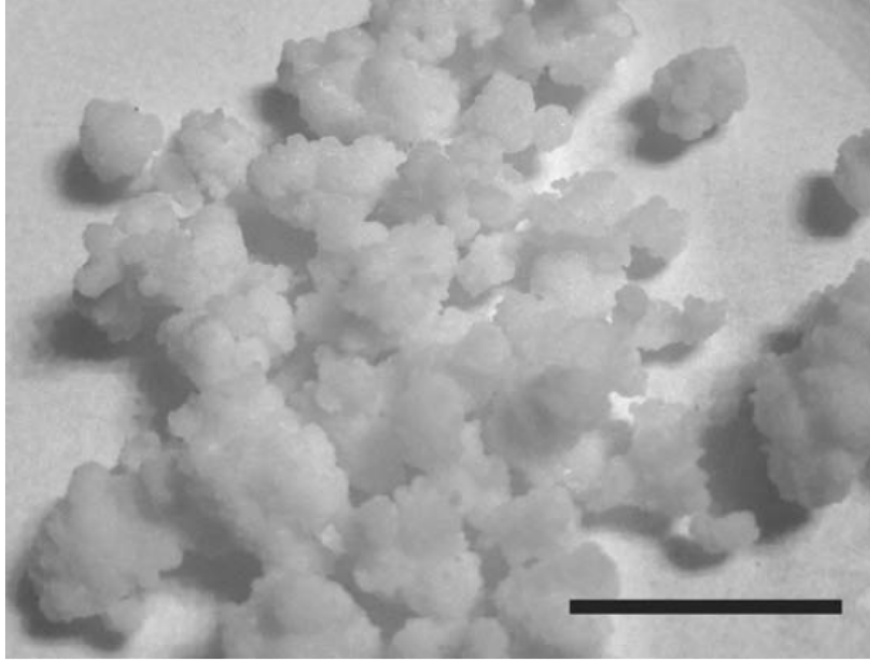
- homofermentatif ve heterofermentatif LB (*L. brevis*, *L. kefir*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. caucasicus*, *L. bulgaricus*),
- *Lactococcus*,
- *Leuconostoc* (*Leuconostoc dextranicum*),
- Asetik asit bakterileri (*Acetobacter aceti*, *A. rasens*),
- Mayalar (*Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisia*) ve
- Streptokok (*S. lactis*, *S. durans*, *S. cremoris*, *S. citrovorum*, *S. diacetylactis*)'lardır (Marshall ve Cole, 1985; Koroleva, 1988; Angulo ve ark., 1993; Rea ve ark., 1996; Simova ve ark., 2002; Karagözlü, 2003; Santos ve ark., 2003; Yüksekdağ ve ark., 2004; Fontan ve ark., 2006).

Tüm mikroorganizmalar, kazein ve polisakkaritler ile birlikte matris biçiminde küme oluşturmaktadır (Marshall ve Cole, 1985; Koroleva, 1988; Angulo ve ark., 1993; Rea ve ark., 1996; Simova ve ark., 2002; Karagözlü, 2003; Santos ve ark., 2003; Yüksekdağ ve ark., 2004; Fontan ve ark., 2006). *L. brevis* (Marshall ve ark., 1984; Angulo ve ark., 1993), *L. viridescens*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. casei* (Angulo ve ark., 1993), *L. kefir* (Marshall ve ark., 1984; Angulo ve ark., 1993;), *L. acidophilus* (Angulo ve ark., 1993), *Leuconostoc*, *L. kefiranofaciens* (Fujisawa ve ark., 1992; Mukai ve ark., 1992; Ötleş ve ark., 2003), *L. kefirgranum* ve *L. parakefir* (Takizawa ve ark., 1994) en sık rastlanılan mikroorganizma türleridir. Kefir mayasındaki mikrobik popülasyon mayalanma işleminin sonuna doğru artmaktadır (Guzel-Seydim ve ark., 2000).

Yapılan birçok çalışmada kefir tanelerinin mikrobiyal kompozisyonu Scanning Elektrone Microscope (SEM) kullanılarak araştırılmıştır (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Çalışmalar kefir tanelerinin iç ve dış kısımlarındaki LB topluluklarının aynı olmadığını göstermektedir (Toba ve ark., 1990; Rea ve ark., 1996; Guzel-Seydim ve ark., 2005). Ağsı yapraksı doku ve lifli kütlenin

merkezde yer aldığı süngerimsi bir yapıda olan kefir mayası uzun kordonlu bağlantılar ve dallanmalarla bir arada durmaktadır (Botazzi ve Bianchi, 1980).

Şekil 1.1. Türkiyedeki kefir tanelerinin görüntüsü (ölçek 15mm) (Güzel-Seydim ve ark., 2010)



Şekil 1.2. Türkiyedeki kefir tanelerinin 5000 x büyütmede SEM görüntüsü (ölçek 10 mikron) (Güzel-Seydim ve ark., 2010)



1.4.1. Kefirin Besleyici Değeri

Doğal bir probiyotik olan kefir, mayalanma sonucu asetik asit, laktik asit, ve CO₂ içeren; ekşimsi ve hafif asidik bir tada sahiptir. Kefirin bileşimi ve kimyasal özellikleri; yapımında kullanılan süte, inkübasyon ve depolama süresine, kefir tanesinin mikrobiyolojik yapısına göre değişiklik gösterebilmektedir (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Çizelge 1.4'de yağlı kefirin bileşimi ve besin değeri verilmiştir. Kefir, sütün içindeki tüm besin maddelerini içerdiği için beslenme değeri yüksek bir maddedir. Kefirde bulunan mikroorganizmaların etkisi ile laktoz ve proteinlerdeki değişimler, kefirin de hazmını kolaylaştırır. Diğer yandan oluşan bu yeni maddeler iştah açıcı, serinletici, sevilen tat ve aroma oluştururlar. Kefirdeki laktoz oranı süte oranla azaldığı için bağırsakları laktoza duyarlı kişiler kefir rahatlıkla içebilir. Kefirde bulunan CO₂, sindirimi kolaylaştırır. Kefirde oluşan süt asidinin %90'dan fazlasının L(+) süt asidi olduğu bildirilmiştir. L(+) süt asidi vücut tarafından kolayca sindirilmekte ve fizyolojik olarak da önemi bulunmaktadır. Vücut için gerekli ve besinler ile alınması gereken eksojen yağ asitleri ve aminoasitleri de bileşiminde bulundurur. Diğer yandan başta B₁₂ olmak üzere bazı B grubu vitaminler sentezlenmiş olarak kefirde bulunur. Biotin açısından da iyi bir kaynak olan kefir folik asit, pantotenik asit ve B₁₂ gibi diğer B vitaminlerinin de vücut tarafından emilimine yardımcı olmaktadır. İçerdiği B vitaminleri böbrek, karaciğer ve sinir sisteminin; kalsiyum ve magnezyum sağlıklı bir sinir sisteminin işleyişlerinde; fosfor vücudun karbonhidrat, yağ, protein ve enerji metabolizmalarında; esansiyel bir aminoasit olan triptofan da sinir sistemi üzerine rahatlatıcı etki göstermede önemli rol oynamaktadır (Savaiano ve Levitt, 1984; Karagözlü ve Kavas, 2000; Karagözlü, 2003; Ötleş ve ark., 2003).

Çizelge 1.4. Kefir 'in bileşimi ve besin değeri (Renner and Renz – Schaven, 1986)

İçerik	100 g	İçerik	100g
Enerji	65kcal	Vitaminler (mg)	
Yağ (%)	3.5	A	0.06
Protein (%)	3.3	B ₁	0.04
Laktoz (%)	4.0	B ₂	0.17
Su (%)	87.5	B ₆	0.05
Süt asidi (g)	0.8	Karoten	0.02
Etil alkol (g)	0.9	B ₁₂	0.5
Laktik asit (g)	1	Niasin	0.09
Kolesterol (mg)	13	C	1
Esansiyel amino asit (g)	D	0.08	
Triptofan (g)	0.05	E	0.11
Fenilalanin+tirozin (g)	0.35	Mineral maddeler (g)	
Lösin(g)	0.34	Kalsiyum	0.12
İsolösin (g)	0.21	Klorid	0.10
Treonin (g)	0.17	Fosfor	0.10
Metionin+sistin	0.12	Magnezyum	0.12
Lisin	0.27	Potasyum	0.15
Valin	0.22	Sodyum	0.05
İz elementler		Aromatik bileşikler	
Demir (mg)	0.05	Asetaldehit	
Bakır (µg)	12	Diasetil	
Molibden (µg)	5.5	Aseton	
Manganez (µg)	5		
Çinko (mg)	0.36		

1.4.2. Kefirin Genel Sağlık Açısından Yararları

Beslenmede, kefir tüketiminin birçok faydası olduğu bilinmektedir. Kolay sindirilebilir olması, mide ve bağırsak florasını temizlemesi en önemli özellikleridir. Ek olarak içerdiği yararlı mikroorganizmalar, vitaminler, mineraller ve proteinlerle beslenmeye destek olmaktadır (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Eski Sovyetler Birliği'nde hastane ve sanatoryumlarda çeşitli durumlarda özellikle metabolik düzensizliklerde, aterosklerozda ve allerjik rahatsızlıklarda; modern tedavinin mümkün olmadığı zamanlarda tüberküloz, kanser, mide bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde kefir kullanıldığı bildirilmiştir (Koroleva, 1988; Çevikbaş ve ark., 1994; Ötleş ve

ark., 2003). Kefirin mide ve pankreas gibi bazı organların salgılarını arttırdığı gibi psikolojik rahatsızlıklara, iştahsızlığa ve uykusuzluğa karşı iyi geldiği tespit edilmiş; hipertansiyon, bronşit ve safra rahatsızlıklarını iyileştirdiği görüşü halk arasında yaygınlaşmıştır. Kafkasya' da yaşayan bireylerin uzun ömürlü olmalarını kefir tüketimi ile ilişkilendiren görüşleri çalışmalar mevcuttur (Koroleva, 1988; Çevikbaş ve ark., 1994; Karagözlü, 2003).

Kefir, özellikle gram-pozitif ve bazı gram-negatif bakteriler üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etki göstermektedir (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Türkiye'deki kefir taneleriyle ilgili yapılan bir çalışmada, kefirin *S. aureus* üzerindeki etkisi, *E. coli* ve *P. aeruginosa* kadar iyi bulunmuştur (Güzel-Seydim ve ark., 2010).

1.5. Probiyotikler ve Ağız Sağlığı

LB'ler, karyojenik özelliklerinden dolayı uzun yıllardır dental araştırmaların ilgi odağı olmuştur. LB'lerin insan diş çürüklerinin etiyolojisindeki rolüyle ilgili birçok çalışma yapılmasına karşın, ağız sağlığı üzerindeki yararlı etkisi hakkında az sayıda çalışma mevcuttur (Buscher ve ark., 1999; Hatakka ve ark., 2001; Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Montalto ve ark., 2004; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2006, 2008a, 2009; Stamatova ve ark., 2009). Günümüzde LB'lerin insan gastrointestinal yolu ile ilişkili en yaygın probiyotik bakteri türü olduğu ve bu nedenle, oral mikrobiyatanın ekofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Çeşitli LB türlerinin (*L. paracasei*, *L. gasseri* ve *L. fermentum* sık bulunur, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. crispatus* ve *L. rhamnosus* izolatları) sağlıklı ağızlarda yaşadığı gösterilmesine rağmen, bu ağızlara ait floraya yerleşmiş bir tür bulunamamıştır (Hojo ve ark., 2003).

Proteinleri aminoasitler ve dipeptidlere hidrolize eden LB'li probiyotiklerin, streptokokların çoğalmasını uyardığı ve bunun sonucunda ağız ortamında pH düşüşüne neden olabileceği düşünülmüş (Robinson ve Tamime, 1981); ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda probiyotiklerin, MS'nin ağız içinde yüksek seviyede olma riskini azalttığı ifade edilmiştir (Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; 2006; 2007; 2008a; 2008b; 2009; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Çıldır ve ark., 2009).

Probiyotikler, karyostatik bir etki oluşturmak üzere dış yüzeyine yapışmalıdır (Adair ve Xie, 2009). Ancak probiyotikler ve plak arasındaki temas süresi kısa olduğundan, etkinlik de zayıf olacaktır (Adair ve Xie, 2009). Bu noktada, probiyotiklerin etki ve temas süresinin artması için, ağız içi yerleşimine ilişkin ideal araçlar belirlenmelidir (Çağlar ve ark., 2005a).

Düzenli probiyotik tüketimi (süt ürünleri) tükürükteki MS ve LB sayısını azaltabilir, ancak tüketim sona erdikten sonra kalıcı bir antibakteriyel etkinlik sergilenemez (Nase ve ark., 2001; Çağlar ve ark., 2005a; 2005b; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Çağlar ve ark., 2007; 2008a; Haukioja ve ark., 2008; Tsubura ve ark., 2009; Chuang ve ark., 2010). Ancak süt, meyve suyu veya peynir gibi probiyotik formlarında farklı etkinlikler gözlenebileceği de unutulmamalıdır (Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Montalto ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005a; 2005b; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Çağlar ve ark., 2007, 2008a; Haukioja ve ark., 2008; Tsubura ve ark., 2009; Chuang ve ark., 2010).

Probiyotiklerin oral dokular ve mikroorganizmalar üzerinde görülen etkilerine ilişkin araştırmaların sayısı artmasına rağmen (Buscher ve ark., 1999; Hatakka ve ark., 2001; Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; Hatakka ve ark., 2007; Çağlar ve ark., 2008b; Çıldır ve ark., 2009), probiyotik

bakterilerin oral mikrobik denge üzerindeki etkileriyle ilgili mekanizma hala tam olarak bilinmemektedir (Çağlar ve ark., 2005a).

Günümüzde dental restoratif malzemeler ve probiyotikler arasındaki ilişkiye dair herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Ancak probiyotiklerin, orofarinksten sonraki ikinci bariyer olan larinkste, ses protez biyofilmlerinde patojen bakterilerin oluşmasını şiddetli biçimde azalttığına dair bir çalışma da mevcuttur (Free ve ark., 2001).

1.6. Konu İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Buscher ve ark. (1999), yaptıkları bir araştırmada; doğal yoğurttan izole ettikleri iki probiyotik tür LB'nin (*L. acidophilus* ve *L. casei*), *in vitro* koşullarda mineye yapışabildiklerini göstermişlerdir. Çalışmanın devamında 1 hafta gibi kısa bir sürede 14 yetişkin gönüllüye günde 100'er ml'den iki kez olmak üzere, bu iki tür bakteriyi içeren yoğurt tükettirdiklerinde ise, probiyotik şuşların ağızda kolonize olma ihtimallerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Nase ve ark. (2001), LGG içeren probiyotik sütün özellikle kullanımıyla ağız içinde çürük gelişimini ve çürük riskini azaltacağını savundukları çalışmada; 1–6 yaş arası 594 çocuğa 7 ay süresince bu ürünü tükettirmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre, *L. rhamnosus* GG'nin çürük başlangıcında-gelişiminde ve MS miktarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. LGG'nin bu özelliğinin 3–4 yaş arası çocuklarda daha etkili olduğu görülmüştür. Buna bağlı olarak LGG grubu probiyotik bakteri içeren sütün çocukların dental sağlığı üzerinde yararlı etkilere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Petti ve ark. (2001), probiyotik yoğurdun tükürük mikroflorasına karşı çeşitli aktivitelerini dondurma ile karşılaştırdıkları çalışmalarında, yaşları 20–40 arasında değişen gönüllülere 8 hafta boyunca soya fasulyeli dondurma ve

ondan sonraki 8 hafta boyunca 10^{10} - 10^{11} CFU/mL *L. bulgaricus* içeren yoğurt tükettirmişlerdir. Probiyotik yoğurt tüketen grubun tükürük MS miktarının, dondurmaya beslenen gruba göre anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar probiyotik bakterilerin yoğurtla alımının, MS ve LB miktarını düşürebileceğini, ancak yoğurt alımı kesildiğinde kolonizasyonun da biteceğine dikkat çekerek, konu hakkında ileri araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Sookhee ve arkadaşları (2001), laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, gönüllülerden aldıkları tükürük örneklerinde rastlanılan 3790 adet bakteriyal laktik asit zincirinden sadece beşinin oral *Candida* içeren mikroorganizmalara karşı baskılayıcı etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bağırsak ve vajina LB türleri gibi ağız içinde yer alan antimikrobiyal aktivite gösteren LB türlerinin, ağız içi enfeksiyonlara karşı (özellikle HIV+ hastalarda ve *candida* gibi fırsatçı enfeksiyonlarda) durdurucu veya önleyici etki gösterebileceği söylenmiştir.

Ahola ve ark. (2002), yetişkinlerde yaptıkları çalışmalarında özel bir peynirle beslenen bir gruba LGG içeren peynir, diğer gruba normal peynir tükettirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre LGG içeren peynir tüketen grupta, kontrol grubuna göre MS sayısında %20 azalma saptamışlardır Sonuç olarak probiyotik kullanımının yüksek seviyedeki MS riskini azalttığı görülmüştür.

Comelli ve ark. (2002), oral probiyotik özelliğine sahip bakteri türlerinin dental çürükleri önlemedeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında incelenen 23 süt mikroorganizmasından sadece iki tanesinin (*Streptococcus thermophilus* NCC1561 ve *Lactococcus lactis* NCC2211) diş çürüğünü önleyebilecek tipte probiyotik olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, sütte yer alan probiyotik bakterilerin diş ve benzeri yüzeylere yapışabileceğini ve *S. sobrinus* gibi ağız içi çürük yapıcı bakterilerin gelişimini ve yapışmasını durdurabileceğini söylemişler ve ileri çalışmalara gereksinim duyulduğunu belirtmişlerdir.

Montalto ve ark. (2004), çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılan fakat diş çürüğü gelişiminde rol oynadığı bilinen LB'lerin alımının, tükürükteki bu bakterilerin miktarlarını değiştirip değiştirmediğini araştırdıkları çalışmalarında, sıvı ve kapsül formunda LB tükettirdikleri gönüllülerden aldıkları tükürük örneklerinde MS ve LB düzeylerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, tükürük LB sayısının anlamlı düzeyde arttığını, MS sayısının ise değişmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, çalışma sonunda elde edilen sonuçlara göre diş sağlığı için probiyotik içeren ürün kullanan hastalarda özellikle LB seviyesinin yakından takip edilmesi gerektiğine dikkat çekmişlerdir.

Nikawa ve ark. (2004), probiyotiklerden *L. reuteri*'nin çürük yapıcı bakterilere karşı inhibitör etkisini inceledikleri araştırmada; *L. reuteri* içeren yoğurt tüketen hastalarda MS seviyesinde anlamlı bir azalma olduğunu ve bu sütün diş çürüğü riskini azaltmada yardımcı rol alabileceğini belirtmişlerdir.

Çağlar ve ark. (2005b), bifidobakterilerin oral kavite içinde probiyotik bakteri olarak kullanılmadığına dikkati çektikleri çalışmada; *Bifidobacterium* DN-173010 içeren yoğurdun genç erişkinlerde tükürük MS ve LB üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, *Bifidobacterium* DN-173010 içeren yoğurdun günlük alımının tükürükteki MS seviyesini düşürdüğünü, ancak bu tip araştırmaların sonuçlarının daha ileri tekniklerle değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Matsumoto ve ark. (2005), probiyotik bakterilerden *L. salivarius*'un ratlar üzerinde çürük yapıcı etkisinin olup olmadığını değerlendirdikleri çalışmada, aynı anda *L. salivarius* ve MS verilen grupta 18 gün sonunda çürük skorlarının, anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çağlar ve ark. (2006), *L. reuteri* ATCC 55730'nin, genç erişkinlerde 2 farklı alım şekliyle (pipetle içerek ya da tablet formunda tüketerek) tükürük MS ve LB seviyesine etkisini değerlendirmişlerdir. Probiyotik bakteri alan her iki

grupta da MS seviyesinde anlamlı bir düşüş olduğu; ancak LB seviyesinde bir değişiklik görülmediğini söylemişlerdir.

Haukioja ve ark. (2006), feçesten izole edilen ve ağız içi potansiyel probiyotik olarak bilinen süt bakterilerinden 17 adet LB ile 7 adet bifidobakteri türünün yapışmasının ve ağız içi yaşamasını değerlendirdikleri *in vitro* çalışmada; test edilen bakterilerin yapışma gösterdiğini, ancak ağız içi koşullarda kişisel faktörlerin etkisiyle yapışma düzeylerinin değişebileceğini ve bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Yli-knuuttila ve ark. (2006), LGG içeren meyve suyunu kullandıkları çalışmalarında LGG'nin oral kavitede kolonize olamadığını gözlemişlerdir. Araştırmaya dâhil olan bir bayan hastada, çalışma bittikten 5 ay sonra LGG'nin ağız içinde kolonize olduğunu tespit etmişlerdir.

Hatakka ve ark. (2007), oral bir patojen olan ve özellikle immunbaskın kişilerde yaygın görülen *Candida*'nın, probiyotik bakteri içeren peynir tüketimi ile azalabileceği hipoteziyle başladıkları araştırmada bir gruba probiyotik peynir (50g; *Lactobacillus ramnosus* LC705, *L. rhamnosus* GG, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* JS) tükettirilirken, kontrol grubuna probiyotiksiz peynir tükettirilmiştir. 16 hafta sonunda probiyotikli peynir tüketen grupta, oral *Candida* görülme sıklığında % 32 oranında bir azalma belirlenirken, kontrol grubunda bu oranın arttığını gözlemişlerdir. Ayrıca probiyotik tüketen grupta hiposalivasyon oranı %75'ten %56'ya gerilediğini bulmuşlardır. Bu çalışma, probiyotik bakterilerin yetişkin insanlarda oral *Candida* ve hiposalivasyonun kontrolünde etkili bir yöntem olduğu fikrini desteklemektedir.

Çağlar ve ark. (2007), probiyotik bakteriler ile şeker alkollerinden ksilitolün, daha önce tükürük MS ve LB seviyesi üzerine ortak bir etkisinin değerlendirilmediğinden yola çıkarak yaptıkları çalışmada; ayrı ayrı kullanıldıklarında iki grup sakızda da tükürük MS seviyesi azalırken, beraber

kullanıldığında bu etkinin görülmediğini saptamışlardır. Araştırmacılar, kombine kullanımda etkinin azalmasını dozajın azaltılmış olmasına ve günün farklı zamanında kullanılmış olmasına bağlamışlardır.

