

Diş Çürükleri ve Laktobasiller

Dr. Mehmet ERCAN (*)

Laktobasilluslar ağız florasının karakteristik bir grubudur. Bu bakteriler çok çeşitli gıda maddelerinde, süt çocuğu ve erişkinlerin barsaklarında, puberteden sonra vaginada bulunmuşlardır (2, 3, 18). Diş çürükleriyle ilgilileri, vaginayı koruyucu etkisi olduğu sanılmaktadır (12).

Laktobasillusları kolaylıkla üretebilmek için pek çok araştırmacılar çeşitli besiyerleri denemişlerdir. En iyi üredikleri besiyeri 1960 da De Man, Rogosa ve Sharpe'nin hazırladıkları besiyeridir (11).

1881 de Laktobasillusları Kern ilk defa kefirde elde etti (7).

1922 de Mc Intosh, James ve 1924 de Lazarus-Barlow diş çürüklerinden laktobasillusları elde ettiler ve bu basile Lactobacillus odontolyticus adını vermişlerdir (7, 18).

1930 da Hadley, Bunting ve Delves diş orijinli Lactobacillus acidophilus'un kaba tip kolonilerden düz kolonilere kadar değişen tiplerini tefrik ettiler (1).

1931 de Rodriquez ve arkadaşları diş çürüğüne hassas ağız-

(*) İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız Hastalıkları Kürsüsü Araştırma Görevlisi.



larda *Lactobacillus acidophilus*'un sıklığını göstermiş ve bu sıklığın çeşitli hijyenik şartların tesiri altında olduğunu ileri sürmüşlerdir (10).

1953 de Hadley ve Bunting *Lactobacillus acidophilus*'un diş çürükleri ile ilgisini araştırdılar. Çürüklerin mevcudiyeti ile ilişkilerinin % 100 olduğunu söylediler. Çürüğe hassas ve çürüksüz ağızlarda *Laktobasillus*un mukayesesini yaptılar (6).

1961 de Camilleri ve arkadaşları *Laktobasillus*ları çürük dentinden izole ettiler ve sınıflandırarak homofermantatiflerin 3,5:1,0 oranında heterofermantatiflerden fazla bulduklarını gösterdiler (4).

1971 de Takei ve arkadaşları *Laktobasillus*ların ağızdaki dağılımını inceleyerek buldukları yerlere göre yüzdelerini bildirmişlerdir. Bunlara göre ağızda homofermantatif olan *Lactobacillus acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. plantarum* ve heterofermantatif olan *Lactobacillus fermenti*, *L. brevis*, *L. buchneri* bulunuyordu (15).

1974 de Sundqvist ve arkadaşları diş kök kanalı infeksiyonunda *Lactobacillus acidophilus*'unda bulunduğunu, kök kanalında bulunan *Laktobasillus*ların ağız ve diğer bölgelerde bulunanlardan farklı olmadığını göstermişlerdir (13).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda ise *Lactobacillus acidophilus*un diş çürüğü mevcut ağızlarda diğer çürüksüz ağızlara göre daha fazla bulunduğu ispatlanmış, fakat *Lactobacillus acidophilus*'un diş çürüğünün etkeni olmadığı kesinlikle kabul edilmiştir (8).

Biz çalışmamızda *Lactobacillus acidophilus*'un normal, diş çürüğü mevcut ve diş çürükleri tedavi edilmiş hastaların ağızlarında bulunma yüzdelerini karşılaştırmayı amaçladık.

MATERYEL VE METOD :

Çalışmamızda Fakültemiz öğrencileri ve tedavi maksadıyla Fakültemiz müracaat eden toplam 60 kişiden faydalandık. 60 hastamızın 20 si öğrencilerimiz olup ağız hijyenleri iyi ve dişlerinde herhangi bir çürük mevcut değildi. 20 hastamız Fakültemizin «Diş Hastalıkları ve Konservatif diş tedavisi Kürsüsü» ne müracaat etmiş kişilerdi. 20 hastamızda aynı Kürsüde diş çürüğü tedavisi uygulanmış hastalar idi. Hastalarımızın yaşları 19-54 arasında idi. Her grup hastamızın yarısı erkek, yarısı kadın idi.

Hastalarımızın ağızlarından 160 C de 2,5 saat Pasteur fırınında sterilize edilmiş ekuviyonlarla (8, 16) muayene maddesi aldık. Ekuviyonlar sterilizasyon kurallarına uygun olarak tüplerden çıkarılmış, muayene maddesi alınacak ağızın dişlerine bastırılıp tükürüğüne sürüldükten sonra tekrar tüplerine konulmuştur. Alınan muayene maddesi bekletilmeden İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji, Parazitoloji ve Enfeksiyon Kürsüsü'nde ekilmiştir.

Kullandığımız besiyeride De Man, Rogosa ve Sharpe'nin hazırladıkları besiyerindeki difco veya oxoid'in et ekstresi ve oxoid pepton veya trypticase yerine balıklı sıvı besiyeri kullanılarak hazırlanmıştır