Aynı araştırmacıların 2008 yılında yaptıkları bir başka çalışmada (2008a), *L.reuteri* ATCC 55730'un canlı olmayan suşunu yavaş salım tableti şeklinde emziğin emilen başının içine yerleştirmişler ve çalışma esnasında tükürükteki MS miktarının anlamlı şekilde azaldığını, ancak çalışma sonlandırıldıktan birkaç hafta sonra bu etkinin devam etmediğini tespit etmişlerdir.

Çağlar ve ark. (2008b), 24 *Bifidobacterium lactis* Bb-12 isimli probiyotik bakterinin eklendiği dondurmanın, MS ve LB türlerinin tükürükteki sayısı üzerine etkisiyle ilgili sağlıklı genç erişkin denek üzerinde yaptıkları bir diğer çalışmada; 10 gün süreyle gerçekleştirilen düzenli probiyotik dondurma tüketiminden hemen sonra MS sayısında anlamlı bir azalma olduğunu söylemişlerdir. Bazı örneklerde bu azalma %56'ya kadar ulaşmış; ancak çalışmanın başlangıcında alınan MS değerleriyle karşılaştırıldıklarında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışma süresince deneklerin LB seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Haukioja ve ark. (2008), diş çürüğünden korunmada önem arz eden iki Streptokok türü olan; MS ve *S. gordonii*'nin; plaktaki sayı ve yapışamsı üzerine etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları *in vitro* çalışmada; ticari olarak hazırlanmış bir probiyotik (LB, *bifidobacterium* suşları içeren)'in MS bağlanmasını önemli ölçüde düşürdüğünü göstermişlerdir.

Çağlar ve ark. (2009), probiyotik bir suş olan *L. reuteri* ATCC 55730'nin çiğneme tableti şeklinde kullanımı ile bu bakterinin ağız içi kolonizasyonuna olan etkisini değerlendirdikleri çalışmanın sonunda, tabletin çiğnendiği süre içerisinde tükürükte bu suşun varlığını tespit etmişlerdir. Çalışma sonlandıktan 1 hafta sonra deneklerin sadece %8'inde bu suşa rastlanmış,

Çalışma sonlandıktan 5 hafta sonra alınan örneklerde ise deneklerin hiçbirinde söz konusu suşun varlığı tespit edilememiştir. Araştırıcılar çiğneme tabletinin *L.reuteri* ATCC 55730 için ancak geçici bir kolonizasyon sağlayabildiğini, daimi kolonizasyon için ise uzun süreli çalışmalar gerektiğini savunmuşlardır.

Çıldır ve ark. (2009), çalışmalarında *bifidobacterium animalis subsp. lactis* DN-173010 içeren yoğurdun tkettirildiği ortodontik tedavili hastaların tkrklerindeki MS miktarı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır. Bu alışma sonuçlarına göre probiyotik içerikli ürün kullanımının, ortodontik tedavi gören hastalardaki demineralizasyon ve beyaz nokta lezyonlarının engellenmesinde alternatif bir yol olarak düşünülebileceği söylenmiştir.

Kumada ve ark. (2009), patojen olmayan ve biyofilme katılmayan *E. faecium*'un MS'nin biyofilm formasyonuna etkisini *in vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, *E. faecium*'un MS'nin biyofilme bağlanmasını sağlayan proteine durdurucu etki gösterdiğini, Streptokokal biyofilm formasyonunu önleyici bir probiyotik bakteri gibi davrandığını tespit etmişlerdir.

Stamatova ve ark. (2009), *in vitro* alışmalarında, özellikle bazı LB türlerinin (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LBL-39 ve *L. rhamnosus* ATCC 53103), ağız içi dokulara yapışmasında anlamlı fark olduğunu tespit etmişlerdir. Yapışması yüksek olan bu bakterilerin (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LBL-39) ağız içi çalışmalarda oral ekolojiyi değiştirmek için kullanılabilecek potansiyel bakteri türleri olabileceğini belirtmişlerdir.

Stecksen-Blicks ve ark (2009)'nın probiyotik bakterilerle beraber florun rk gelişimi üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmada, 1-5 yaş arası 248 çocuğa 2,5 mg/l F içeren günlük 150 ml *L. rhamnosus* LB21 içeren sütü 21 ay boyunca tükettirmişlerdir. Okul ncesi ocuklarda F içeren sütün düzenli kullanımının rğ %75 oranında azalttığını göstermişlerdir.

Chuang ve ark., (2010)'nın *Lactobacillus paracasei*nin oral patojenler üzerinde antibakteriyel ve antikandidal aktivite gösterdiğini ve bu mikroorganizmanın tükürükte MS ve LB miktarını azaltabileceklerini düşündükleri çalışmalarında, bir gruba 1gr. probiyotik oral tablet (Dental-Lac=%11 xylitol+%4 lactobacillus paracazei GMNL- 33 3×10^8 cells/tablet), diğer gruba %11 xylitol içeren tableti yemeklerden sonra günde 3 defa 2 hafta boyunca tükettirmişlerdir. Çalışmanın sonunda alınan örneklerde probiyotik grupla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır.

1.7. Amaç

İnsanlar bakteriler tarafından fazlaca kontamine olan bir ortamda yaşadığından, mikroplarla ortak yaşam bir sağ kalım savaşı gibi görünmektedir. Sindirim sisteminin lümen ortamının muhafaza edilmesinde, bağırsak florasının rolü son derece önemlidir (Çağlar ve ark.; 2005a). Bağırsak florasının, kolon epiteli, mukoza bütünlüğü, vitamin ve besin metabolizmasındaki etkileri yakın zamanda değerlendirilmiştir. Mikrobik ekolojimizi değiştiren durumlara karşı (örneğin diyet, ortam, antibiyotikler) bir diğer yaklaşım, bu değişikliğe karşı koymak üzere patojen olmayan spesifik organizmalarla olan ilişkimizi kasten arttırmaktır (Çağlar ve ark.; 2005). Bu nedenle probiyotik kullanımı, mikrobiyal ortamla olan ilişkimizi insan sağlığına yararlı olacak şekilde değiştirmek için önemli bir girişimdir (Golledge and Riley, 1996).

Probiyotik bakterilerin oral dokuların sağlığı üzerine etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda; LGG başta olmak üzere bazı *bifidobacterium* türlerinin çürükten sorumlu olan MS seviyesini veya plağa bağlanma kapasitesini düşürdüğü gözlenmiştir (Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b, 2006, 2007, 2008a; 2008b, 2009; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Çıldır ve ark., 2009). Bu çalışmalarda probiyotik bakteri türlerinden bir ya da iki tanesi süt (Nase ve ark., 2001), peynir (Hatakka ve ark., 2007), dondurma (Çağlar ve ark., 2008b) ya da yoğurda (Hatakka ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; Çıldır ve ark., 2009) eklenerek veya tablet (Montalto ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2006), içecek (Yli-Knuuttila ve ark., 2006), emzik (Çağlar ve ark., 2008a), sakız (Çağlar ve ark., 2007, 2009; Twetman ve ark., 2009), gargara (Tsubura ve ark., 2009) vb formlarda tüketirilmıştır.

Kafkas dağları kökenli, içeriğinde bol miktarda probiyotik bakteri olan, çeşitli vitamin türlerini içeren ve yüzyıllardır bu bölgede tüketilen kefir, sağlık

üzerine olan önemli ve olumlu etkileri nedeniyle güncellik kazanmış ve Avrupa başta olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde tüketilmeye başlanmıştır (Ötleş ve ark., 2003; Turan ve İter, 2007; Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Kefirin sağlık üzerine olumlu etkileriyle ilgili çalışmalar olmasına karşın (Bottazzi ve Bianchi, 1980; Marshall ve ark., 1984; Santos ve ark., 2003; Ötleş ve ark., 2003; Erten, 2005; Gönülateş, 2008), yapılan kaynak taramasında ağız florası üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmanın amacı, doğal bir probiyotik içecek olan kefirin, çürük aktif çocuklarda tükürük ve plaktaki *S. mutans*, laktobasil sayısına ve bu bakterilerin biyofilme yapışması üzerine etkisinin değerlendirilmesidir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı kliniğine başvuran ve herhangi bir sistemik rahatsızlığı bulunmayan, yaşları 5 ile 8 arasında değişen (ortalama=7,08), 6 yaş dişleri henüz sürmekte olan, çürüksüz (dfs=0) (n=4) ve çürük aktif (dfs≥10) (n=20), karışık dişlenme dönemindeki 13'ü kız, 11'i erkek toplam 24 çocuk denek üzerinde gerçekleştirildi.

2.1. Denek Seçim Kriterleri

Seçilen deneklerde hiçbir ortodontik aparey olmamasına; herhangi bir sistemik rahatsızlığı bulunmamasına, yakın dönemde akut bir hastalık geçirmemiş ve son bir ay içerisinde herhangi bir antibiyotikli ilaç kullanmamış olmasına ve ksilitol, florür ve probiyotik içerikli ürün kullanmıyor olmasına dikkat edildi.

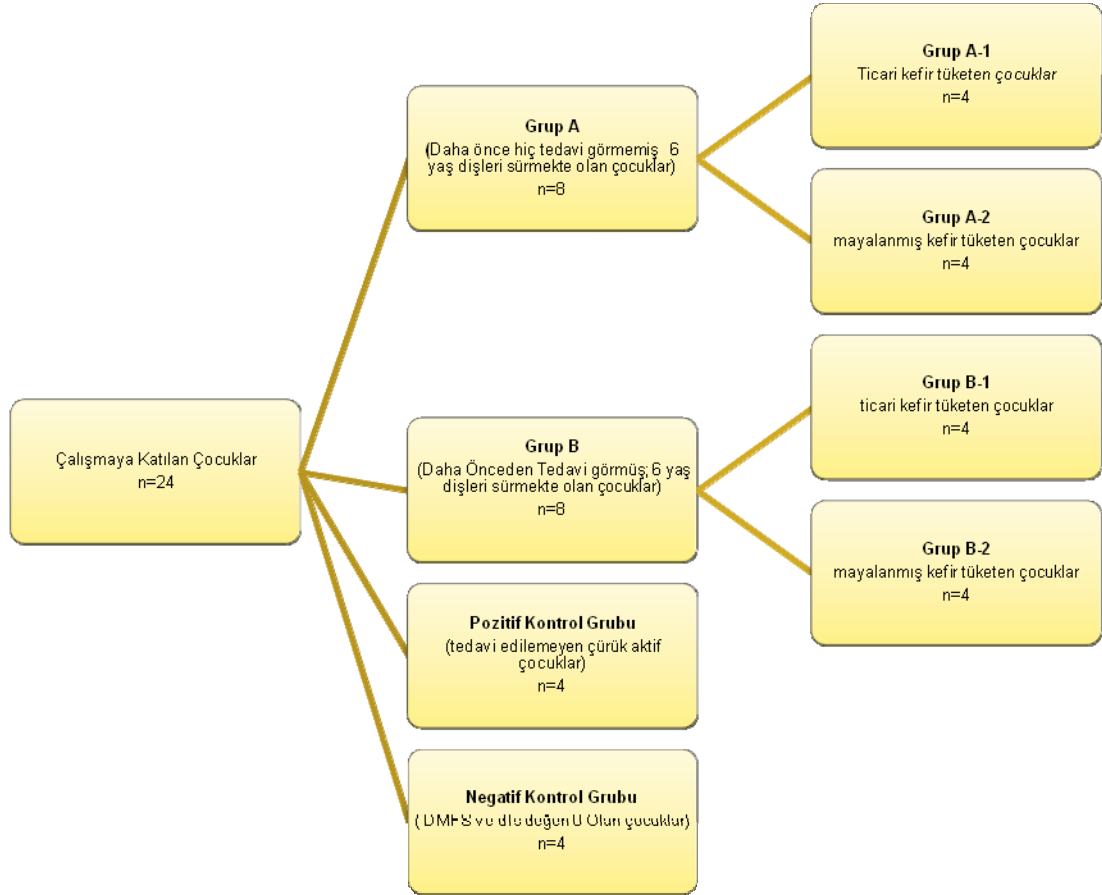
2.2. Etik Kurul Onayı:

Araştırma için gerekli olan etik kurul onayı, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alındı (27.12.2007 tarih ve 22/963 no ile). Araştırmaya dâhil edilen tüm çocukların ebeveynlerine, araştırma hakkında bilgi verildi. Ebeveynlerden gerekli izin alındıktan ve aydınlatılmış onam formları imzalatıldıktan sonra klinik işlemlere geçildi.

2.3. Çalışma Grupları

Araştırmaya katılan denekler rastgele 4 ana gruba ayrıldı. A grubunda, daha önce hiç diş tedavisi görmemiş olan çocuklar (n=8), B grubunda ise karışık dişlenme öncesi tedavi görmüş olup, 1. büyük azı dişlerinin çıkmasıyla beraber yeni çürük lezyonu oluşmuş çocuklar (n=8), pozitif kontrol grubunda tedavi yaptırmayan çocuklar (n=4), negatif kontrol grubunda da çürüksüz (DMFS/dfs=0) çocuklar (n=4) yer aldı. Grup A ve B kendi içinde kullanılacak kefir tipine göre (ticari kefir, mayalanmış kefir) iki alt gruba ayrıldı (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Deneklerin çalışma gruplarına göre dağılımı.



2.4. Çalışma İçin Uygulanan İşlem Basamakları

1. Tüm gruplarda başlangıç MS ve LB sayılarının saptanması için tükürük ve plak örnekleri alındı (Başlangıç zamanı).
2. A ve B grubundaki deneklerin çürük dişlerinin tedavisi tamamlandı.

3. Tedavileri tamamlanan çocuklardan tekrar tükürük ve plak örnekleri alındı.
4. A ve B grupları rastgele ikişer alt gruba ayrıldı. A₁ ve B₁ grubu ticari kefir, A₂ ve B₂ grubu mayalanmış kefir 6 hafta boyunca tüketti.
5. 6. haftanın sonunda tüm gruplardan tekrar plak ve tükürük örnekleri alındı.

2.4.1. Tükürük Örneklerinin Alınması

Çalışmaya katılan deneklerin uyarılmamış tükürük örnekleri, deney seansları öncesi ve sonrasında olmak üzere sabah 9-12 saatleri arasında ve öğle yemeğinden önce, sabah kahvaltısından 2 saat sonra ve denek istirahat halindeyken 5 dakika (dk) süreyle steril bir kaba tükürük akıtmak yoluyla ortalama 2,4 ml ($\pm 0,4$ ml) alındı. Dolgu yapımı ve kefir tüketimi sonrası yeniden örnek alındı.

2.4.2. Plak Örneklerinin Alınması

Plak örneklerinin alınmasından önce, araştırmaya dâhil olan deneklere pomza ve mikromotora takılabilen bir fırça ile profesyonel temizlik yapıldı ve 3 gün önceden diş fırçalaması bıraktırıldı. Örneklerin toplanması için, kahvaltıdan sonra en az 2 saat geçmiş olmasına dikkat edildi. Dişler pamuk tamponlar ile tükürükten izole edildikten sonra hava ile hafifçe kurutuldu. Rastgele seçilen dişlerin rastgele yüzeylerinden supragingival plak örnekleri, bir steril kretuar yardımı ile toplanıp, 1ml Reduce Transport Fluid (RTF) solüsyonu içine konulup, hassas terazide tartıldıktan sonra en geç 2 saat içinde ilgili laboratuara götürüldü. Tüm bu işlemler deneklere dolgu yapıldıktan sonra ve kefir tüketiminin ardından tekrarlandı.

2.4.3. Klinik İşlemler

A ve B grubundaki deneklerde plak ve tükürük örnekleri alındıktan sonra, hastaların mevcut çürüklerinin tedavisi rutin klinik işlemler uygulanarak yapıldı. Hastaların restoratif tedavileri yapılırken, Flor iyonu salma özelliklerinden dolayı, cam ionomer siman ve kompomer daimi dolgu materyali olarak kullanılmadı. Henüz sürmekte olan 1. büyük azı dişlerine, ilk plak örnekleri alındıktan sonra, flor içermeyen fissür örtücü uygulandı. Hastalara tedavi seansları esnasında ve sonrasında, herhangi bir Flor cila ya da jel uygulaması yapılmadı.

2.4.4. Kefir Uygulaması

Restoratif tedavi uygulanan A ve B grupları rastgele iki alt gruba ayrıldı. Bu alt gruplardan biri tedaviden sonra Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama Bölümü'nün üretimi olan içime hazır kefiri (Şekil 2.1.), diğeri ise yine aynı birimin ürettiği ticari maya (Şekil 2.2) ile ebeveynlerinin evde mayaladığı kefiri tükettirildi.

Şekil 2.1. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama Bölümü'nün üretimi olan içime hazır kefir



Şekil 2.2. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama Bölümü'nün üretimi olan ticari kefir mayası



2.4.4.1. Manuel Kefir Hazırlanışı

Ailelere verilen mayanın mayalama şekli, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nin belirlediği şekilde anlatıldı. Ailelere verilen mayanın, 0,5 lt süt içerisinde ve oda sıcaklığında cam bir kabın içinde 24 saat bekletildikten sonra, metal olmayan bir süzgeçten geçirilerek kefir tanelerinin ayrılması (Şekil 2.3), süzülen kısmın da soğutulduktan sonra deneklere içirilmesi söylendi. Süzgeçte kalan kefir tanelerinin (Şekil 2.4) yeniden mayalanmak üzere ayrılması ve işlemin aynı şekilde çalışma bitene kadar her gün devam etmesi gerektiği belirtildi.

Şekil 2.3. Mayalanmış kefirin süzülme şeklinin gösterimi



Şekil 2.4. Mayalanan kefir tanesinin gösterimi



Deneklere her gün ögle yemeğinden 2 saat sonra, erişkin dozun yarısı olan yarım su bardağı kefir, gargara yapıp daha sonra yutulmak suretiyle ailelerin gözetiminde içirildi.

2.4.5. Çalışmanın Sonlandırılması

Denekler, 6 hafta süreyle her gün düzenli olarak aynı saatte kefirini gargara yapıp içmek suretiyle tükettiler. Çalışma sonlandırıldıktan sonra deneklerden yeniden tükürük ve plak örnekleri alındı.

2.5. Mikrobiyolojik Analiz

Tükürük ve plak örneklerinde çalışmanın başında, dolgu yapımından sonra ve kefir tüketiminin ardından, MS ve LB sayıları CFU/ml cinsinden, sırasıyla Mitis Salivarius agarın (MSA, Difco), Rogosa-agarın (RA, Merck, Darmstadt, Germany) (Çizelge 2.2) aynı dilüsyonlarından ekim yapılarak dip slide yöntemi kullanılarak ölçüldü. Aynı örneklerin tüm gruplarda slime (yapışma) değerleri modifiye mikrotitre plak test kullanılarak ölçüldü.

2.5.1. Besiyerlerinin Hazırlanması

Besiyerleri, 1000 ml distile su ilavesinden sonra, su banyosunda homojen olarak çözünmesi beklenip, 121⁰C'de 15 dk otoklavda sterilize edildi.

2.5.2. Test materyalleri ve İnokulum hazırlanması

Tükürük örnekleri steril plastik kaplara, plak örnekleri de uygun taşıma sıvısı (RTF-Reduced Transport Fluid) (Çizelge 2.2) içeren steril tüplere alındı ve Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki mikrobiyoloji laboratuvarına 2 saat içerisinde ulaştırıldı.

Uygun taşıma solüsyonu içerisindeki plak örneklerinin her biri, 15 saniye süre ile vorteks karıştırıcıda (Firlabo.S.A., 230/50, Lyon, France) homojenize edildi (Şekil 2.5).

Şekil 2.5. Örneklerin Homojenize Edilmesinde Kullanılan Vorteks Karıştırıcı

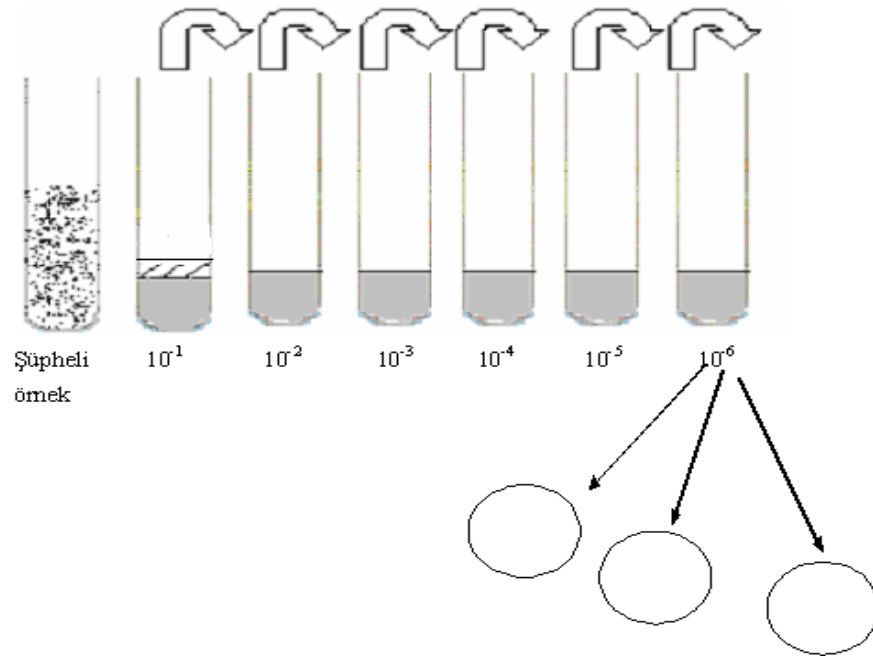


Homojenizasyon sonrası her bir örneğin on katlı dilüsyonları (10^{-1} - 10^{-3}) steril tüplerde sıvı besiyeri (Todd-Hewitt Broth; THB; Oxoid) (Çizelge 2.2) içerisinde yapıldı. Dilüsyonları yapılmış olan örneklerden, daha önce hazırlanmış olan özel besi yerlerine, mikropipet ile 100 µg/ml üç paralel ekimleri yapıldı. MS için Mitis Salivarius agarın (MSA; Difco), LB için ise Rogosa-agarın (Merck, Darmstadt, Germany) (Çizelge 2.2) aynı dilüsyonlardan 100 µg/ml 3 paralel ekim yapıldı (Şekil 2.6).

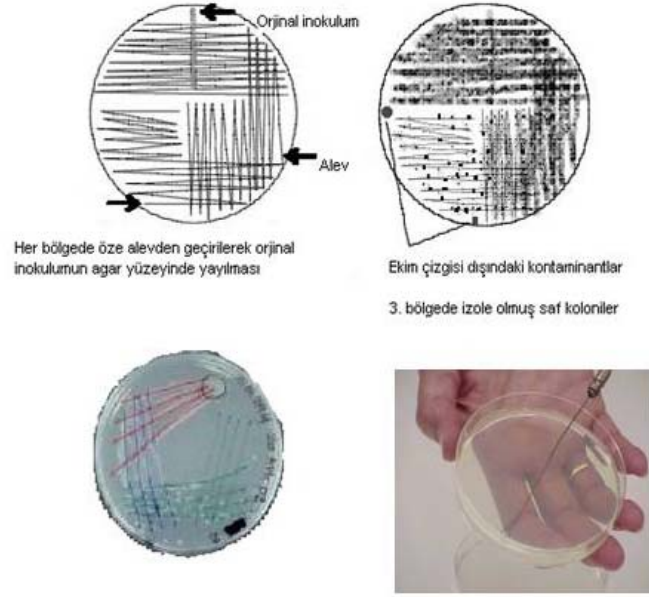
Çizelge 2.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonlar

Reduced Transpot Fluid (RTF)	Mitis Salivarius agar (MSA; Difco)	Rogosa selective <i>Lactobacillus</i> agar (RA;Merck)
• NaCl.....0.9 g/l • (NH₄)SO₄.....0.9 g/l • KH₂PO₄.....0.45g/ml • Mg₂SO₄.....0.19g/ml • K₂HPO₄.....45 g/ml • Na₂EDTA.....0.37g/ml • L-Cysteine HCl.....0.2 g/ml • Distile Su.....1000 ml (pH: 6.8 ± 0.2)	• Tryptose.....10g • Protease peptone.....10g • Bacto dextroz.....1g • Saccharose.....150g • K₂HPO₄.....4g • Ttrypan blue.....0.075g • Crystal violet.....0.0008g • Agar.....15g • Bacitracin.....0.2 units/ml (MSB) • Distile Su.....1000ml (pH: 7.0 ± 0.2)	• Pepton.....10g • Hefeextrakt.....5g • D(+)Glukoz.....20g • Kaliumdihydrogenphosphat.....6g • Amoniumcitrat.....2g • Natriumacetat.....15g • Magnesimsulfat.....0.575g • Eisen(II)-sulfat.....0.034g • Mangansulfat.....0.12g • Tween80.....1g • Agar_agar.....15g • Distile Su.....1000ml (pH: 5.5 ± 0.2)

Şekil 2.6. Besiyerlerinin 10 µg/ml 3 paralel ekimi



Şekil 2.7. Besiyerlerinin olduğu petrilere yapılan ekim



Şekil 2.8. Örneklerin dilüsyon ve ekiminde kullanılan steril yatay hava akımı (Laminar flow) cihazı



Makroskopik değerlendirme mikroaerofilik (Anaerocult^R, Merck, Darmstadt, Germany) koşullarda 37⁰C’de 16-18 saat sũreyle uygulanan inkũbasyon sonrası yapıldı (şekil 2.9). Örneklerde verilen MS ve LB iēin toplam “colony forming unit log₁₀” (CFU/mL) sayımları yapılarak değerlendirildi.

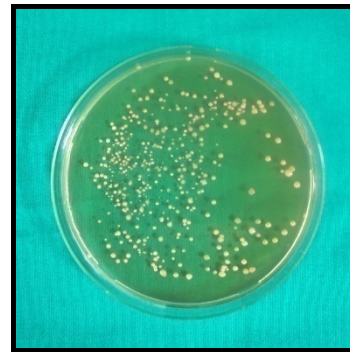
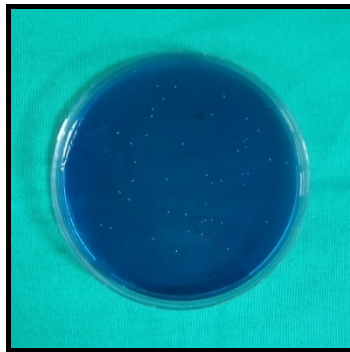
Tanımlama ve koloni sayımları uygun olan dilũsyondaki (10⁻¹-10⁻³) petriden yapıldı (şekil 2.10.1-2). Aynı koşullarda besiyeri ve mikroorganizma kontrolleri yapıldı.

şekil 2.9. Etũvde mikrobiyolojik jar iēerisinde inkũbasyon iēin bekletilen besiyerleri



şekil 2.10.1. MS’ın kolonilerinin gũrũntũsũ.

şekil 2.10.2. LB’un kolonilerinin gũrũntũsũ.



2.6. Modifiye Mikrotiter Plak Test (Slime Testi)

Biofilme bakterilerin yapışmasının araştırılması için modifiye bir mikrotiter plak testi (Slime testi) kullanıldı (Şekil 2.11). Bakteriler, Colombia agar besiyerindeki gecelik kültürlerinden %5 glukoz içeren triptik soy agar besiyerine pasajlandı. Triptik soy agar besiyerinde üreyen bakteriler %5 glukoz içeren Triptik soy broth besiyerine pasajlanan örnekler, 96 kuyucuklu mikropalakların 6 paralel kuyucuğuna bir bakteri olmak üzere 100µl eklendi. 37°C'de anaerobik koşullarda 24-48 saat inkübe edildikten sonra, kuyucuklar pH: 7,5 phospat buffer solution (PBS) ile yıkandı. Tüm kuyucuklara fiksasyon için 150 µl metanol eklendi ve 10 dk beklendi. Tutunan hücrelerin boyanması her kuyucuğa 150 µl Kristal viyole (%1 w/v) eklendi ve 20 dk beklendi. Plaklar musluk suyuyla iyice yıkanıp kurutulduktan sonra kuyucuklara 150 µl %33'lük glasiyel asetik asit eklendi ve 570nm'de ELISA (Molecular Devices, Versamax) optik okuyucuda okutuldu.

Şekil 2.11. Modifiye Mikrotitre Plak Test



2.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS 12 paket programı yardımı ile değerlendirildi. Elde edilen verilerde gruplar arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarda ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup, $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı farklılık olmadığı sonucuna varıldı.

3. BULGULAR

Doğal bir probiyotik içecek olan kefirin, karışık dişlenme dönemindeki 5-8 yaş arası çürük aktif çocuklarda tükürük ve plaktaki MS-LB sayısına ve bu bakterilerin biyofilme yapışması üzerine etkisinin değerlendirilmesinin amaçlandığı çalışmamızda, alınan tükürük ve plak örneklerinin başlangıç, tedavi ve kefir tüketimi sonrası sonuçları incelenmiştir.

3.1. Plak ve Tükürükteki MS ve LB Miktarlarının Dip Slide Yöntemiyle Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi

Gruplara ait plak ve tükürük başlangıç, dolgu sonrası ve kefir tüketimi sonrası MS ve LB miktarları çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Plak ve Tükürükteki MS ve LB Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi

ZAMAN	ÖRNEK	MS ($\times 10^4$ CFU/ml)						LB ($\times 10^4$ CFU/ml)					
		A1	A2	B1	B2	PK	NK	A1	A2	B1	B2	PK	NK
BAŞLANGIÇ	TÜKÜRÜK	4,46 ($\pm 2,16$)	3,97 ($\pm 1,72$)	2,9 ($\pm 1,07$)	5,2 ($\pm 2,57$)	4,07 ($\pm 2,26$)	0,2 ($\pm 0,08$)	3,7 ($\pm 1,6$)	5,05 ($\pm 2,1$)	2,37 ($\pm 0,75$)	4,3 ($\pm 1,8$)	4,1 ($\pm 2,3$)	0,025
	PLAK	0,47 ($\pm 0,29$)	0,9 ($\pm 0,35$)	0,24 ($\pm 0,1$)	0,47 ($\pm 0,26$)	0,86 ($\pm 0,54$)	0,02 ($\pm 0,01$)	5,91 ($\pm 3,37$)	4,42 ($\pm 2,4$)	0,89 ($\pm 0,07$)	1,37 ($\pm 0,27$)	3,1 ($\pm 1,2$)	0,03 ($\pm 0,01$)
TEDAVİ SONRASI	TÜKÜRÜK	0,2 ($\pm 0,16$)	0,35 ($\pm 0,12$)	0,17 ($\pm 0,07$)	0,55 ($\pm 0,25$)	4,1 ($\pm 2,21$)	0,19 ($\pm 0,07$)	2,99 ($\pm 1,9$)	2,7 ($\pm 1,28$)	0,3 ($\pm 0,06$)	0,44 ($\pm 0,15$)	4,15 ($\pm 2,39$)	0,024
	PLAK	0,3 ($\pm 0,4$)	0,1 ($\pm 0,37$)	0,12 ($\pm 0,06$)	0,48 ($\pm 0,17$)	0,85 ($\pm 0,52$)	0,02 ($\pm 0,012$)	0,04 ($\pm 0,02$)	0,05 ($\pm 0,03$)	0,08 ($\pm 0,01$)	0,09 ($\pm 0,02$)	3,0 ($\pm 1,15$)	0,03 ($\pm 0,011$)
KEFİR SONRASI	TÜKÜRÜK	0,44 ($\pm 0,12$)	0,07 ($\pm 0,05$)	0,25 ($\pm 0,13$)	0,54 ($\pm 0,13$)	4,08 ($\pm 2,2$)	0,21 ($\pm 0,09$)	1,56 ($\pm 0,9$)	0,63 ($\pm 0,3$)	0,24 ($\pm 0,07$)	0,25 ($\pm 0,12$)	4,13 ($\pm 2,4$)	0,025
	PLAK	0,01 ($\pm 0,006$)	0	0,03	0,01	0,88 ($\pm 0,5$)	0,019 ($\pm 0,011$)	0,03 ($\pm 0,02$)	0	0	0,01	3,05 ($\pm 1,17$)	0,03 ($\pm 0,01$)

A₁: A grubunda ticari kefir tüketenlerA₂: A grubunda mayalanmış kefir tüketenlerB₁: B grubunda ticari kefir tüketenlerB₂: B grubunda mayalanmış kefir tüketenler

PK: Pozitif kontrol grubu

NK: Negatif kontrol grubu

Başlangıç tükürük MS sayısı ($\times 10^4$ CFU/ml) A grubu ticari kefir tüketenlerde (A_1) 4,46; A grubu mayalanmış kefir tüketenlerde (A_2) 3,97; B grubu ticari kefir tüketenlerde (B_1) 2,9; B grubu mayalanmış kefir tüketenlerde (B_2) 5,2; pozitif kontrol (PK) grubunda 4,07; negatif kontrol (NK) grubunda 0,2'dir. Tedavi işlemlerinin tamamlanmasının ardından, tüm gruplarda tükürük MS sayılarının istatistiksel olarak anlamlı oranda düştüğü saptanmıştır ($p < 0,05$). Kefir tüketimi sonrası MS sayıları, başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktür ($p < 0,05$). Kefir tüketimi sonrası MS sayıları tedavi sonrası değerlerle karşılaştırıldığında ise, A_1 ve B_1 gruplarında artmış, A_2 ve B_2 gruplarında ise azalmıştır; ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$) (Şekil 3.1).

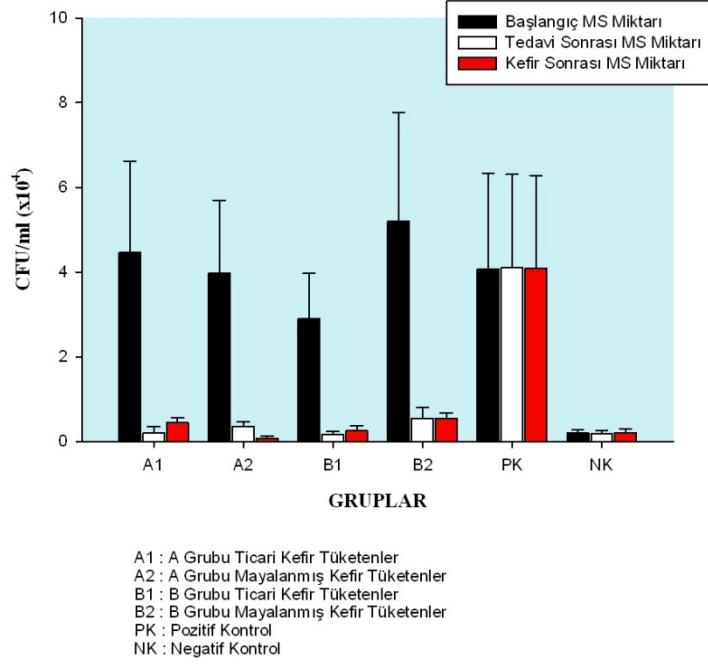
Başlangıç tükürük LB sayısı ($\times 10^4$ CFU/ml) A_1 grubunda 3,7; A_2 grubunda 5,05; B_1 grubunda 2,37; B_2 grubunda 4,3; PK grubunda 4,1; NK grubunda 0,025'dir. Dolgu işlemlerinin tamamlanmasının ardından, tükürük LB sayılarında kontrol grupları hariç diğer gruplarda, istatistiksel olarak anlamlı oranda bir azalma görülmüştür ($p < 0,05$). Tedavilerin tamamlanmasının ardından alınan tükürük örneklerindeki LB sayıları başlangıç değerleriyle kıyaslandığında, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş göstermiştir ($p < 0,05$). B gruplarında, A gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla düşme görülmüştür ($p < 0,05$). Kefir tüketimi sonrası tükürük LB sayıları, başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktür ($p < 0,05$). Kefir tüketimi sonrası tükürük LB sayıları, tedavi sonrası değerlere göre tüm gruplarda azalma göstermiştir. A_1 ve A_2 gruplarındaki bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıyken ($p < 0,05$); B_1 ve B_2 gruplarında bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 3.2).

Başlangıç plak MS sayısı ($\times 10^4$ CFU/ml) A_1 grubunda 0,47; A_2 grubunda 0,9; B_1 grubunda 0,24; B_2 grubunda 0,47; PK grubunda 0,86; NK grubunda 0,02'dir. Tedavilerin tamamlanmasının ardından alınan plak örneklerindeki

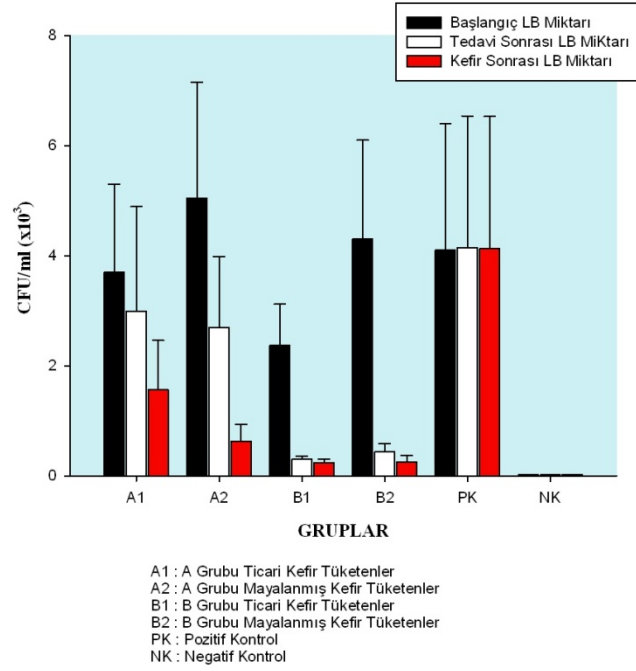
MS sayılarında, B₂ grubu hariç, diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı oranda azalma saptanmıştır ($p<0,05$). Kefir tüketimi sonrası değerler, hem başlangıca hem de tedavi sonrasına göre tüm gruplarda azalma göstermiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Başlangıç değerleriyle kıyaslandığında, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş gözlenirken, tedavi sonrasındaki değerlerle karşılaştırıldığında, A₁ ve B₂ grubundaki azalma anlamlı olarak saptanmıştır ($p<0,05$) (Şekil 3.3).

Başlangıç plak LB sayısı ($\times 10^4$ CFU/ml) A₁ grubunda 5,91; A₂ grubunda 4,42; B₁ grubunda 0,89; B₂ grubunda 1,37; PK grubunda 3,1; NK grubunda 0,03'dir. Tedavilerin tamamlanmasının ardından, plak LB sayıları tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş göstermiştir ($p<0,05$). Grupların kendi içinde karşılaştırılmasında LB sayıları, B₂ grubunda diğer gruplardan yüksektir; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Kefir tüketimi sonrası plak LB sayılarının başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu saptanmasına rağmen ($p<0,05$), tedavi sonrası değerlere göre gruplar arasında farklılık göstermemektedir ($p>0,05$). Plak örneklerindeki LB sayıları A₁ grubunda, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla düşme göstermiştir ($p<0,05$) (Şekil 3.4).

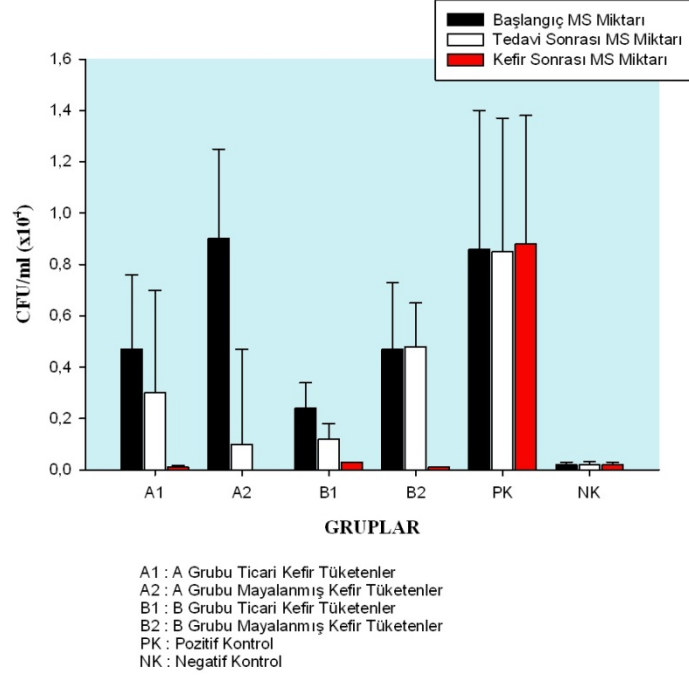
Şekil.3.1. Tükürük MS Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



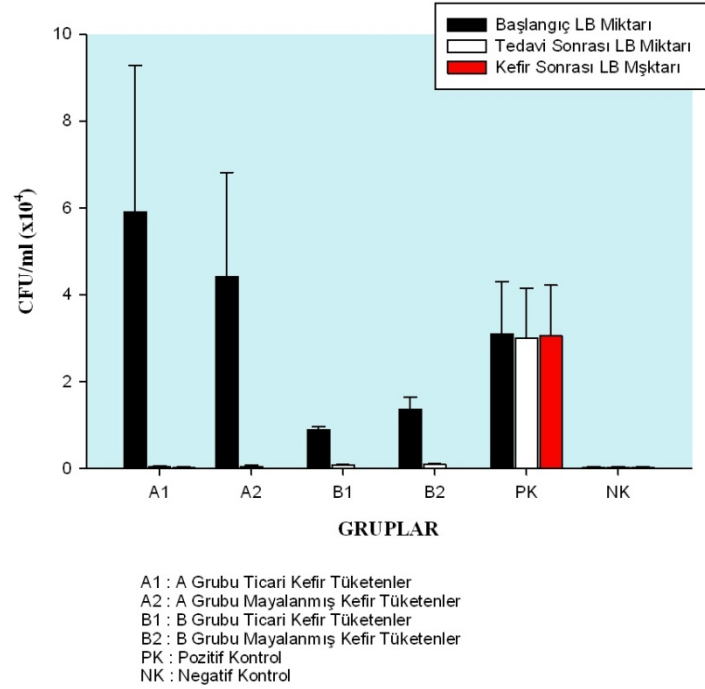
Şekil.3.2. Tükürük LB Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



Şekil 3.3. Plak MS Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



Şekil 3.4. Plak LB miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



3.2. Slime (Yapışma) Testi Plak Ve Tükürük MS ve LB Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi

Gruplara ait başlangıç, dolgu sonrası ve kefir tüketimi sonrası tükürük ve plak MS ve LB slime testi değerleri Çizelge 3.3'te görülmektedir.

Çizelge 3.2. Slime testi plak MS ve LB miktarlarının çalışma zamanlarına göre değerlendirme çizelgesi

ZAMIAN	ÖRNEK	MS (570 nm)						LB (570 nm)					
		A1	A2	B1	B2	PK	NK	A1	A2	B1	B2	PK	NK
BAŞLANGIÇ	TÜKÜRÜK	3,84 (±0,15)	3,74 (±0,18)	3,50 (±0,18)	3,69 (±0,4)	3,8 (±0,15)	2,89 (±0,00)	3,78 (±0,19)	3,65 (±0,08)	3,53 (±0,25)	3,68 (±0,42)	3,85 (±0,14)	2,02 (±0,00)
	PLAK	3,638 (±0,171)	3,699 (±0,285)	3,484 (±0,091)	3,71 (±0,128)	3,786 (±0,183)	0,085 (±0,019)	3,399 (±0,15)	3,645 (±0,308)	3,966 (±0,065)	3,938 (±0,10)	3,52 (±0,322)	0,043 (±0,011)
DOLGU SONRASI	TÜKÜRÜK	3,64 (±0,16)	3,53 (±0,23)	3,12 (±0,22)	3,48 (±0,4)	3,8 (±0,15)	2,89 (±0,00)	3,56 (±0,22)	3,42 (±0,25)	3,43 (±0,07)	3,4 (±0,27)	3,85 (±0,14)	2,02 (±0,00)
	PLAK	0,068 (±0,021)	0,086 (±0,014)	0,09 (±0,042)	0,086 (±0,013)	3,786 (±0,183)	0,085 (±0,019)	0,054 (±0,007)	0,053 (±0,026)	0,064 (±0,005)	0,076 (±0,009)	3,52 (±0,322)	0,043 (±0,011)
KEFİR SONRASI	TÜKÜRÜK	3,39 (±0,16)	3,54 (±0,14)	3,30 (±0,04)	3,02 (±0,55)	3,8 (±0,15)	2,89 (±0,00)	3,51 (±0,17)	3,43 (±0,23)	2,90 (±0,57)	3,06 (±0,58)	3,85 (±0,14)	2,02 (±0,00)
	PLAK	0,177 (±0,043)	0,154 (±0,058)	0,149 (±0,007)	0,107 (±0,022)	3,786 (±0,183)	0,085 (±0,019)	0,184 (±0,02)	0,03 (±0,012)	0,056 (±0,007)	0,058 (±0,029)	3,52 (±0,322)	0,043 (±0,011)

Başlangıç tükürük MS'nin yapışma miktarları, A₁ grubunda 3,84; A₂ grubunda 3,74; B₁ grubunda 3,50; B₂ grubunda 3,69; PK grubunda 3,8; NK grubunda 2,89'dur. Tedavilerin tamamlanmasının ardından, alınan tükürük örneklerindeki MS'nin yapışma miktarı başlangıç MS yapışma miktarına göre tüm gruplarda düşüş göstermekle birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Kefir tüketiminin ardından alınan tükürük örneklerindeki MS'nin yapışma miktarı tedavi sonrası değerlere göre sadece A₁ grubunda düşüş gösterirken, A₂ grubunda yapışma miktarında değişiklik gözlenmemiştir. B₁ ve B₂ gruplarında ise, tedavi sonrasındaki yapışma miktarlarına göre, artış izlenmiştir. Bu farklar hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Şekil 3.5).

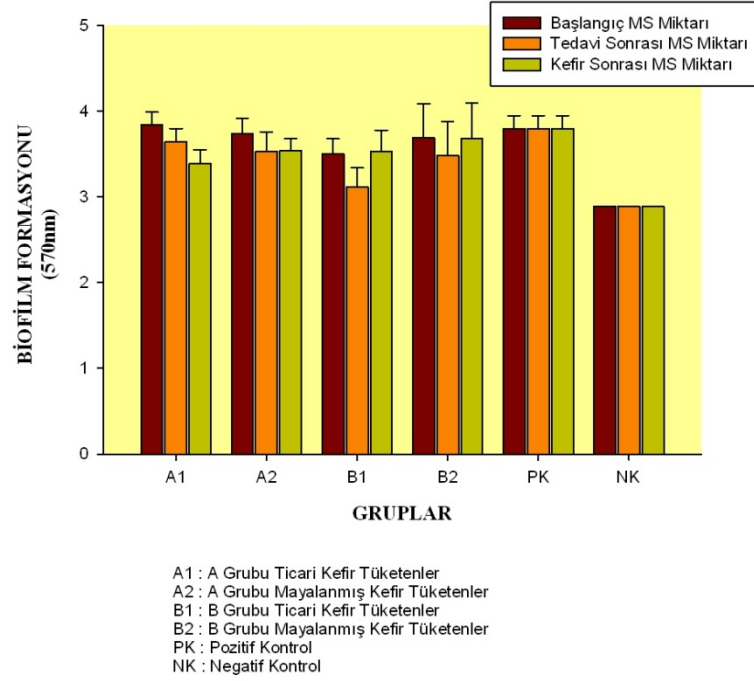
Başlangıç tükürük LB yapışma miktarları A₁ grubunda 3,78; A₂ grubunda 3,65; B₁ grubunda 3,53; B₂ grubunda 3,68; PK grubunda 3,85; NK grubunda 2,02'dir. Tedavilerin tamamlanmasının ardından, tükürük örneklerindeki LB yapışma miktarları başlangıç LB yapışma miktarlarına göre tüm gruplarda düşüş göstermiştir; ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Kefir tüketiminin ardından alınan tükürük örneklerindeki LB yapışma miktarları başlangıç değerlerine göre düşük olmasına rağmen; bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Kefir tüketimi sonrasında ise LB yapışma miktarlarının, B₁ ve B₂ gruplarında, başlangıç ve tedavi sonrası değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 3.6).

Başlangıç plak MS yapışma miktarları A₁ grubunda 3,638; A₂ grubunda 3,699; B₁ grubunda 3,484; B₂ grubunda 3,71; PK grubunda 3,786; NK grubunda 0,085'dir. Tedavilerin tamamlanmasının ardından, plak MS yapışma miktarları tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşme göstermiştir ($p<0,05$). Grupların kendi içinde karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Kefir tüketiminin ardından

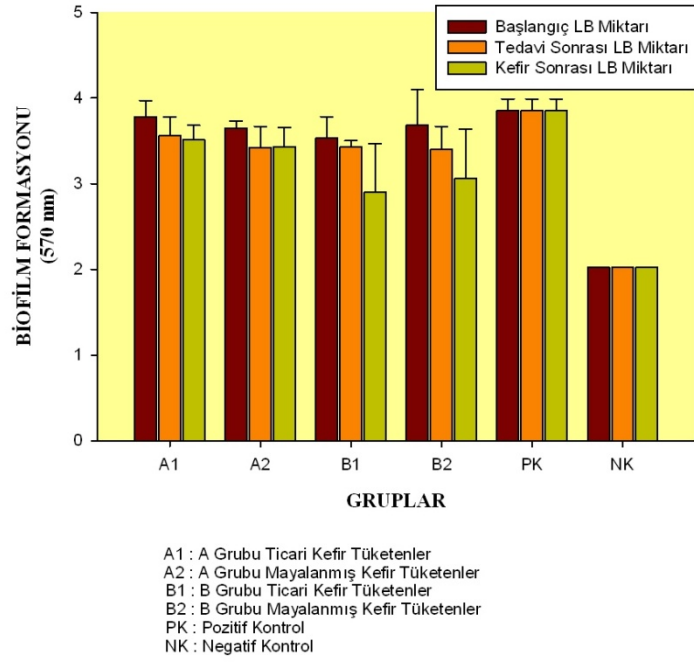
alınan örneklerdeki plak yapışma değerlerinin, başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük ($p<0,05$) olduğu, dolgu sonrası alınan değerlere göre yüksek olduğu saptanmıştır; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). (Şekil 3.7).

Başlangıç plak LB yapışma miktarları A_1 grubunda 3,399; A_2 grubunda 3,645; B_1 grubunda 3,966; B_2 grubunda 3,938; PK grubunda 3,5; NK grubunda 0,043'dir. Tedavi işlemlerinin tamamlanmasının ardından alınan plak örneklerindeki, LB yapışma miktarları tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş göstermiştir ($p<0,05$). Kefir tüketimini takiben LB'nin yapışma miktarı, başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük ($p<0,05$) olmasına rağmen, dolgu sonrası değerlere göre farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Şekil 3.8).

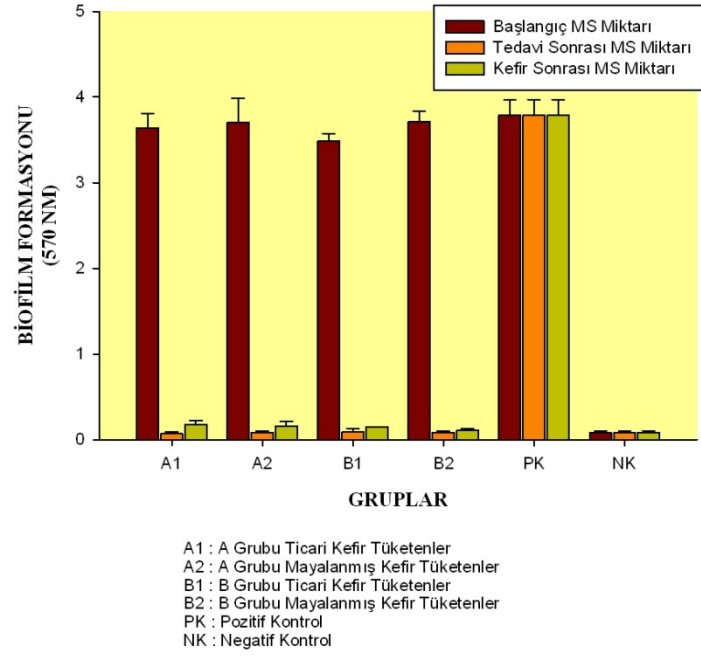
Şekil 3.5. Tükürük MS Yapışma Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



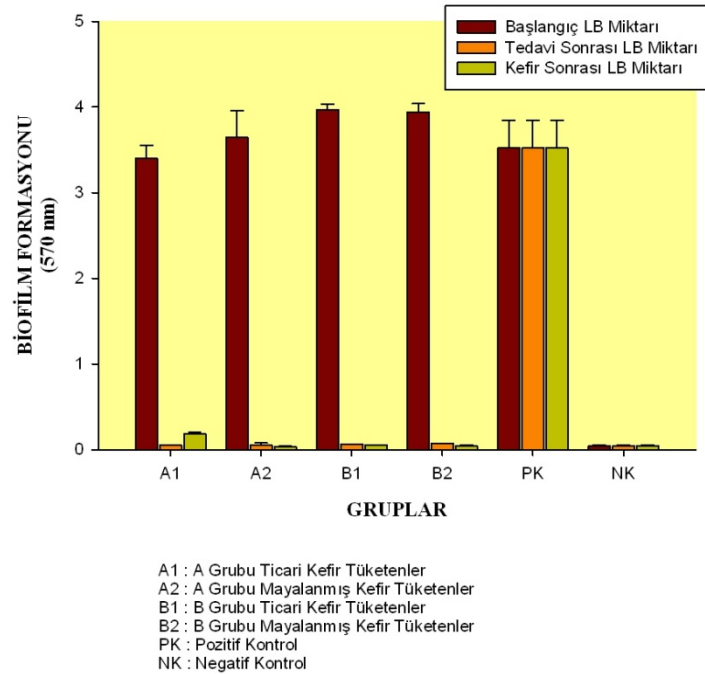
Şekil 3.6. Tükürük LB Yapışma Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



Şekil 3.7. Plak MS Yapışma Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



Şekil 3.8. Plak LB Yapışma Miktarlarının Çalışma Zamanlarına Göre Değerlendirilmesi



4. TARTIŞMA

Diş çürüğü çocuklarda en sık rastlanılan hastalıklardan biridir (van Houte, 1994; Kagihara ve ark., 2009). Dental plak matriksinin özelliklerini, kompozisyonunu, fizikokimyasal olaylarını ve bakteriyel ilişkilerini içeren bir dizi olay sonucu oluşan diş çürüğü, araştırmacılar için her zaman ilgi çekici olmuştur (Cury ve ark., 2000).

Gelişmekte olan ülkelerde değişen diyet alışkanlıklarının çürük insidansında artışa neden olduğu ve diş çürüğünün temel bir ağız problemi olarak ciddiyetini korumaya devam ettiği görülmektedir (Tenovuo, 1991; Baehni ve Takeuchi, 2003). Diş çürüğü ve komplikasyonlarının bireyin kendisine, topluma ve devlete verdiği maddi ve manevi zararlar göz önüne alındığında, semptomla yönelik tedavi yaklaşımlarından çok koruyucu önlemlerin alınmasının önemi ortaya çıkmaktadır (Beyar, 2003). Diş çürüğü ve periodontal hastalıklara spesifik bakterilerin sebep olduğu düşünülürse koruyucu yaklaşımın hedefi, risk altındaki bireylerin tespit edilerek, bakteri plağındaki patojenlerin baskılanması veya elimine edilmesidir (Beyar, 2003).

Klorheksidin, triklosan, florid, ksilitol ve antibiyotik kullanımı gibi kimyasal yöntemler ile plak biyofilm formasyonunu engellemeye yönelik çok fazla çaba sarfedilmiştir (Hicks ve ark., 2004; Twetman, 2004; Zhang ve ark., 2006; Garcia-Godoy ve Hicks, 2008; Allaker ve Douglas 2009; Koo ve Jeon, 2009; Santos ve ark., 2009; Zero ve ark., 2009; Jeevarathan ve ark., 2010; Makinen, 2010). Ancak bu ajanların bazılarının uzun süre kullanımı sonucunda dişlerde boyanmalar, tat alma duyusunda değişim ve diştaşı oluşumunda artış gibi istenmeyen yan etkiler görülmüştür (Allaker ve Douglas, 2009). Son yıllarda doğal antimikrobiyal ajanların kullanımı gündeme gelmiş, çay ağacı özü, misvak, nane, yeşil çay, manuka balı gibi

doğal antimikrobiyal ürünler gargara ve macunlara eklenmiştir (Allaker ve Douglas, 2009).

Yüksek derecede dirençli suşların ortaya çıkmasıyla oluşan antibiyotik bağışıklığı, dünya çapında gittikçe artan bir öneme sahiptir. Bu talihsiz gelişim, enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede bilim adamlarının yeni arayışlar içine girmesine neden olmuştur (Borody ve ark., 2003). Probiyotik bakterilerin, çeşitli moleküler mekanizmalar aracılığıyla insanların bağışıklık sistemini etkilediği belirlenmiştir. Prebiyotikler ve probiyotikler, çeşitli endemik ve akut hastalıklardan korunmada yardımcı görevi görüp, bu hastalıklara karşı tedavi edici özellik gösterirler (Kargul ve ark., 2003; Çağlar ve ark., 2005a; Meurman, 2005; Figler, 2006; Meurman ve Stamatova, 2007; Turan ve İlter, 2007; de Vrese ve Marteau, 2007; Twetman ve Steckslen-Blicks, 2008; Bonifait ve ark., 2009; Minocha, 2009; Ng ve ark., 2009). Ek olarak probiyotikler, biyofilm formasyonunu durdurmak ve konakçıyı ağız hastalıklarına karşı korumak için alternatif bir yaklaşım olarak dikkat çekmektedir (Chung ve ark., 2004).

Güncel çalışmalar, probiyotik bakterilerin eklendiği ürünlerin ağız yoluyla kullanılmasıyla, tükürük ve/veya plaktaki patojen bakterilerin sayısındaki azalmayı göstermektedir (Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; 2006, Hatakka ve ark., 2007; Çağlar ve ark., 2007; Çağlar ve ark., 2008a; 2008b; Çıldır ve ark., 2009). Yapılan çalışmaların çoğunda süt veya süt içerikli ürünlere eklenmiş olan probiyotiklerin (Buscher ve ark., 1999; Hatakka ve ark., 2001; Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; Hatakka ve ark., 2007; Çağlar ve ark., 2008b; Çıldır ve ark., 2009) ya da taşıyıcı araçların içerdiği birkaç probiyotik türünün (Montalto ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2006; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Çağlar ve ark., 2007, 2008a, Haukioja ve ark., 2008; Çağlar ve ark., 2009; Kumada ve ark., 2009; Tsubura ve ark., 2009; Twetman ve ark., 2009; Chuang ve ark., 2010) kullanıldığı görülmektedir.

Sütün mayalanmasıyla elde edilen ve doğal bir probiyotik olan kefir, özellikle Orta Asya ülkelerinde eski tarihlerden beri (Ötleş ve ark., 2003), son birkaç yıldır da ülkemizin de içinde bulunduğu Avrupa ülkelerinde sıklıkla tüketilen içeceklerdendir (Ötleş ve ark., 2003; Turan ve İlter, 2007; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Raf ömrü çok uzun olmamasına rağmen son yıllarda genel sağlığa hatta sindirime olumlu etkileri yüzünden popülerite kazanmış olan kefir, ticari formu ya da mayasıyla süt ve süt ürünlerinin pazarlandığı neredeyse tüm işletmelerde yerini bulmuştur (Turan ve İlter, 2007).

Piyasada mevcut probiyotik ürünlerin neredeyse tamamı bir ya da birkaç tür probiyotik bakteri içermektedir (Sanders, 2003; Çağlar ve ark., 2005a). Kefirde ise probiyotik bakteri türlerine ek olarak mayalar ve mantarlar da mevcuttur (Erten, 2005; Turan ve İlter, 2007; Gönülateş, 2008; Yıldız 2010). Bu durum kefirin probiyotik etkisini diğer araçlardan daha güçlü kılmaktadır. Kefirin fermentasyonundan sorumlu probiyotik mikroorganizmalar *Saccharomyces kefir*, *Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *Lactobacillus caucacus*'dur. Birbirleriyle sinerjik etkili birden fazla probiyotik mikroorganizmanın kullanılması kefiri yoğurttan daha kıymetli gıda konumuna getirmektedir (Koçkar, 2009).

Son yıllarda probiyotiklerin ağız içinde çürük yapıcı mikroorganizmalar üzerindeki durdurucu ve azaltıcı etkileriyle ilgili çalışmalar artmaktadır; ancak yapılan kaynak taramasında doğal bir probiyotik içecek olan kefirin çürük yapıcı mikroorganizmalar üzerine etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda kefirin ağız içinde bulunan patojen MS-LB sayılarına ve bu bakterilerin biofilme yapışması üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Probiyotiklerin çürük yapıcı mikroorganizmalara etkisinin değerlendirildiği çalışmalar gözden geçirildiğinde araştırmaların çoğunlukla yetişkin gönüllüler üzerinde yapıldığı gözlenmiştir (Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002;

Montalto ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; 2006; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Hatakka ve ark., 2007; Çağlar ve ark., 2007; 2008a; 2008b; 2009). Çocuklar üzerinde yapılan iki çalışmada, probiyotik içeren sütün diş çürüğünün engellenmesi üzerindeki olumlu etkileri belirtilmiştir (Nase ve ark., 2001; Steckslen-Blicks ve ark., 2009). Yetişkinlerle çocuklar arasındaki ağız içi floranın farklı olduğu düşüncesinden hareketle, araştırmamız 5-8 yaş arası çocuklarda planlanmıştır. Caufield ve ark. (1993), infektive penceresi deyimıyla çocuklarda, çürük aktivitenin başlangıcıyla ilgili yeni bir düşünce öne sürmüşlerdir. Bu düşünceye göre, çocuklarda süt azı dişleri sürmeye başladığında ağız içinde mikrobiyal kolonizasyonda karyojenik bakteriler lehine değişiklik başlar. Bu dönem “1. *Infektivite dönemi*” (19-31 ay arası), birinci büyük azı dişleri sürmeye başladığı dönem ise “2. *infektivite dönemi*” (5-8 yaş arası) olarak adlandırılmıştır (Caufield ve ark.; 1993; Brailsford ve ark., 2005). Araştırmalar bu dönemde yeni sürmekte olan dişlerin sürmesinin ardından geçen ilk 1-3 yıl içerisinde, henüz ağız sıvıları tarafından korunamadan, çürük yapıcı mikroorganizmalar tarafından enfekte edildiğini, böylece çürüğün çok hızlı ilerlediğini göstermektedir (Toi ve ark., 2000; Thylstrup ve Fejerskov, 2003). Biz de çalışmamıza 5-8 yaş arası çocukları seçerek, henüz sürmekte olan daimi dişlerin çürük mikroorganizmaları tarafından enfekte edilmeden, oral flora içinde dengenin MS lehine gelişmesini durdurmak için probiyotik bakterilerin kullanılabileceğini düşündük.

Çalışmamızda çürüklü ve çürüksüz grupların belirlenmesinde DMFS ve df-s indeksi kullanıldı. Verrips ve ark. (1992) farklı etnik gruplara mensup 5 yaşındaki çocuklarda çürük için potansiyel risk faktörlerini belirledikleri araştırmalarında, dfs'nin bu risk faktörleri içinde olduğunu göstermişlerdir. Pearce ve ark. (2002a), benzer şekilde yüksek riske sahip bireyleri belirlemede başlangıç DMFS değerinin anlamlı olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmalarla uyumlu olarak dental plak ile çürük arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda DMFS=0 olan denekler çürüksüz, DMFS≥10 olanlar da çürüklü olarak gruplandırılmıştır (Margolis ve ark., 1988; Margolis ve Moreno, 1992;

Margolis ve ark., 1993; Gao ve ark.,2001). Çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde çürüksüz grup DMFS/df-s=0, çürüklü grup da DMFS/df-s≥10 olarak belirlenmiştir.

Etik nedenlerle çalışmamıza dâhil olan tüm çocuk deneklerin çalışma süresince tedavilerinin tamamlanmış olmasına özen gösterildi. Ancak çalışmamızın yöntemi gereği, negatif ve pozitif kontrol grubuna ihtiyaç duyuldu. Bu amaçla pozitif kontrol grubu olarak çürük aktivitesi yüksek, ancak uyum problemi olan ve tedavi yaptırmayan çocuklar; negatif kontrol grubu olarak ise DMFS/ dfs =0 olan çocuklar seçildi.

Çalışmamızda daha önce diş tedavisi olmamış (A grubu) ve karışık dişlenme öncesi tedavi görmüş (B grubu) çocuklar iki ana grubu oluşturmaktadır. Tedavi görmüş grubu seçmemizdeki amaç, çalışma öncesinde uygulanan dolguların ağız içindeki MS ve LB sayılarına etkisini, dolayısıyla çürük aktivitesini değiştirip değiştirmediğini görmek ve değişmediği takdirde uygulanacak deneyin bu grup çocuklarda da etkisini değerlendirmektir.

MS'nin çürük lezyonunun başlamasından ve ilerlemesinden sorumlu en önemli mikroorganizma olduğu yıllardır bilinmektedir. Bu nedenle araştırmacılar, çürük aktivitesini belirleyebilmek amacıyla, MS'yi temel mikroorganizma olarak kullanmaktadırlar (Coykendall,1977; Loesche,1986; van Houte,1994; Marsh,1994; Banas ve Vickerman, 2003; Çağlar ve ark., 2005a; Deshpande ve Jadad; 2008). Çalışmamızda daha önce yapılan probiyotik çalışmalarda da olduğu gibi (Buscher ve ark., 1999; Petti ve ark.,2001; Nase ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Comelli ve ark., 2002; Montalto ve ark., 2004; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b, 2006, 2007, 2008a; 2008b, 2009, Twetman ve ark., 2009) çürük aktivitesinin değerlendirilmesinde, parametrelerden biri olarak tükürük ve plaktaki MS miktarları kullanılmıştır.

LB'ler, karyojenik özelliklerinden dolayı uzun yıllardır dental araştırmaların ilgi odağı olmuştur (Loesche, 1986; van Houte, 1994; Banas ve Vickerman, 2003; Marsh, 2004). LB'ler, çürük lezyonlarının ilerlemesiyle ilişkili bakterilerdir. Günümüze kadar yapılan ağız içi çalışmalarda LB seviyeleriyle ilgili ortak bir karara varılamaması ve LB'lerin çoğunlukla ilerlemiş çürük lezyonlarındaki mikrobiyal kompozisyonlardan sorumlu tutulması nedenleriyle, çalışmamızda MS'yle beraber, LB miktarları da değerlendirilmiştir.

Bir sıvı tarafından yıkanan yüzeyde, bakteriyel yapışma temel adımdır. Ağız boşluğu, tükürük tarafından yıkanan, keratinize ve keratinize olmayan epitel ile dişlerin de içinde olduğu birkaç çeşit yüzey içeren bir ortamdır. Adhezyon organizmaların ağız içi sıvılar tarafından yıkanarak uzaklaşmasını engellemek için gereklidir (Whittaker ve ark., 1996; Stamatova ve ark., 2009). Probiyotik bakterilerin, etki gösterebilmeleri için öncelikle ağız içinde mevcut bakteriyel floranın bulunduğu yüzeylere yarışmalı olarak yapışabilmeleri gerekir (Mandel, 1974; Whittaker ve ark., 1996; Stamatova ve ark., 2009). Muhtemelen probiyotik bakteriler, ağız içinde kolonize olabilmek için, diş yüzeyinde bulunan ve tükürük glikoproteinleri tarafından oluşturan pelikula yapışarak (Stamatova ve ark., 2009) veya konakçının immün sistemini güçlendirerek etki göstermektedirler (Allaker ve Douglas, 2009). Araştırmacılar çalışmalarında radyoaktif olarak işaretlenmiş bakterilerin yapışma testlerini kontrol için en iyi yol olduğunu söylediler de (Vesterlund ve ark., 2005; Stamatova ve ark., 2009), ülkemizde işaretlenmiş bakteri bulmak son derece zor ve pahalı bir işlemdir. Bu nedenle çalışmamızda bakterilerin yapışmasını değerlendirmede slime yöntemi kullanıldı.

Probiyotik bakterilerle ilgili yapılan ağız içi çalışmalarda MS ve LB sayılarının saptanması amacıyla tükürük kullanılmıştır (Petti ve ark., 2001, Ahola ve ark., 2002; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; Hatakka ve ark., 2007; Haukioja ve ark., 2008; Çıldır ve ark., 2009). Ancak bu duruma ek olarak plaktaki karyojenik bakterilerin sayısının daha da önemli olduğu bilinmektedir

(Loesche,1986; Bowden ve Li, 1997). Bu sebeple çalışmamızda tükürük MS ve LB değerlerine ek olarak, plak MS ve LB değerlerine de bakılmıştır.

Daha önce yapılan birçok çalışmada uyarılmamış tükürük toplanmıştır (Shannon ve ark., 1976; Caufield ve ark, 1993; Bowden ve Li, 1997; Piangrach ve ark., 2009; Beltzer ve ark., 2010; Lee ve ark., 2010). Uyarılmamış tükürüğün mikroflorası, biofilm mikroflorasına çok yakındır (Caufield ve ark, 1993, Bowden ve Li, 1997). Uyarılmamış tükürük birkaç şekilde toplanabilmektedir. Bunlar; pasif olarak akıtma yöntemi, hidroselüloz mikro süngerle toplama, sentetik swab metodu, pamuk tampona emdirme yöntemidir (Beltzer ve ark., 2010). Pamuk tampona emdirme yönteminde emdirilen tükürük miktarı az ise, sıkarak ya da santrifüj uygulayarak yeterli hacimde örnek toplamak zor ve zahmetlidir. Mevcut yöntemler içerisinde, pasif akıtma yöntemi uygulama kolaylığı sebebiyle daha önce de tercih edilmiştir (Piangrach ve ark., 2009; Beltzer ve ark., 2010). Alınan tükürük örneklerinin mikroflorasını yansıtabilmesi için en az 2-3 ml olması gerekmektedir (Piangrach ve ark., 2009). Bu miktarda tükürük alınabilmesi için beklenmesi gereken süre çalışmamızda ortalama 5 dk olarak belirlendi. Örneklerin toplanması için daha önce de benzer şekilde sabah saatlerini seçen araştırmacıların görüşleri göz önüne alınarak (Piangrach ve ark., 2009), çocukların kliniğe gelmeden önceki ortalama kahvaltı saati 7-10 olarak belirlenmiş ve toplanacak tükürük örnekleri, kahvaltının ardından meydana gelecek uyarılmadan etkilenmesi istenmediği için sabah 9-12 saatleri arasında toplanmıştır.

Plağın karyojenik gücünde, biyokimyasal yapısının etkisinin araştırıldığı çalışmalarda analiz yapabilecek düzeyde yeterli plak birikiminin sağlanabilmesi için bazı araştırmacılar deneklere iki gün süreyle (Margolis ve ark., 1988; Wilson ve Ashley, 1988b; Margolis ve Moreno, 1992; Margolis ve ark., 1993; Tanaka ve Margolis, 1999; Gao ve ark., 2001), bazıları da üç gün süreyle oral hijyen işlemlerini bıraktırmışlardır (Gron ve ark., 1969; Grobler ve ark., 1982; Kato ve ark., 1997; Pearce ve ark., 1999; Nobre dos Santos ve

ark., 2003; Pearce ve ark., 2002a; 2002b). Çocuklarda plak birikiminin yetişkinlerden daha az olması nedeniyle, çalışmamızda analiz için yeterli plak birikimini sağlamak amacıyla deneklere 3 gün süreyle her türlü oral hijyen işlemleri bırakıldı. Ayrıca ağız içi koşulları standardize etmek için denekler, plak ve tükürük toplamadan önce, son iki saat içerisinde bir şey yiyip içmemeleri konusunda bilgilendirildi. Gün içindeki değişiklikleri minimuma indirmek için her deneğin plak ve tükürük örneklerinin alımı, ilk işlem saatiyle aynı saatte ve hepsinde gün içerisinde eş zamanlı olarak yapıldı.

Diş çürüğü ve dental plak arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda, örneklemedeki plağın tipi önemlidir (Pearce ve ark., 2002a). Plak ile ilgili çalışmaların bir kısmında sadece dişlerin bukkal ve lingual yüzeylerinden plak toplanmakta, ancak pit ve fissürler ya da ara yüzlerden plak toplanmamaktadır (Gron ve ark., 1969; Grobler ve ark., 1982; Pearce, 1984; Pearce ve ark., 1999; Nobre dos Santos ve ark., 2002; Pearce ve ark., 2002a, b). Pearce ve ark. (2002a), bukkal ve lingual yüzeylerde %5 oranında lezyon gelişimi olması sebebiyle sadece bu yüzeylerden toplanan plağın analiz ve değerlendirme için yeterli olmayacağını belirtmişlerdir. Wilson ve Ashley'de (1988a) yalnızca bukkal ve lingual yüzeylerden toplanan plağın biyokimyasal yapısı hakkındaki bilginin, çürüğün en çok görüldüğü bölgelerdeki plağı direkt olarak yansıtmadığını bildirmişlerdir. Ara yüzlerde çürük gelişiminin düz yüzeylere oranla daha çok görülmesinden dolayı, çürük ve plağın kompozisyonu arasındaki ilişkiyi araştırmada ara yüz plağının kullanılmasının daha uygun olduğu belirtilmiştir (Wilson ve Ashley, 1988b; Wilson ve Ashley, 1990b). Tüm bunları değerlendirildiğinde, tek bir bölgeden alınan plak örneklerinin tüm ağız plağını temsil etmeyeceği düşünülmüş ve çalışmamızda, diş taşı kontaminasyonu olmaması amacıyla alt keser dişlerin lingual bölgesi hariç, plak rastgele dişlerin rastgele yüzeylerinden toplanmıştır (Wilson ve Ashley, 1988b; Wilson ve Ashley, 1990b; Bayrak, 2006).

In vivo çalışmalarda plak örnekleri küret (Rankine ve ark., 1985; Moreno ve Margolis, 1988; Rankine ve ark., 1996; Sachdeo ve ark., 2008), kretuar

(Ashley, 1975; Ashley ve Wilson, 1977; Shaw ve ark., 1983; Wilson ve Ashley, 1988a) ya da steril bir ekskavatör (Nobre dos Santos, 2002; Bayrak, 2006) gibi farklı aletlerle toplanmaktadır. Çalışmamızda her bölgeye daha rahat ve kolay girebildiği için plak örnekleri kretuar yardımıyla toplanmıştır.

MS'ın belirlenmesinde kullanılan mitis salivarius agarda modifikasyonlar gerçekleştirilerek daha duyarlı seçici besiyerlerinin geliştirilmesi için birçok çalışma yapılmıştır (Gold ve ark., 1973; Tanzer ve ark., 1984; Schaeken ve ark., 1986). Çalışmamızda, araştırmacılar tarafından kabul görmüş ve çürük dentin dokusundaki MS ve LB miktarlarının incelendiği mikrobiyolojik çalışmalarda, sıklıkla tercih edilen MSB agar ve Rogosa Agar kullanılarak dip slide yöntemiyle değerlendirme yapıldı (Ricketts ve ark., 1995; Kidd ve ark., 1996; Maltz ve ark., 2002; Wicht ve ark., 2004; Lima ve ark., 2005; Ersin ve ark., 2006). Bu metodla alınan tükürük ve plak örnekleri 2 gün inkübe edildikten sonra MS ve LB türlerinin ağız içi miktarları tespit edilmektedir (Anderson ve ark., 1993). Şu an kullanılan yöntemler içerisinde bu yöntem bakterilerin değerlendirilmesi açısından en popüler yöntem olmasına rağmen, bu değerlendirme yöntemi açık bir sonuç vermemekte ve diğer yöntemlerle (moleküler teknikler v.b.) desteklenmeye ihtiyaç duymaktadır (Featherstone, 2000). Çalışmamızda dip slide yönteminin eksiklikleri yüzünden ortaya çıkabilecek sorunları gidermek amacıyla, slime testini yöntemimizi destekleyici olarak kullandık.

Günümüzde sıvı ve maya şeklinde birçok çeşit kefir piyasada satılmaktadır. Özellikle mayalanan sütün özelliklerinin, kefirin mikrobiyal kompozisyonunu, etil alkol ve laktik asit içeriğini değiştirdiği bilinmektedir (Turan ve İlter, 2007; Gönülateş, 2008; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Sütün sıcaklığı, mayalanma süresi, hatta sütün sağıldığı hayvanın beslenme koşulları dahi bu konuda önem arz etmektedir (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Mayalanmanın tavsiye edilen sürenin dışına çıktığı durumlarda, maya içindeki fermentasyon devam etmekte ve laktik asit miktarı artmaktadır. Dolayısıyla sert kefir tabir edilen ve tüketimi son

derece zorlaşan bir içecek oluşmaktadırdır (Erten, 2005; Turan ve İlter, 2007; Gönülateş, 2008; Güzel-Seydim ve ark., 2010). Hazır kefirlerde ise bu mayalanma olmaz, ancak tavsiye edilen kullanım süresi aşıldığında buna benzer bir tat oluşur (Güzel-Seydim ve ark., 2010). Çalışmamızda bu iki formun etkisinin farklı olup olmadığını anlamak için aynı gruptaki çocuklar iki alt gruba ayrılmış; bir grup ebeveynleri tarafından mayalanmış kefiri, diğeri ise hazır paketlenmiş kefiri kullanmıştır.

Probiyotik bakteriler ağız içinde ve bağırsakta daimi olarak kolonize olamamaktadırlar (Buscher ve ark., 1999; Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Gorbach, 2002; Ouwehand ve ark., 2002a; Guarner ve ark., 2005, Elahi ve ark., 2005; ağlar ve ark., 2005b, 2006, Meurman ve Stamatova, 2007; Twetman ve Steckslen-Blicks, 2008; Bonifait ve ark., 2009). Probiyotik etkinin gözlenebilmesi, probiyotik içerikli ürünlerin günlük tüketilmesi gerekmektedir (Petti ve ark., 2001; Ahola ve ark., 2002; Ouwehand ve ark., 2002a; Guarner ve ark., 2005, Elahi ve ark., 2005; Meurman, 2005; Yli-Knuuttila et al., 2006; Meurman ve Stamatova, 2007; Twetman ve Steckslen-Blicks, 2008). Bu nedenle biz de çalışmamızda deneklere kefiri günlük tükettirdik.

Yapılan çalışmalarda probiyotik bakterilerin optimal etkisi için uygun doz ile ilgili farklılıklar mevcuttur (Hatakka ve ark., 2001; Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Montalto ve ark., 2004; Nikawa ve ark., 2004; ağlar ve ark., 2005b; 2006; Yli-Knuuttila ve ark., 2006; Hatakka ve ark., 2007; ağlar ve ark., 2008b; ıldır ve ark., 2009) alışmamızda piyasada yer alan muadil firmaların önerdiği, yetişkin doz olan günlük en az 200 ml/gün kefirin dörtte biri olarak belirlenen 50 ml/gün doz deneklere içirildi.

Gönülateş (2008), kefir ile ilgili yaptığı çalışmada, yaşları 30 ile 60 arasında değişen gönüllü deneklere 6 hafta boyunca hafta içi günlerde dozu 200ml/gün olmak üzere kefir kullandırmıştır. Benzer şekilde Marcos ve ark., (2004)'nın *Lactobacillus casei* DN-114001 ilave edilmiş yoğurt kültürlerinin

etkisini değerlendirdikleri çalışmada, deneklere 6 hafta boyunca her gün 200 ml/gün olmak üzere probiyotik süt kullandırmışlardır. Biz de bu çalışmalara benzer şekilde deneklerimize 6 hafta boyunca her gün aynı saatte belirlenen dozda kefir kullandırdık.

Uygulanan tedavilerin hemen ardından alınan tükürük ve plaktaki MS ve LB seviyelerinin, tedavi öncesi döneme göre düştüğü, ancak belli bir süre sonra, özellikle MS seviyelerinin yeniden yükseldiği tespit edilmiştir (Wright ve ark., 1992; Gregory ve ark., 1998; Twetman ve ark., 1999; Morinushi ve ark., 2004). Çalışmamızda daha önceki çalışmaları destekleyecek şekilde, tüm deney gruplarında tedavi işlemlerinden sonra, hem tükürük hem de plak MS ve LB sayılarının başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düştüğü saptandı. Gregory ve ark., (1998) restoratif tedavinin MS seviyeleri üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında; dolgu işlemlerinin tamamlanmasından sonra olguların %50'sinde MS'nin azaldığını, %33,3'nde değişmediğini ve %16'sında da arttığını, restoratif tedavinin her zaman MS sayılarını azaltıcı etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Araştırıcılar MS sayısındaki farklılıkların diyet alışkanlıkları ve kişisel genetik faktörlerle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da deneklerimizden Sadece B₂ grubunda plak MS sayısının tedavilerin tamamlanmasından sonra değişim göstermediği izlendi.

Çalışmamızda 6 haftalık kefir tüketimi sonrasında tükürük ve plak LB sayıları tüm gruplarda, tedavi sonrası değerlere göre düşmüştür. Probiyotik bakterileri içeren ürünlerin kullanımının ağız içinde LB sayısını yükselttiğine dair bir görüş mevcuttur (Chuang ve ark., 2010). Montalto ve ark., (2004)'nın bu görüşü araştırdıkları çalışmalarında, probiyotiklerin ağız içi kullanımının tükürük LB sayısını istatistiksel olarak arttırdığı görülmüştür. Bir diğer çalışmada benzer şekilde probiyotik içeren peynir tüketiminin ardından tükürük LB sayısı artmıştır (Ahola ve ark., 2002). Çalışmamızda bu çalışmaların aksine tükürük ve plaktaki LB sayısı kefir tüketiminin ardından

artış göstermemiş; tam aksine düşmüştür. LB sayısında görülen bu düşüşün, kefirin mikrobiyolojik yapısıyla ilişkili olabileceği düşüncesindeyiz.

Kefir tüketimi sonrası plak MS sayılarında tüm gruplarda azalma gözlenirken, tükürük MS sayıları gruplar arasında farklılık göstermiştir. A₁ ve B₁ grubunda MS sayısının tedavi sonrası değerlere göre arttığı, A₂ ve B₂ grubunda saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda tükürük ve plaktaki MS seviyeleriyle ilgili farklı veriler gözlenmektedir. Bu çalışmaların bazılarında tükürük ve plaktaki MS seviyeleri, probiyotikli ürün kullanımını takiben azalma gösterirken (Nase ve ark., 2001; Petti ve ark., 2001; Nikawa ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2005b; 2006; 2007; 2008a; 2008b; Çıldır ve ark., 2009), bazılarında da MS miktarı açısından bir farklılık saptanmamıştır (Buscher ve ark., 1999; Ahola ve ark., 2002). Ahola ve ark., (2002)'nin yaptıkları kısa süreli probiyotik LGG suşunu içeren peynir tükettirdikleri çalışmada tükürük MS seviyeleri probiyotik grupta anlamlı derecede düşmüştür. Nikawa ve ark., (2004)'nin *L.reuteri* suşunu içeren probiyotik yoğurt ile yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Chuang ve ark., (2010)'nin yaptıkları çalışmada ise probiyotik suş içeren kısa süreli tablet tükettirilen grupta tükürük MS seviyeleri düşmesine rağmen bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir. Çalışmamızda daha önceki çalışmalara benzer şekilde, birçok probiyotik suş içeren kefir tüketiminin ardından tükürük MS miktarları, mayalanmış kefir tüketen gruplarda azalmıştır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Kefir tüketimi sonrası tükürük MS seviyelerindeki bu farklılıkların bireysel özelliklerden kaynaklı olabileceği, bu dönemde çocukların özellikle karyojenik diyetle beslenmelerinin bu sonuca neden olduğu düşünülmektedir. Kefir tüketiminin ardından plak MS değerlerinin azalması, tükürükteyse farklılıklar olması çalışmamızın sonuçları açısından pozitif etki göstermektedir. Özellikle tükürüğe oranla plağın çürük oluşumunda ve ilerlemesinde çok daha etkili olduğu düşünüldüğünde, kefirin plak içerisinde çürük önleyici veya durdurucu etki gösterdiği söylenebilir.

Çalışmamızda MS ve LB'lerin plak ve tükürük örneklerinin yapışma miktarları tedavilerin tamamlanmasının ardından düşmüştür. Bu düşüş plak örneklerinde istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Kefir tüketimi sonrası değerler, tedavi sonrası değerlerle karşılaştırıldığında plak MS yapışma miktarı A₁ grubunda, tükürük MS yapışma miktarı B₁ grubunda artmıştır. Diğer gruplarda plak ve tükürük MS yapışma miktarları düşmüştür. LB yapışma miktarları plak örneklerinde A₁ grubunda artmış, diğer gruplarda ve tükürükte düşmüştür. Kefir tüketimi sonrası görülen yapışma miktarlarındaki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Probiyotik bakterilerin ağız içi çürük ve benzeri hastalıklara karşı etki gösterebilmesi için mukoza ve diş yüzeylerine yapışarak biofilmin bir parçası olması ve dental patojenlerle bu yapışma için yarışması gerekmektedir (Comelli ve ark., 2002). MS ve LB miktarlarının plak ve tükürükte farklı oranda düşüş göstermesi, bu türlerin ağız içi yüzeylere yapışma yeteneklerinin birbirinden farklı olmasıyla açıklanmaktadır. MS açık yüzeylere kolayca yapışabilmekteyken (ki bu durum probiyotikler tarafından yarışmalı yapışmada değişebilmektedir); LB dişlerin birbiriyle temasta olduğu yüzeylere ve tükürük tarafından yıkanamayan tutucu alanlara yapışmaktadır (Çıldır ve ark., 2009).

Probiyotik bakteriler pepsin ve düşük pH'a maruz bırakıldıktan sonra, yapışma önemli ölçüde azalır. Türler eşit olarak en iyi nötral pH'da yapışır (Tuomola ve ark., 1999). Yetiştirme ortamı ve gıda matriksi, test edilen türlerin yapışma yeteneğini ve hayatta kalmasını önemli bir şekilde etkilemiştir (Tuomola ve ark., 1999). LB türlerinin yapışmasının konsantrasyona bağlı olduğu, ilave edilen farklı bakteri konsantrasyonlarının yapışmasının da farklı olduğu bulunmuştur (Ouweland ve ark., 1999). Bu nedenle çalışmamızda gruplar arasında fark bulunmuştur.

Sonuçlara bakıldığında mayalanmış kefir tüketen ve hazır kefir tüketen iki alt grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuç piyasada bulunan maya veya hazır kefir tüketiminin sonuçları değiştirmediyini göstermiştir. Önemli olan içilen kefirin türünden çok

kullanılan mayanın mikrobik topluluğudur (Turan ve İter, 2007; Güzel-Seydim ve ark., 2010).

Probiyotik tedaviler başarılı olduğu takdirde; probiyotikli ürünler çürüğün erken dönemlerinde uygulanan koruyucu tedavi programları içinde yer alabilir. Hem uygulanabilirlik, hem de topikal florür gibi bulması ve uygulaması zor olan ürünlere oranlara, kolay elde edilebilirliği ve daha ekonomik olması sebebiyle mevcut koruyucu yöntemlere alternatif olabilir.

Bununla birlikte, plak ve probiyotikler arasında kontakt zamanı kısa olduğundan, aktiviteleri zayıf bulunmuş ve ancak probiyotikler oral çevrede uzun süre tutulabilirse aktivitelerin devamlı olabileceği bildirilmiştir (Çağlar ve ark., 2006). Yapılan ağız içi çalışmaların sonuçlarına (Montalto ve ark., 2004; Çağlar ve ark., 2006; 2007; 2008a; 2009; Tsubura ve ark., 2009; Twetman ve ark., 2009; Chuang ve ark., 2010) göre probiyotik bakterilerin en etkin türlerinden bir veya daha fazlasının gargara, macun sakız vb. gibi sık kullanılan araçlara eklenmesi söz konusu olabilir.

Yoğurt, süt, peynir gibi süt içerikli ürünler probiyotik bakteri taşımada uygun araçlar olarak görünse de, ideal probiyotik taşıyıcı araç henüz bulunamamıştır (Meurman ve Stamatova, 2007). Bu koşullar göz önüne alındığında, kefir doğal probiyotik özelliği sayesinde taşıyıcı araç olarak avantajlı bir konuma geçebilir. Ancak kefirin sahip olduğu ekşi tadı, özellikle erken yaş grubu çocuklarda damak zevkinin farklılığı açısından tüketim safhasında sorun yaratabilir.

Çalışmamızın sonuçlarına genel olarak baktığımızda, daha önce tedavi görmüş-görmemiş çocuklar arasında ve kullanılan kefir tipine göre bakıldığında gruplar arasında önemli farklılıklar gözlenmedi. Kefir uygulamasından sonra plak ve tükürükteki MS ve LB sayılarının genellikle düştüğü gözlemlendi. Ancak bu etkinin daha iyi gözlenebilmesi için detaylı

mikrobiyolojik (genetik ağırlıklı) çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Daha önce restoratif tedavileri yapılmış; ancak yeni çürükleri oluşmuş çocuklarla, daha önce tedavi görmemiş çocukların başlangıç tükürük ve plak MS ve LB sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$),

2- Tüm gruplarda tedavilerin tamamlanmasından sonra hem tükürük hem de plakta MS ve Lb sayılarının istatistiksel olarak anlamlı oranda düştüğü ($p<0,05$),

3- Kefir tüketimi sonrası elde edilen değerler başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında, tükürük ve plakta saptanan MS ve LB sayılarının istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu ($p<0,05$),

4- Kefir tüketimi sonrası tükürük ve plak MS ve LB değerlerinin tedavi sonrası değerlerle kıyaslandığında, başlangıca göre düşmüş olan mikroorganizma sayılarının sadece tükürükte iki grupta arttığı, diğer gruplarda azaldığı; ancak bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$),

5- MS ve LB'lerin biofilme yapışmalarının değerlendirilmesinde tedavi sonrası yapışma miktarlarının başlangıca göre plakta anlamlı ($p<0,05$), tükürükte ise anlamlı olmayan düzeyde düştüğü ($p>0,05$),

6- Kefir tüketimi sonrası tükürükteki yapışma miktarlarının düştüğü, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), plakta ise MS'nin yapışma miktarının yükseldiği, LB' nin ise azaldığı ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır.

Buna göre; çalışmamızda çocuklarda kefir tüketiminin kısa süreli uygulamalarda bile ağız içindeki patojen bakteriler üzerinde baskılayıcı ve engelleyici etkisi olduğunu gözlediğimizden, günlük düzenli kefir tüketiminin çocukların hem genel sağlığı hem de diş sağlığı için yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

ÖZET

Çocuklarda Probiyotikli Ürünlerin Oral Floraya ve Diş çürüğü Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Genel sağlık açısından önemli rolleri olduğu bilinen probiyotiklerin, ağız içindeki mikroorganizmalar üzerine etkileri son yıllarda güncellik kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı, doğal bir probiyotik içecek olan kefirin, çürük aktif çocuklarda tükürük ve plaktaki *S. mutans*, laktobasil sayısına ve bu bakterilerin biyofilme yapışması üzerine etkisinin değerlendirilmesidir.

Yaşları 5-8 arasında değişen 24 adet gönüllü çocuk hasta, rastgele 4 gruba ayrılarak 6 hafta süresince kefir kullandı: grup A, çürük aktif olup daha önce diş tedavisi görmemiş (n=8), grup B, çürük aktif olup dental tedavileri çalışma öncesinde tamamlanmış (n=8), pozitif kontrol (n=4) (dfs≥8), negatif kontrol (n=4) (dfs=0). Grup A ve B kendi içinde kullanılacak kefir tipine göre (ticari kefir, mayalanmış kefir) iki alt gruba ayrıldı (A₁, A₂, B₁ ve B₂). Çalışmanın her aşamasında tükürük ve plaktaki MS ve LB sayıları, dip slide yöntemi kullanılarak, yapışma miktarları da modifiye mikrotitre plak test (slime testi) kullanılarak ölçüldü. MS ve LB sayılarını belirlemek için her hastadan çalışmanın başında, tedaviler tamamlandıktan ve 6 hafta kefir içtikten sonra tükürük ve plak örnekleri alındı. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesinde, elde edilen verilerde gruplar arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis H testi, grup içi karşılaştırmalarda ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı.

Sonuç olarak, tedavilerin tamamlanmasının ardından plak ve tükürükte, MS ve LB sayılarında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı (p<0,05). Kefir tüketimi sonrası elde edilen değerler başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında, tükürük ve plakta saptanan MS ve LB sayılarının istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu (p<0,05), tedavi sonrası değerlerle kıyaslandığındaysa, başlangıca göre düşmüş olan mikroorganizma sayılarının sadece tükürükte iki grupta arttığı, diğer

gruplarda azaldığı; ancak bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) tespit edildi. MS ve LB'lerin biofilme yapışmalarının değerlendirilmesinde tedavi sonrası yapışma miktarlarının başlangıca göre plakta anlamlı ($p<0,05$), tükürükte ise anlamlı olmayan düzeyde düştüğü ($p>0,05$), kefir tüketimi sonrası tükürükteki yapışma miktarlarının düştüğü, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), plakta ise MS'nin yapışma miktarının yükseldiği, LB' nin ise azaldığı ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) saptandı.

İlerleyen dönemlerde daha uzun süreli ve daha geniş gruplarda probiyotik bakterilerin karyojenik mikroorganizmalar üzerine etkileriyle ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Probiyotik, kefir, diş çürüğü, oral flora, *S. mutans*, Lactobasil.

SUMMARY

Evaluation of The Effect of Probiotics on Oral Microflora and Dental Caries in Children

Over the years, several studies have underlined the effects of probiotics on cariogenic bacteria in mouth as they have important roles among general health. The aim of our study was to evaluate the changes in the salivary and plaque counts of bacterias and plaque grade of slime in caries active children with the oral administration of kefir, a probiotic containing various strains of LB spp, compared with kefir free supplements.

24 volunteer children between 5-8 years of age were randomly divided into 4 groups to drink kefir for 6 weeks: Group A, caries active children without any treatment (n= 8), group B, caries active children whose dental treatment had finished before the experiments (n=8), positive control (dfs $\geq$ 8) (n=4), and negative control (dfs=0) (n=4). Group A and B were divided into two subgroups (A₁,A₂, B₁ and B₂) according to the kefir types (commercial kefir and fermented kefir).The salivary and plaque counts of MS and LB spp were measured by using dip-sliide method. The salivary and plaque MS and LB spp grade of slime were measured by modified microtitre plate test. To assess the MS and LB counts, saliva and plaque samples were taken from all subjects at the beginning of the study, after dental treatment and after drinking kefir. The results were statistically analyzed with Kruskall- Wallis H test for comparisons between the groups and Wilcoxon test for comparisons within the groups.

After the dental treatments, salivary and plaque counts of MS and LB spp were decreased significantly ($p<0,05$). The results taken after drinking kefir compared with the beginning values, salivary and plaque counts of MS and LB were decreased significantly ($p<0,05$), these results when compared with the results of after dental treatments, only two groups in the salivary levels

were increased, other salivary and plaque levels decreased but these results are not statistically significant ($p>0,05$). After dental treatments, the saliva and plaque grade of slime values were decreased significantly on plaque ($p<0,05$), but not significantly on saliva ($p>0,05$). At the end of drinking kefir, when the results as compared with the beginning values, salivary grade of slime values were decreased in all groups but not significantly ($p>0,05$), as for MS values of plaque were increased not significantly ($p>0,05$), but LB values of plaque were decreased not significantly ($p>0,05$).

In future, long term and large groups study design is needed to evaluate the effects of the probiotics on the effect of the cariogenic bacteria.

Key Words: Probiotic, kefir, dental decay, oral flora, *S. mutans*, *Lactobacillus*.

KAYNAKLAR

- ADAIR, M.S. Epidemiology and mechanisms of dental disease in children. In: Pinkham, J.R. (1988). *Pediatric Dentistry Infancy Through Adolescence*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter2: 9-14.
- ADAIR, S.M., XIE, Q. (2009). Antibacterial and probiotic approaches to caries management. *Adv. Dent. Res.*, **21**: 87-89.
- AHOLA, A.J., YLI-KNUUTTILA, H., SUOMALAINEN, T., POUSSA, T., AHLSTROM, A., MEURMAN, J.H., KORPELA, R. (2002). Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch. Oral Biol.*, **47**: 799-804.
- ALLAKER, R.P., DOUGLAS, C.W. (2009). Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int. J. Antimic. Agents*, **33**: 8-13.
- AMERONGEN, A.V., VEERMAN, F.C. (2002). Saliva the defender of the oral cavity. *Oral Dis.*, **8**: 12-22.
- ANDERSON, M.H., BALES, D.J., OMNELL, K.A. (1993). Modern management of dental caries: the cutting edge is not the dental bur. *J. Am. Dent. Assoc.*, **124**: 36-44.
- ANGULO, L., LOPEZ, E., LEMA, C. (1993). Microflora present in kefir grains of the Galician region (north-west of Spain). *J. Dairy Res.*, **60**: 263-267.
- ANTOINE, J.M. (2010). Probiotics: beneficial factors of the defence system. *Proc. Nutr. Soc.*, **69**: 429-433.
- ARUNACHALAM, K., GILL, H.S., CHANDRA, R.K. (2000). Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Eur. J. Clin. Nutr.*, **54**: 263-267.
- ASHLEY, F.P. (1975). Effects of single exposure to sugar on calcium and phosphorus concentrations of dental plaque. *J. Dent. Res.*, **54**: 1015-1018.
- ASHLEY, F.P., WILSON, R.F. (1977). Dental plaque and caries. A 3-year longitudinal study in children. *Br. Dent. J.*, **142**: 85-91.
- ASSADI, M.M., ABDOLMALEKI, F., MOKARRAME, R.R. (2008). Application of whey in fermented beverage production using kefir starter culture. *Nutrition & Food Sci.*, **38**: 121-127.
- ALALUUSUA, S., MATTO, J., GONROOS, L., INNILA, S., TORKKO, H., ASIKAINEN, S., JOUSIMIES-SOMER H, SAARELA, M. (1996). Oral colonization by more than one clonal type of mutans streptococcus in children with nursing-bottle dental caries. *Arch. Oral Biol.*, **41**: 167-173.

- ATAIE-JAFARI, A., LARIJANI, B., ALAVI MAJD, H., TAHBAZ, F. (2009). Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects. *Ann. Nutr. Metab.*, **54**: 22-27.
- ATAOGLU, T., GÜRSEL, M. (1997). Dişler Üzerindeki Eklentiler. *Periodontoloji. Damla Ofset*, 25-30.
- BAEHNI, P.C., TAEKEUCHI, Y. (2003). Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis.* **1**: S23-S29.
- BANAS, J.A., VICKERMAN, M.M. (2003). Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, **14**: 89-99.
- BAYRAK, Ş.Ö. (2006). Çocuklarda dental plağın biyokimyasal kompozisyonunun diş çürüğü ile ilişkisinin değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Ens. Pedodonti Anabilim Dalı. Doktora tezi. Ankara.*
- BELTZER, E.K., FORTUNATO, C.K., GUADERRAMA, M.M., PECKINS, M.K., GARRAMONE, B.M., GRANGER, D.A. (2010). Salivary flow and alpha-amylase: Collection technique, duration, and oral fluid type. *Physiol. Behav.*, Jun 1. (Epub).
- BENGMARK, S., (2000). Colonic food: pre- and probiotics. *Am. J. Gastroenterol.* **95**: S5-S7.
- BENGMARK, S. (2001). Pre-, pro- and synbiotics. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **4**: 571-579.
- BEYAR, İ. (2003). Anneden bebeğe aktarılan çürük oluşturuıcı bakterilerin bebeğin ağız sağlığına etkileri. *G.Ü. Dişhek. Fak. Derg.*, **20**: 57-63.
- BOLGÜL, B.S., ÇELENK, S., AYNA B.E., ATAKUL, F. (2004). Associations of dental caries with salivary Mutans Streptococci/Lactobacilli and plaque pH in 7-9 years old children in rural of Diyarbakır-Turkey. *Türkiye Klin. J. Dental Sci.*, **10**: 69-73.
- BONIFAIT, L., CHANDAD, F., GRENIER, D. (2009). Probiotics for oral health: myth or reality? *J. Can. Dent. Assoc.*, **75**: 585-590.
- BORODY, T.J., WARREN, E.F., LEIS, S., SURACE, R., ASHMAN, O. (2003). Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J. Clin. Gastroenterol.*, **37**:42-47.
- BOTTAZZI, V., BIANCHI, F. (1980). A Note on Scanning Electron Microscopy of Micro-organisms associated with the Kefir Granule. *J. Appl. Bacteriol.*, **48**: 265-268.
- BOWDEN, G., EDWARDSSON, S. (1994). Oral ecology and dental caries. in Thylstrup A., Fejerskov O. Textbook of Clinical Cariology, Munksgaard, Copenhagen, Third Edition. Chapter **3**: 51-69.

- BOWDEN, G.H., LI, Y.H. (1997). Nutritional influences on biofilm development. *Adv. Dent. Res.*, **11**: 81-99.
- BOWEN, W.H., PEARSON, S.K. (1993). Effect of milk on cariogenesis. *Caries Res.*, **27**: 461-466.
- BRADSHAW, D.J., MARSH, P.D. (1998). Analysis of pH driven disruption of oral microbial communities *in vitro*. *Car. Res.*, **32**: 456-462.
- BRAILSFORD, S.R., SHEEHY, E.C., GILBERT, S.C., CLARK, D.T., KIDD, E.A., ZOITOPOULOS, L., ADAMS, S.E., VISSER, J.M., BEIGHTON, D. (2005). The microflora of the erupting first permanent molar. *Car. Res.*, **39**: 78-84.
- BRAMBILLA, E., GARCIA-GODOY, F., STROHMENGER, L. (2000). Principles of diagnosis and treatment of high-caries-risk subjects. *Dent. Clin. North Am.*, **44**: 507-540.
- BROUSSARD, E.K., SURAWICZ, C.M. (2004). Probiotics and prebiotics in clinical practice. *Nutr. Clin. Care.*, **7**: 104-113.
- BURT, B.A. (2006). The use of sorbitol- and xylitol-sweetened chewing gum in caries control. *J. Am. Dent. Assoc.*, **137**: 190-196.
- BUSSCHER, H.J., MULDER, A.F., van der MEI, H.C. (1999). "In vitro adhesion to enamel and *in vivo* colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt" *Car. Res.*, **33**: 403-404.
- CABANA, M.D., SHANE, A.L., CHAO, C., OLIVA-HEMKER, M. (2006). Probiotics in primary care pediatrics. *Clin. Pediatr.*, **45**: 405-410.
- CAMERON, L. (2008). Centuries old cultured milk beverage from Russia. <http://wewantorganicfood.com/2008/03/06/kefir-history-information-and-a-kefir-recipe/>. Ulaşım: 28.07.2010
- CAMPUS, G., CAGETTI, M.G., SACCO, G., SOLINAS, G., MASTROBERARDINO, S., LINGSTROM, P. (2009). Six months of daily high-dose xylitol in high-risk schoolchildren: a randomized clinical trial on plaque pH and salivary mutans streptococci. *Car. Res.*, **43**: 455-461.
- CAUFIELD, P.W., CUTTER, G.R., DASANAYAKE, A.P. (1993). "Initial acquisition of *mutans streptococci* by infants: evidence for a discrete window of infectivity". *J. Dent. Res.*, **72**: 37-45.
- CHANDLER N. (1992). Sorbitol--safe for teeth. *N. Z. Dent J.*, **88**: 66.
- CHUANG, L.C., HUANG, C.S., OU-YANG, L.W., LIN, S.Y. (2010). Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clin. Oral Investig.*, May 26. (Epub).
- CHUNG, J., HA, E.S., PARK, H.R., KIM, S. (2004). Isolation and characterization of *Lactobacillus* species inhibiting the formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *Oral Mic. Immunol.*, **19**: 214-216.

- COMELLI, E.M., GUGGENHEIM, B., STINGELE, F., NEESER, J.R. (2002). "Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health". *Eur. J. Oral Sci.*, **110**: 218-224.
- COŞKUN, T. (2006). Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağ. ve Hast. Derg.*, **49**: 128-148.
- COYKENDALL, A.L. (1977). Proposal to elevate the subspecies of *Streptococcus mutans* to species status, based on their molecular composition. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **27**: 26-30.
- CREMONINI, F., DI CARO, S., NISTA, E.C., BARTOLOZZI, F., CAPELLI, G., GASBARRINI, G., GASBARRINI, A. (2002). Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment. Pharmacol. Ther. Aug.*, **16**: 1461-1467.
- CURY, J.A. REBELO, M.A.B., DEL BEL CURY, A. A., DERBYSHIRE M.T.V.C., TABCHORY, C.P.M. (2000). Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Car. Res.*, **34**: 491-497.
- ÇAĞLAR, E., KARGUL, B., TANBOĞA, I. (2005a). Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis.*, **11**: 131-137.
- ÇAĞLAR, E., SANDALLI, N., TWETMAN, S., KAVALOĞLU, S., ERGENELİ, S., SELVİ, S. (2005b). "Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173 010 on salivary *mutans streptococci* and *lactobacilli* in young adults" *Acta Odontol. Scand.*, **63**: 317-320.
- ÇAĞLAR, E., ÇILDIR, S.K., ERGENELİ, S., SANDALLI, N., TWETMAN, S. (2006). "Salivary *mutans streptococci* and *lactobacilli* levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets". *Acta Odontol. Scand.*, **64**: 314-318.
- ÇAĞLAR, E., KAVALOĞLU, S.C., KUŞÇU, O.O., SANDALLI, N., HOLGERSON, P.L., TWETMAN, S. (2007). Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary *mutans streptococci* and *lactobacilli*. *Clin. Oral Investig.*, **11**: 425-429.
- ÇAĞLAR, E., KUŞÇU, Ö.Ö., ÇILDIR, Ş.K., KUVVETLİ, S.S., SANDALLI, N. (2008a). A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary *mutans streptococci* and *lactobacilli*. *Int. J. Paediatr. Dent.*, **18**: 35-39.
- ÇAĞLAR, E., KUŞÇU, O.O., KUVVETLİ, S.S., ÇILDIR, S.K., SANDALLI, N., TWETMAN, S. (2008b). Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary *mutans streptococci* and *lactobacilli*. *Acta Odontol. Scand.*, **66**: 154-158.
- ÇAĞLAR, E., TOPÇUOĞLU, N., ÇILDIR, S.K., SANDALLI, N., KÜLEKÇİ, G. (2009). Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int. J. Paediatr. Dent.*, **19**: 377-381.

- ÇEVİKBAŞ, A., YEMNI, E., EZZEDEN, F.W., YARDIMCI, T. (1994). Antitumoural, antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytother. Res.*, **8**: 78-82.
- ÇILDIR, S.K., GERMEÇ, D., SANDALLI, N., ÖZDEMİR, F.I., ARUN, T., TWETMAN, S., ÇAĞLAR, E. (2009). *Reduction of salivary mutans streptococci* in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *Eur. J. Orthod.*, **31**: 407-411.
- DESHPANDE, A., JADAD, A.R. (2008). The impact of polyol-containing chewing gums on dental caries: a systematic review of original randomized controlled trials and observational studies. *J. Am. Dent. Assoc.*, **139**: 1602-1614.
- DE VRESE, M., MARTEAU, P.R. (2007). Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. *J. Nutr.*, **137**: 803S-811S.
- DORON, S., SNYDMAN, D.R., GORBACH, S.L. (2005). *Lactobacillus* GG: bacteriology and clinical applications. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **34**: 483-498.
- EDGAR, W.M. (1998). Sugar substitutes, chewing gum and dental caries--a review. *Br. Dent. J.*, **184**: 29-32.
- ELAHI, S., PANG, G., AHSAM, R., CLANCY, R. (2005). "Enhanced clearance of *Candida albicans* from the oral cavities of mice following oral administration of *Lactobacillus acidophilus*". *Clin. Exp. Immunol.*, **141**: 29-36.
- ELMADFA, I., KLEIN, P., MEYER, A.L. (2010). Immune-stimulating effects of lactic acid bacteria in vivo and in vitro. *Proc. Nutr. Soc.*, **69**: 416-420.
- ELMER, G.W., SURAWICZ, C.M., MCFARLAND, L.V. (1996). Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA*, **275**: 870-876.
- ERSİN, N.K., UZEL, A., AYKUT, A., CANDAN, U., ERONAT, C. (2006). Inhibition of cultivable bacteria by chlorhexidine treatment of dentin lesions treated with the ART technique. *Car. Res.*, **40**: 172-177.
- ERTEN, Ö. (2005). Diş çürüklerine karşı probiyotiklerin kullanılma olanakları. *Süleyman Demirel Üniversitesi. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi*.
- FEATHERSTONE, J. (2000). The science and practice of caries prevention. *J. Am. Dent. Assoc.*, **131**: 887-899.
- FIGLER, M., MOZSIK, G., SCHAFFER, B., GASZTONYI, B., ACS, P., SZILI, B., RAB, R., SZAKALY, S. (2006). Effect of special Hungarian probiotic kefir on faecal microflora. *World. J. Gastroenterol.*, **12**: 1129-1132.
- FLOCH, M.H., MONTROSE, D.C. (2005). Use of probiotics in humans: an analysis of the literature. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **34**: 547-570.

- FONTAN, M.C.G., MARTINEZ, S., FRANCO, I., CARBALLO, J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *Int. Dairy J.*, **16**: 762-767.
- FREE, R.H., BUSSCHER, H.J., ELVING, G.J., VAN DER MEI, H.C., VAN WEISSENBRUCH, R., ALBERS, F.W. (2001). Biofilm formation on voice prostheses: in vitro influence of probiotics. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, **110**: 946-951.
- FUJISAWA, T., BENNO, Y., YAESHIMA, T., TOMOTARI, M. (1992). Taxonomic study of the *Lactobacillus acidophilus* group, with recognition of *Lactobacillus gallinarum* sp. nov. and *Lactobacillus johnsonii* sp. nov. and synonymy of *Lactobacillus acidophilus* group a3 with the type strain of *Lactobacillus amylovorus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **42**: 487-491.
- GALES, M.A., NGUYEN, T.M. (2000). Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries. *Ann. Pharmacother.*, **34**: 98-100.
- GARCIA-GODOY, F., HICKS, M.J. (2008). Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J. Am. Dent. Assoc.*, **139**: 25S-34S.
- GAO, X.J., FAN, Y., KENT, R.L. Jr., VAN HOUTE, J., MARGOLIS, H.C. (2001). Association of caries activity with the composition of dental plaque fluid. *J. Dent. Res.*, **80**: 1834-1839.
- GIBBONS, R.J., COHEN, L., HAY, D.I. (1986). Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. *Infect. Immun.*, **52**: 555-561.
- GIBSON, G.R. (1998). Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Br. J. Nutr.*, **80**: 209-212.
- GIBSON, G.R. (2004). Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clin. Nutr.*, **1**: S25-S31.
- GIBSON, GR, ROBERFROID, MB. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, **125**: 1401-1412.
- GIONCHETTI, P., LAMMERS K.M., RIZZELLO, F., CAMPIERI, M. (2005). VSL#3: an analysis of basic and clinical contributions in probiotic therapeutics. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **34**: 499-513.
- GLUCK, U., GEBBERS, J.O. (2003). Ingested probiotics reduce nasal colonization with pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, and beta-hemolytic streptococci). *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**: 517-520.
- GOLD, O.G., JORDAN, H.V., VAN, HOUTE, J. (1973). A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.*, **18**: 1357-1364.
- GOLLEDGE, C.L., RILEY, TV (1996). "Natural" therapy for infectious diseases. *Med J Aust.*, **164**: 94-95.

- GORBACH, S.L. (2002). Probiotics in the third millennium. *Dig. Liver Dis.*, **34**: S2-S7.
- GÖNÜLATEŞ, N. (2008). Kefirin insanlar üzerindeki immünomodülatör etkilerinin araştırılması. *S.D.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Isparta, Türkiye. Tez çalışması.*
- GREGORY, R.L., EL-RAHMAN, A.M., AVERY, D.R. (1998). Effect of restorative treatment on mutans streptococci and IgA antibodies. *Pediatr.Dent.*, **20**: 273-277.
- GROBLER, S.R., REDDY, J., VAN WYK, C.W. (1982). Calcium, phosphorus, fluoride, and pH levels of human dental plaque from areas of varying fluoride levels. *J. Dent. Res.*, **61**: 986-988.
- GRON, P., YAO, K., SPINELLI, M. (1969). A study of inorganic constituents in dental plaque. *J. Dent. Res.*, **48**: 799-805.
- GUARNER, F., MALAGELADA, J-R. (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet.*, **360**: 512-519.
- GUARNER, F., PERDIGON, G., CORTIER, G., SALMINEN, S., KOLETZKO, B., MORELLI, L. (2005). Should yoghurt cultures be considered probiotic? *Br. J. Nutr.*, **93**: 783-786.
- GUIGOZ, Y., ROCHAT, F., PERRUISSEAU-CARRIER, G. ve ark (2002). Effects of oligosaccharide on the faecal flora and non-specific immune system in elderly people. *Nutr. Res.*, **22**: 12-25.
- GUZEL-SEYDİM, Z.B., SEYDİM, A.C., GREENE, A.K., BODINE, A.B. (2000). Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *J. Food Comp. Anal.*, **13**: 35-43.
- GUZEL-SEYDİM, Z., WYFFELS, J.T., SEYDİM, A.C., GREENE, A.K. (2005). Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscopic observation. *Int. J. Dairy Technol.*, **58**: 25-29.
- GÜZEL-SEYDİM, Z., KÖK-TAŞ, T., GREENE, A.K. (2010). Kefir and Koumiss: Microbiology and Technology. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. Yıldız, F. CRC Press, Taylor and Francis Group. **5**: 143-163.
- HALE, K.J. (2003). American Academy of Pediatrics Section on Pediatric Dentistry. Oral health risk assessment timing and establishment of the dental home. *Pediatrics.*, **111**: 1113-1116.
- HAMADA, S., SLADE, H.D.(1980). Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Rev.*, **44**: 331-384.
- HARPER, D.S., OSBORN, J.C., HEFFERREN, J.J., CLAYTON, R. (1986). Cariostatic evaluation of cheeses with diverse physical and compositional characteristics. *Car. Res.*, **20**: 123-130.

- HATAKKA, K., SAVILAHTI, E., PÖNKA, A., MEURMAN, J.H., POUSSA, T., NASE, L., SAXELIN, M., KORPELA, R. (2001). "Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial" *BMJ.*, **322**: 1-5.
- HATAKKA, K., AHOLA, A.J., YLI-KNUUTTILA, H., RICHARDSON, M., POUSSA, T., MEURMAN, J.H., KORPELA, R. (2007). "Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly--a randomized controlled trial" *J. Dent. Res.*, **86**: 125-130.
- HAUKIOJA, A., YLI-KNUUTTILA, H., LOIMARANTA, V., KARI, K., OUWEHAND, A.C., MEURMAN, J.H., TENOVUO, J. (2006). Oral adhesion and survival of probiotic and other *lactobacilli* and *bifidobacteria in vitro*. *Oral Microbiol. Immunol.*, **21**: 326-332.
- HAUKIOJA, A., LOIMARANTA, V., TENOVUO, J. (2008). Probiotic bacteria affected the composition salivary pellicle and streptococcal adhesion *in vitro*. *Oral Microbiol. Immunol.*, **23**: 336-343.
- HICKS, J., GARCIA-GODOY, F., FALITZ, C. (2003). Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J. Clin. Ped. Dent.*, **28**: 47-52.
- HICKS, J., GARCIA-GODOY, F., FLAITZ, C. (2004). Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J. Clin. Pediatr. Dent.*, **28**: 203-214.
- HIGASHIKAWA, F., NODA, M., AWAYA, T., NOMURA, K., OKU, H., SUGIYAMA, M. (2010). Improvement of constipation and liver function by plant-derived lactic acid bacteria: a double-blind, randomized trial. *Nutrition.*, **26**: 367-374.
- HILL, H.S., GUARNER, F. (2004). Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad. Med. J.*, **80**: 516-526.
- HILTON, E., ISENBERG, H.D., ALPERSTEIN, P., FRANCE, K., BORENSTEIN, M.T. (1992). Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann. Intern. Med.*, **116**: 353-357.
- HOJO, K., TAKETOMO, N., OHSHIMA, T., MAEDA, N. (2003). Lactobacillus species isolated from the mouths of healthy subjects. 81st General Session of the International Association for Dental Research, Svenska.
- HUMPREY S.P., WILLIAMSON, R.T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow and function. *J. Prosthet. Dent.*, **85**: 162-169.
- ISOLAURI, E., ARVOLA, T., SUTAS, Y., MOILANEN, E., SALMINEN S. (2000). Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin. Exp. Allergy.*, **30**: 1604-1610.
- ISOLAURI, E. (2004). The role of probiotics in paediatrics. *Curr. Pediatr.*, **14**: 104-109.

- ISOLAURI, E., SALMINEN, S., OUWEHAND, A.C. (2004). Probiotics. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **18**: 299-313.
- JEEVARATHAN, J., DEEPTI, A., MUTHU, M.S., RATHNA-PRABHU, V., CHAMUNDEESWARI, G.S. (2007). Effect of fluoride varnish on Streptococcus mutans counts in plaque of caries-free children using Dentocult SM strip mutans test: a randomized controlled triple blind study. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.*, **25**: 157-163.
- JENKINS, G.N., HARGREAVES, J. A. (1989). Effect of eating cheese on ca and p concentrations of whole mouth saliva and plaque. *Car. Res.*, **23**: 159-164.
- JUNTUNEN, M, KIRJAVAINEN, P.V., OUWEHAND, A.C., SALMINEN, S.J., ISOLAURI, E. (2001). Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **8**: 293-296.
- KAGIHARA, L.E., NIEDERHAUSER, V.P., STARK, M. (2009). Assessment, management, and prevention of early childhood caries. *J. Am. Acad. Nurse Pract.*, **21**: 1-10.
- KALLIOMAKI, M., KIRJAVAINEN, P., EEROLA, E., KERO, P., SALMINEN S., ISOLAURI E. (2001a). Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **107**: 129-134.
- KALLIOMAKI, M., SALMINEN, S., ARVILOMMI, H., KERO, P., KOSKINEN, P., ISOLAURI, E. (2001b). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.*, **357**: 1076-1079.
- KARAGÖZLÜ, C. (1990). Farklı ısı işlem görmüş inek sütlerinden kefir kültürü ve tanesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerine araştırmalar. *E.Ü. Fen Bilimleri Ens. Süt Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi*.
- KARAGÖZLÜ, C., KAVAS, G. (2000). Alkollü fermente süt içecekleri: Kefir ve kırmızın özellikleri ve insan beslenmesindeki önemi. *Dünya Gıda*, **6**: 86-93.
- KARAGÖZLÜ, C. (2003). Kefir – Probiotic Fermented Milk Product. 50 th Anniversary of The University of Food Technology HIFFI 15 – 17 Oct. 2003 Plovdiv – Bulgaria. Collection of Scientific Works of the HIFFI Plovdiv, **50**: 404-409 – ISSN 0477-0250 UFTA Academic Publising House, Plovdiv – Bulgaria.
- KARGUL, B., CAGLAR, E., TANBOGA, I. (2003) History of water fluoridation. *J Clin. Pediatr. Dent. Spring.*, **27**: 213-217.
- KATO, K., NAKAGAKI, H., TAKAMI, Y., TSUGE, S., ANDO, S., ROBINSON, C. (1997). A method for determining the distribution of fluoride, calcium and phosphorus in human dental plaque and the effect of a single *in vivo* fluoride rinse. *Arch. Oral Biol.*, **42**: 521-525.
- KIDD, E.A.M., RICKETTS, D.N., BEIGHTON, D. (1996). Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *Br. Dent. J.*, **180**: 287-291.

- KILIÇ, S., USAL, H., KAVAS, G., KESEMKAS, H. (1999). Chemical, microbiological, and Sensory Changes in rippening kefir. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, **36**: 111-118.
- KOÇKAR, M.T. (2009). Kefir (Gıpi).
<http://www.hekimce.com/index.php?kiid=2996>. Ulaşım: 28.07.2010
- KOPP-HOOLIHAN, L. (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *J. Am. Diet. Assoc.*, **101**: 229-238.
- KORAY, F. (1981). Diş Çürükleri. Altın Matbaacılık. 7-34.
- KOROLEVA, N.S. (1988). Technology of kefir and kumys. *IDF Bull.* **227**: 96-100.
- KOO, H., JEON, J.G. (2009). Naturally occurring molecules as alternative therapeutic agents against cariogenic biofilms. *Adv. Dent. Res.*, **21**: 63-68.
- KUMADA, M., MOTEGI, M., NAKAO, R., YONEZAWA, H., YAMAMURA, H., TAGAMI, J., SENPUKU, H. (2009). Inhibiting effects of *Enterococcus faecium* non-biofilm strain on *Streptococcus mutans* biofilm formation. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **42**: 188-196.
- KUO, C.Y., LIN, C.W. (1999). Taiwanese kefir grains : their growth, microbial and chemical composition of fermented milk. *Austr. Soc. Dairy Tech.*, **54**: 19-23.
- LAGERLOF, F., OLIVEBY, A. (1994). Caries-protective factors in saliva. *Adv. Dent. Res.*, **8**: 229-238.
- LA RIVIERE, J.W., KOOIMAN, P. (1967). Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Arch. Microbiol.*, **59**: 269-278.
- LAW, V., SEOW, W.K., TOWNSEND, G. (2007). Factors influencing oral colonization of *mutans streptococci* in young children. *Aust. Dent. J.*, **52**: 93-100.
- LEE, Y.J., SCOFIELD, R.H., HYON, J.Y., YUN, P.Y., LEE, H.J., LEE, E.Y., LEE, E.B., SONG, Y.W. (2010). Salivary chemokine levels in patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. Jun 4. Epub
- LENANDER-LUMIKARI, M., LOIMARANTA, V. (2000). Saliva and dental caries. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, **11**: 366-380.
- LIMA, L.M., MOTISUKI, C., SPOLIDORIO, D.M., SANTOS-PINTO, L. (2005). In vitro evaluation of probiotics microorganisms adhesion to an artificial caries model. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **59**: 884-886.
- LINGSTROM, P., VAN RUYVEN, F.O., VAN HOUTE, J., KENT, R. (2000). The pH of dental plaque in its relation to early enamel caries and dental plaque flora in humans. *J. Dent. Res.*, **79**: 770-777.
- LOESCHE, W.J. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol. Rev.*, **50**: 353-380. LB ye kaynak yazmışım bak

- LOPITZ-OTSOA, F., REMENTERIA, A., ELGUEZABAL, N., GARAIZAR, J. (2006). Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev. Iberoam. Micol.*, **23**: 67-74.
- MAKELAINEN, H., TAHVONEN, R., SALMINEN, S., OUWEHAND, A.C. (2003). *In vivo* safety assessment of two Bifidobacterium longum strains. *Microbiol. Immunol.*, **47**: 911-914.
- MAKINEN, K.K. (2010). Sugar alcohols, caries incidence, and remineralization of caries lesions: a literature review. *Int. J. Dent.*, 981072. *Epub*.
- MALTZ, M., DE OLIVEIRA, E.F., FONTANELLA, V., BIANCHI, R. (2002). A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quint. Int.*, **33**: 151-159.
- MANDEL, I.D. (1974). Relation of saliva and plaque to caries. *J. Dent. Res.*, **53**: 246-266.
- MARCOS, A., WARNBERG, J., NOVA, E., GOMEZ, S., ALVAREZ, A., MATEOS, J.A., COBO, J.B. (2004). The effect of milk fermented by yoghurt cultures plus Lactobacillus casei DN-114001 on the immun response of subjects under academic examination stress. *Eur. J. Nutr.*, **43**: 381-389.
- MARCOTTE, H., LAVOIE, M.C. (1998). Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **62**: 71-109.
- MARGOLIS, H.C., DUCKWORTH, J.H., MORENO, E.C. (1988). Composition and buffer capacity of pooled starved plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. *J. Dent. Res.*, **67**: 1476-1482.
- MARGOLIS, H.C., MORENO, E.C. (1992). Composition of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals following sucrose exposure. *J. Dent. Res.*, **71**: 1776-1784.
- MARGOLIS, H.C., ZHANG, Y.P., VAN HOUTE, J, MORENO, E.C. (1993). Effect of sucrose concentration on the cariogenic potential of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals. *Car. Res.*, **27**: 467-473.
- MARKOWITZ, J.E., BENGMARK, S. (2002). Probiotics in health and disease in the pediatric patient. *Pediatr. Clin. North. Am.*, **49**: 127-141.
- MARSH, P.D. (1994). Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv. Dent. Res.*, **8**: 263-271.
- MARSH, P.D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology.*, **149**: 279-294.
- MARSH, P.D. (2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Car. Res.*, **38**: 204-211.
- MARSHALL, V.M., COLE, W.M., BROOKER, B.E. (1984). Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. *J. Appl. Bacteriol.*, **57**: 491-497.

- MARSHALL, W.M.E., COLE, W.M. (1985). Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *J. Dairy Res.*, **52**: 451-456.
- MARSHALL, V.M. (1993). Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *Int. J. Dairy Technol.*, **46**: 49-56.
- MARTINEZ-CANAVATE, A., SIERRA, S., LARA-VILLOSLADA, F., ROMERO, J., MALDONADO, J., BOZA, J., XAUS, J., OLIVARES, M. (2009). A probiotic dairy product containing *L. gasseri* CECT5714 and *L. coryniformis* CECT5711 induces immunological changes in children suffering from allergy. *Pediatr. Allergy Immunol.*, **20**: 592-600.
- MATSUMOTO, M., TSUJI, M., SASAKI, H., FUJITA, K., NOMURA, R., NAKANO, K., SHINTANI, S., OOSHIMA, T. (2005). Cariogenicity of the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* in rats. *Car. Res.*, **39**: 479-483.
- MCDONOUGH, F.E., HITCHINS, A.D., WONG, N.P., WELLS, P., BODWELL, C.E. (1987). Modification of sweet acidophilus milk to improve utilization by lactose-intolerant persons. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**: 570-574.
- MEGO, M., MAJEK, J., KONCEKOVA, R., EBRINGER, L., CIERNIKOVA, S., RAUKO, P., KOVAC, M., TRUPL, J., SLEZAK, P., ZAJAC, V. (2005). Intramucosal bacteria in colon cancer and their elimination by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 with organic selenium. *Folia Microbiol (Praha)*, **50**: 443-447.
- MEURMAN, J.H., ANTILA, H., KORHONEN, A., SALMINEN, S. (1995). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103) on the growth of *Streptococcus sobrinus* *in vitro*. *Eur. J. Oral Sci.*, **103**: 253-258. in MEURMAN, J.H. (2005). Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur. J. Oral Sci.*, **113**: 188-196.
- MEURMAN, J.H. (2005). Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur. J. Oral Sci.*, **113**: 188-196.
- MEURMAN, J.H., STAMATOVA, I. (2007). Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis.*, **13**: 443-451.
- MILETIĆ, I.D., SCHIFFMAN, S.S., MILETIC, V.D., SATTELY-MILLER, E.A. (1996). Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol. Behav.*, **60**: 243-248.
- MINOCHA, A. (2009). Probiotics for preventive health. *Nutr. Clin. Pract.*, **24**: 227-241.
- MONTALTO, M., VASTOLA, M., MARIGO, L., COVINO, M., GRAZIOSETTO, R., CURIGLIANO, V., SANTORO, L., CUOCO, L., MANNA, R., GASBARRINI, G. (2004). Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion*, **69**: 53-56.
- MORINUSHI, T., MURAYAMA, M., KINJYO, S. (2004). Mutans streptococci, lactobacilli in saliva and acidity from organisms in dental plaque: changes after restorative treatment. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, **28**: 327-332.

- MUKAI, T., ONOSE, Y., TOBA, T., ITOH, T. (1992). Presence of glycerol teichoic acid in the cell wall of *Lactobacillus kefirianofaciens*. *Letters Apply. Microbiol.*, **15**: 29-31.
- MUTLU, Z. (2002). Aktif çürüklü, çürüksüz çocuklarda *S. mutans* görülme sıklığının PCR ve kültür yöntemleriyle karşılaştırılması olarak değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, S:15.
- NAIDU, A.S., BIDLACK, W.R., CLEMENS, R.A. (1999). Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **39**: 13-126.
- NASE, L., HATAKKA, K., SAVILAHTI, E., SAXELIN, M., PONKA, A., POUSSA, T., KORPELA, R., MEURMAN, J.H. (2001). "Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children". *Car. Res.*, **35**: 412-420.
- NEWBURN, E. (1989). Cariology. 3rd. Ed., Chicago, London: Quintessence Pub. Co. Inc.
- NG, S.C., HART, A.L., KAMM, M.A., STAGG, A.J., KNIGHT, S.C. (2009). Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm. Bowel Dis.*, **15**: 300-310.
- NIKAWA, H., MAKIHIRA, S., FUKUSHIMA, H., NISHIMURA, H., OZAKI, Y., ISHIDA, K., DARMAWAN, S., HAMADA, T., HARA, K., MATSUMOTO, A., TAKEMOTO, T., AIMI, R. (2004). "*Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of *mutans streptococci*" *Int. J. Food Microbiol.*, **95**: 219-223.
- NOBRE DOS SANTOS, M., MELO DOS SANTOS, L., FRANCISCO, S.B., CURY, J.A. (2002). Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. *Caries Res.*, **36**: 347-352.
- OGAARD, B., LARSSON, E., GLANS, R., HENRIKSSON, T., BIRKHED, D. (1997). Antimicrobial effect of a chlorhexidine-thymol varnish (Cervitec) in orthodontic patients. A prospective, randomized clinical trial. *J. Orofac. Orthop.*, **58**: 206-213.
- OUWEHAND, A.C., ISOLAURI, E., KIRJAVAINEN, P.V., SALMINEN, S.J. (1999). Adhesion of four *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus from subjects in different age groups. *FEMS Microbiol. Lett.*, **172**: 61-64.
- OUWEHAND, A., SALMINEN, S., ISOLAURI, E. (2002a). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, **82**: 279-289.
- OUWEHAND, A.C., ISOLAURI, E., SALMINEN, S. (2002b). The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. *Eur. J. Nutr.*, **41**: S132-S137.
- ÖTLEŞ, S., ÇAĞINDI, Ö., AKÇİÇEK, E. (2003). Probiotics and health. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, **4**: 369-372.

- PAES LEME, AF., KOO, H., BELLATO, C.M., BEDI, G., CURY, J.A. (2006). The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J. Dent. Res.*, **85**: 878-887.
- PEARCE, E.I. (1984). Therapeutic modifications to the mineral ion composition of dental plaque. *Car. Res.*, **18**: 103-110.
- PEARCE, E.I., MARGOLIS, H.C., KENT, R.L. Jr. (1999). Effect of in situ plaque mineral supplementation on the state of saturation of plaque fluid during sugar-induced acidogenesis. *Eur. J. Oral Sci.*, **107**: 251-259.
- PEARCE, E.I., DONG, Y.M., YUE, L., GAO, X.J., PURDIE, G.L., WANG, J.D. (2002a). Plaque minerals in the prediction of caries activity. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, **30**: 61-69.
- PEARCE, E.I., SISSONS, C.H., COLEMAN, M., WANG, X., ANDERSON, S.A., WONG, L. (2002b). The effect of sucrose application frequency and basal nutrient conditions on the calcium and phosphate content of experimental dental plaque. *Car. Res.*, **36**: 87-92.
- PERDIGON, G., ALVAREZ, S., RACHID, M., AGUERO, G., GOBBATO N. (1995). Immune system stimulation by probiotics. *J. Dairy Sci.*, **78**: 1597-1606.
- PETTI, S., TARSITANI, G., D'ARCA, A.S. (2001). "A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora" *Arch. Oral Biol.*, **46**: 705-712.
- PIANGPRACH, T., HENGTRAKOOL, C., KUKIATTRAKOON, B., KEDJARUNE-LEGGAT, U. (2009). The effect of salivary factors on dental erosion in various age groups and tooth surfaces. *J. Am. Dent. Assoc.*, **140**:1137-1143.
- POURESLAMI, H.R., VAN AMERONGEN, W.E. (2009). Early Childhood Caries (ECC): an infectious transmissible oral disease. *Indian J. Pediatr.*, **76**: 191-194.
- RANKINE, C.A., MORENO, E.C., VOGEL, G.L., MARGOLIS, H.C. (1985). Micro-analytical determination of pH, calcium, and phosphate in plaque fluid. *J. Dent. Res.*, **64**: 1275-1280.
- RANKINE, C.A., SMITH, S.L., SCHNEIDER, P.E., GARDINER, D.M. (1996). Biochemical comparison of plaque fluid on tooth and acrylic surfaces during a sucrose challenge. *Arch. Oral Biol.*, **41**: 695-698.
- REA, M.C., LENNARTSSON, T., DILLON, P., DRINAN, F.D., REVILLE, W.J., HEAPES, M., COGAN, T.M. (1996). Irish kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *J. Appl. Bacteriol.*, **81**: 83-94.
- REID, G. (2001). Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *Am. J. Clin. Nutr.*, **73**: 437S-443S.
- REID, G., JASS, J., SEBULSKY, M.T., McCORMICK, J.K. (2003). Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin. Microbiol. Rev.*, **16**: 658-672.

- RICKETTS, D.N., KIDD, E.A.M., BEIGHTON, D. (1995). Operative and microbiological validation of visual, radiographic and electronic diagnosis of occlusal caries in non-cavitated teeth judged to be in need of operative care. *Br. Dent. J.*, **179**: 214-220.
- ROBINSON, R.K., TAMIME, A.Y. (1990). Dairy microbiology, in *The Microbiology of Milk Products*, R.K. ROBINSON, Ed., Vol.2, p291, Elsevier, London in GÜZEL-SEYDİM, Z., KÖK-TAŞ, T., GREENE, A.K. (2010). Kefir and Koumiss: Microbiology and Technology. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. Yıldız, F. CRC Press, Taylor and Francis Group. **5**: 143-163.
- SAARELA, M., MOGENSEN, G., FONDEN, R., MATTO, J., MATTILA-SANDHOLM, T. (2000) Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, **84**: 197-215.
- SAAVEDRA, J.M., BAUMAN, N.A., OUNG, I., PERMAN, J.A., YOLKEN, R.H. (1994). Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet.*, **344**: 1046-1049.
- SAAVEDRA, J.M., ABI-HANNA, A., MOORE, N., YOLKEN, R.H. (2004). Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am. J. Clin. Nutr.*, **79**: 261-267.
- SACHDEO, A., HAFFAJEE, A.D., SOCRANSKY, S.S. (2008). Biofilms in the edentulous oral cavity. *J. Prosthodont.*, **17**: 348-356.
- SADRZADEH-YEGANEH H, ELMADFA I, DJAZAYERY A, JALALI M, HESHMAT R, CHAMARY M. (2010). The effects of probiotic and conventional yoghurt on lipid profile in women. *Br. J. Nutr.*, 103: 1778-1783.
- SALMINEN, S., BOULEY, C., BOUTRON-RUAULT, M.C., CUMMINGS, J.H., FRANCK, A., GIBSON, G.R., ISOLAURI, E., MOREAU, M.C., ROBERFROID, M., ROWLAND, I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br. J. Nutr.*, **80**: 147-171.
- SALMINEN, M.K., TYNKKYNEN, S., RAUTELIN, H., SAXELIN, M, VAARA, M., RUUTU, P., SARNA, S., VALTONEN, V., JARVINEN, A. (2002). *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clin. Infect. Dis.*, **35**: 1155-1160.
- SALVINI, F., GRANIERI, L., GEMMELLARO, L., GIOVANNINI, M. (2004). Probiotics, prebiotics and child health: where are we going? *J. Int. Med. Res.*, **32**: 97-108.
- SANDERS, M.E. (2003). Probiotics: considerations for human health. *Nutr. Rev.*, **61**: 91-99.
- SANTOS, A., SAN MAURO, M., SANCHEZ, A., TORRES, J.M., MARQUINA, D. (2003). The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Syst. Appl. Microbiol.*, **26**: 434-437.

- SANTOS, L.DE M., REIS, J.I., MEDEIROS, M.P., RAMOS, S.M., ARAUJO, J.M. (2009). In vitro evaluation of fluoride products in the development of carious lesions in deciduous teeth. *Braz. Oral Res.*, **23**: 296-301.
- SAVAIANO, D., LEVITT, M.D. (1984). Nutritional and therapeutic aspects of fermented dairy products. *Contemp. Nutr.*, **9**: 1-2.
- SCHAEKEN, M.J., VAN, DER, HOEVEN, J.S., FRANKEN, H.C. (1986). Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. *J. Dent. Res.*, **65**: 906-908.
- SCHEIE, A.AA. (1994). Mechanisms of dental plaque formation. *Adv. Dent. Res.*, **8**: 246-253.
- SCHIFFRIN, E.J., PARLESACK, A., BODE, C., BODE, J.C., VAN'T HOF, M.A., GRATHWOHL, D., GUIGOZ, Y. (2009). Probiotic yogurt in the elderly with intestinal bacterial overgrowth: endotoxaemia and innate immune functions. *Br. J. Nutr.*, **101**: 961-966.
- SEKI, M., YAMASHITA, Y., SHIBATA, Y, TORIGOE, H, TSUDA, H, MAEONO, M. (2006). Effect of mixed mutans streptococci colonization on caries development. *Oral Microbiol. Immunol.*, **21**: 47-52.
- SELWITZ R.H., ISMAIL, A., PITTS, N.B (2007) Dental Caries. *Lancet* ., **369**: 51-59.
- SENOK, A.C., ISMAEEL, A.Y., BOTTA, G.A. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clin. Microbiol. Infect.*, **11**: 958-966.
- SHANAHAN, F. (2001). Probiotics in inflammatory bowel disease. *Gut.*, **48**: 609.
- SHANNON, I.L., FELLER, R.P., CHAUNCEY, H.H. (1976). Fluoride in human parotid saliva. *J. Dent. Res.*, **55**: 506-509.
- SHAW, L., MURRAY, J.J., BURCHELL, C.K., BEST, J.S. (1983). Calcium and phosphorus content of plaque and saliva in relation to dental caries. *Car. Res.*, **17**: 543-548.
- SILVA, M., JACOBUS, N.V., DENEKE, C., GORBACH, S.L. (1987). Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **31**: 1231-1233.
- SIMOVA, E., BESHKOVA, D., ANGELOV, A., HRISTOZOVA, T.S., FRENGOVA, G., SPASOV, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **28**: 1-6.
- SOOKKHEE, S., CHULASIRI, M., PRACHYABRUED, W. (2001). Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J. Appl. Microbiol.*, **90**: 172-179.
- STECKSEN-BLICKS, C, SJOSTROM, I., TWETMAN, S. (2009). Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on

- dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Car. Res.*, **43**: 374-381.
- STEPHAN, R.M. (1944). Intra-oral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity. *J. Dent. Res.*, **23**:257-266. In: VAN HOUTE J. (1994). Role of Microorganisms in Caries Etiology. *J. Dent. Res.*, **73**(3):672-681.
- STAMATOVA, I., KARI, K., VLADIMIROV, S., MEURMAN, J.H. (2009). *In vitro* evaluation of yoghurt starter *lactobacilli* and *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion to saliva-coated surfaces. *Oral Microbiol. Immunol.*, **24**: 218-223.
- SURAWICZ, C.M., ELMER, G.W., SPEELMAN, P., MCFARLAND, L.V., CHINN, J., VAN BELLE, G. (1989). Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterol.*, **96**: 981-988.
- TAKIZAWA, S., KOJIMA, S., TAMURA, S., FUJINAGA, S., BENNO, Y., NAKASE, T. (1994). *Lactobacillus kefirgranum* sp. Nov. And *Lactobacillus parakefir* sp. Nov., two new species from kefir grains. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **44**: 435-439.
- TANAKA, M., MARGOLIS, H.C. (1999). Release of mineral ions in dental plaque following acid production. *Arch. Oral Biol.*, **44**: 253-258.
- TANZER, J.M., BORJESSON, A.C., LASKOWSKI, L., KURASZ, A.B., TESTA, M. (1984). Glucose-sucrose-potassium tellurite-bacitracin agar, an alternative to mitis salivarius-bacitracin agar for enumeration of *Streptococcus mutans*. *J. Clin. Microbiol.*, **20**: 653-659.
- TERZİ, G. (2007). Kefirin bileşimi ve beslenme açısından önemi. *Vet. Hek. Der. Derg.*, **78**: 23-30.
- TEN CATE, J.M. (2009). The need for antibacterial approaches to improve caries control. *Adv. Dent. Res.*, **21**: 8-12.
- TENOVUO J. (1991). The microbiology and immunology of dental caries in children. *Rew. Med. Microbiol.*, **2**: 76-82.
- THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. (1994). The oral environment-an introduction. Textbook of Clinical Cariology, Munksgaard, Copenhagen, Third Edition; Chapter 1: 14-16.
- THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. (1994). The oral environment-an introduction. Textbook of Clinical Cariology, Munksgaard, Copenhagen, Third Edition; Chapter 2: 17-50.
- THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. (1994). Textbook of Clinical Cariology, Munksgaard, Copenhagen, Third Edition; Chapter 3: 51-69.
- TOBA, T., ARIHARA, K., ADACHI, S. (1990). Distribution of microorganisms with particular reference to encapsulated bacteria in kefir grains. *Int. J. Food Microbiol.* **10**: 219-224.

- TOI, C.S., MOGODIRI, R., CLEATON-JONES, P.E. (2000). Mutans streptococci and lactobacilli on healthy and carious teeth in the same mouth of children with and without dental caries. *Mic. Ecol. Health Dis.*, **12**: 35-41.
- TSUBURA, S., MIZUNUMA, .H, ISHIKAWA, S., OYAKE, I., OKABAYASHI, M., KATOH, K., SHIBATA, M., IIZUKA, T., TODA, T, IIZUKA, T. (2009). The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **28**: 1353-1356.
- TUOMOLA, E.M., OUWEHAND, A.C., SALMINEN, S.J. (1999). The effect of probiotic bacteria on the adhesion of pathogens to human intestinal mucus. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **26**: 137-142.
- TUOMOLA, E., CRITTENDEN, R., PLAYNE, M., ISOLAURI, E., SALMINEN S. (2001). Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *Am. J. Clin. Nutr.*, **73**: S393-S398.
- TURAN İ., İLTER T. (2007). Kafkas dağlarından günümüze: kefir. *Güncel Gastro.*, **11**: 65-75
- TWETMAN, S., FRITZON, B., JENSEN, B., HALLBERG, U., STAHL, B. (1999). Pre- and post-treatment levels of salivary mutans streptococci and lactobacilli in pre-school children. *Int. J. Paediatr. Dent.*, **9**: 93-98.
- TWETMAN, S. (2004). Antimicrobials in future caries control? A review with special reference to chlorhexidine treatment. *Car. Res.*, **38**: 223-229.
- TWETMAN, S., STECKSEN-BLICKS, C. (2008). Probiotics and oral health effects in children. *Int. J. Paediatr. Dent.*, **18**: 3-10.
- TWETMAN, S., DERAWI, B., KELLER, M., EKSTRAND, K., YUCEL-LINDBERG, T., STECKSEN-BLICKS, C. (2009). Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol. Scand.*, **67**:19-24.
- VAN HOUTE J. (1980). Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int. Dent. J.*, **30**: 305-326.
- VAN HOUTE, J., GIBBS, G., BUTERA, C. (1982). Oral flora of children with "nursing bottle caries". *J. Dent. Res.*, **61**: 382-385.
- VAN HOUTE, J., JORDAN, H. V., LARAWAY, R., KENT, R., SOPARKAR, P.M., and DE PAOLA. (1990). Association of the microbial flora of dental plaque and saliva with human root-surface caries. *J. Dent. Res.*, **69**: 1463-1468.
- VAN HOUTE, J. (1993). Microbiological predictors of caries risk. *Adv. Dent. Res.*, **7**: 87-96.
- VAN HOUTE J.(1994). Role of Microorganisms in Caries Etiology. *J Dent. Res.*, **73**:672-681.
- VAN LOVEREN, C. (2004). Sugar alcohols: what is the evidence for caries-preventive and caries-therapeutic effects? *Car. Res.*, **38**: 286-293.

- VANDERHOOF, J.A., WHITNEY, D.B., ANTONSON, D.L., HANNER, T.L., LUPO, J.V., YOUNG, R.J. (1999). Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J. Pediatr.*, **135**: 564-568.
- VANDERHOOF, J.A., YOUNG, R.J. (2002). Probiotics in pediatrics. *Pediatrics*, **109**:956-958.
- VANDERHOOF, J.A., YOUNG, R.J. (2005). Pediatric applications of probiotics. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **34**: 451-463.
- VERRIPS, G.H., FRENCKEN, J.E., KALSBECK, H., TER HORST, G., FILEDT KOK-WEIMAR, T.L. (1992). Risk indicators and potential risk factors for caries in 5-year-olds of different ethnic groups in Amsterdam. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, **20**: 256-260.
- VESTERLUND, S., PALTTA, J., KARP, M., OUWEHAND, A.C. (2005). Measurement of bacterial adhesion-in vitro evaluation of different methods. *J. Microbiol. Methods.*, **60**: 225-233.
- VINDEROLA, C.G., DUARTE, J., THANGAVEL, D., PERDIGON, G., FARNWORTH, E., MATAR, C. (2005). Immunomodulating capacity of kefir. *J. Dairy Res.*, **72**: 195-202.
- VON BULTZINGSLOWEN, I., ADLERBERTH, I., WOLD, A.E., DAHLEN, G., JONTELL, M. (2003). Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria. *Oral Microbiol. Immunol.*, **18**: 278-284.
- WATANABE, S., NARISAWA, Y., ARASE, S., OKAMATSU, H., IKENAGA, T., TAJIRI, Y., KUMEMURA, M. (2003). Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **111**: 587-591.
- WEI, H., LOIMARANTA, V., TENOVUO, J., ROKKA, S., SYVAOJA, E.L., KORHONEN, H., JOUTSJOKI, V., MARNILA, P. (2002). Stability and activity of specific antibodies against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus strain GG* or treated at ultra-high temperature. *Oral Microbiol. Immunol.*, **17**: 9-15.
- WHITTAKER, C.J., KLIER C.M., KOLENBRANDER. P.E. (1996). Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu. Rev. Mikrobiol.* **50**: 513-552.
- WHO ve FAO PROBİYOTİK DEĞERLENDİRME REHBERİ. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London Ontario, Canada.
- WICHT, M.J., HAAK, R., SCHUTT-GEROWITT, H., KNEIST, S., NOACK, M.J. (2004). Suppression of caries-related microorganisms in dentine lesions after short-term chlorhexidine or antibiotic treatment. *Car. Res.*, **38**: 436-441.

- WILSON, R.F., ASHLEY, F.P. (1988a). Collection and biochemical analysis of human dental plaque from the approximal tooth surfaces and comparison with plaque from free smooth surfaces. *Arch. Oral Biol.*, **33**: 473-478.
- WILSON, R.F., ASHLEY, F.P. (1988b). The effects of experimental variations in dietary sugar intake and oral hygiene on the biochemical composition and pH of free smooth-surface and approximal plaque. *J. Dent. Res.*, **67**: 949-953.
- WILSON, R.F., ASHLEY, F.P. (1990a). Relationships between the biochemical composition of both free smooth surface and approximal plaque and salivary composition and a 24-hour retrospective dietary history of sugar intake in adolescents. *Car. Res.*, **24**: 203-210.
- WILSON, R.F., ASHLEY, F.P. (1990b). The relationship between the biochemical composition of dental plaque from both approximal and free smooth surfaces of teeth and subsequent 3-year caries increment in adolescents. *Arch. Oral Biol.*, **35**: 933-937.
- WRIGHT, J.T., CUTTER, G.R., DASANAYAKE, A.P., STILES, H.M., CAUFIELD, P.W. (1992). Effect of conventional dental restorative treatment on bacteria in saliva. *Community Dent Oral Epidemiol.* **20**: 138-143.
- YLI-KNUUTTILA, H., SNALL, J., KARI, K., MEURMAN, J.H. (2006). "Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity" *Oral Microbiol. Immunol.*, **21**: 129-131.
- YOUNG, R.J., HUFFMAN, S. (2003). Probiotic use in children. *J. Pediatr. Health Care*, **17**: 277-283.
- YUKSEKDAG, Z.N., BEYATLI, Y., ASLIM, B. (2004). Metabolic activities of *Lactobacillus* spp. strains isolated from kefir. *Nahrung Food*, **48**: 218-220.
- ZERO, D.T., FONTANA, M., MARTINEZ-MIER, E.A., FERREIRA-ZANDONA, A., ANDO, M., GONZALEZ-CABEZAS, C., BAYNE, S. (2009). The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries: scientific advances in the United States. *J. Am. Dent. Assoc.*, **140**: 25S-34S.
- ZHANG, Q., VAN PALENSTEIN-HELDERMAN, W.H., VAN'T HOF, M.A., TRUÏN, G.J. (2006). Chlorhexidine varnish for preventing dental caries in children, adolescents and young adults: a systematic review. *Eur. J. Oral Sci.*, **114**: 449-455.

EKLER**EK 1: ETİK KURULU KARARI**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

Bölüm : Yayın İşleri Şefliği
Sayı : 9-8/58

26.12.2007

Sayın Doç. Dr. Zeynep ÖKTE

Fakültemiz Etik Kurulunun 25.12.2007 tarihli toplantısında alınan 125/3 sayılı kararı ilişikte sunulmuştur.
Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla rica ederim.


Prof. Dr. Nejat Bora SAYAN
DEKAN

EKi: Karar

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU KARARLARI**

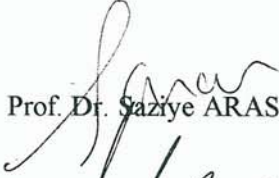
Karar tarihi: **25/12/2007**

Karar sayısı: **125**

3- Doç. Dr. Zeynep ÖKTE sorumluluğunda yürütülecek olan “Çocuklarda Probiyotikli Ürünlerin Oral Floraya ve Diş Çürüğü Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi” konulu araştırmanın, Araştırma Etik Kurulunca değerlendirilmiş olup, maddi açıdan desteklendiği takdirde, etik açıdan uygun olduğuna oy birliği ile karar verildi.

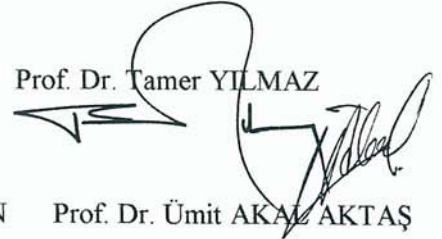


Prof. Dr. Mutahhar ULUSOY

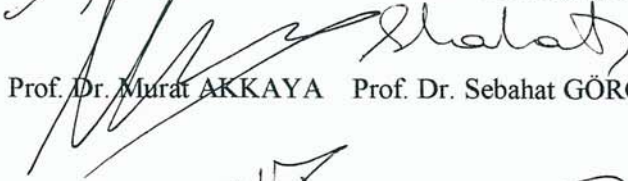


Prof. Dr. Saziye ARAS

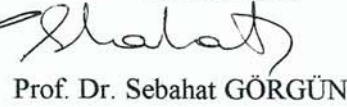
Prof. Dr. Ayşegül KÖKLÜ
imzaada bulunamadı



Prof. Dr. Tamer YILMAZ



Prof. Dr. Murat AKKAYA



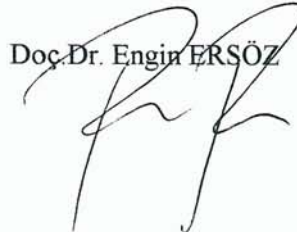
Prof. Dr. Sebahat GÖRGÜN



Prof. Dr. Ümit AKAL AKTAŞ



Doç. Dr. Meltem DARTAR



Doç. Dr. Engin ERSÖZ

Doç. Dr. Serap ŞAHİNOĞLU
-Katılmadı-

ÖZGEÇMİŞ

I. BİREYSEL BİLGİLER

Adı : Didem
 Soyadı : Argun Vardarlı
 Doğum yeri ve tarihi : Ankara, 06.02.1980
 Uyruğu : TC
 Medeni durumu : Evli
 İletişim adresi : Park Vadi Sitesi Batievleri, Uğur Mumcu Mah. 1649.Sok. 2G Blok Kat:6 Daire:21Batıkent-Yenimahalle/Ankara
 Telefon : 0 312 251 35 58
 : 0 505 403 19 43
 E-mail : didemargun@yahoo.com.hk

II. EĞİTİM

2004-2010 Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD., Ankara
 1998-2003 Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ankara
 1994-1998 Ankara 50. Yıl Lisesi, Ankara
 1991-1994 Keçiören Lisesi, Ankara
 1986-1991 Keçiören Çizmeci İlkokulu, Ankara

Yabancı Dil: İngilizce

III. ÜNVANLARI

2003: Diş Hekimi

IV. MESLEKİ DENEYİMİ

2004- Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD./ Doktora Öğrencisi
 2006- Özel Dent-Art Ağız Diş Sağlığı Polikliniği/ Diş Hekimi, Mesul Müdür
 2006-2006 Özel Mahmut Demirkan Ağız Diş Sağlığı Polikliniği/ Diş Hekimi

V. ÜYE OLDUĞU BİLİMSEL KURULUŞLAR

Türk Pedodonti Derneği
 Ankara Diş Hekimleri Odası

VI. BİLİMSEL İLGİ ALANLARI

Uluslararası Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Çiftçi, A., Vardarlı, D.A., Şaroğlu Sönmez, I. (2009). Coronal Microleakage of four endodontic temporary restorative materials: An *in vitro* study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **108**: e67-70.

Bilimsel Toplantılarda Takdim Edilen ve Bildiri Kitabında Basılan Poster ve Sunumlar:

1. Orhan I, Argun D, Sarı Ş. “Çift köklü maksiller süt kanin dişi: İki olgu raporu” Türk Pedodonti Derneği 5.Ulusal Sempozyumu, Konya, Türkiye, 2004
2. Dalcı K, Karabulut B, Karabulut D, Argun D. “Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde kas iskelet sistemi bozukluklarının prevalansı” Türk Pedodonti Derneği 14. Bilimsel Kongresi, Antalya, Türkiye, 2005
3. Kürkçü B, Argun D, Ökte Z, Çetiner S. “Lazer ve aertörle hazırlanan kaviterlerde kompomer dolguların kenar sızıntısının değerlendirilmesi” Türk Pedodonti Derneği 15.Ulusal Kongresi, Antalya, Türkiye, 2007

VII. BİLİMSEL ETKİNLİKLERİ

Katıldığı Bilimsel Sempozyum ve Kongreler

21.Expodental Ağız ve Diş Sağlığı Sempozyumu ve Sergisi. 20-22 Kasım 2009, Ankara, Türkiye

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bilimsel Toplantısı “Ağız Tadı Ağız Sağlığı”. 23 Ekim 2007, Kırıkkale, Türkiye

Türk Pedodonti Derneği 15.Ulusal Kongresi. 17-21 Ekim 2007, Antalya, Türkiye

12. BASS Kongresi. 12-14 Nisan 2007, İstanbul, Türkiye

Türk Pedodonti Derneği 6. Ulusal Sempozyumu. 26-27 Mayıs 2006, Isparta, Türkiye

Türk Pedodonti Derneği 14.Ulusal Kongresi. 11-15 Mayıs 2005, Antalya, Türkiye

Türk Pedodonti Derneği 5. Ulusal Sempozyumu. 28-29 Mayıs 2004, Konya, Türkiye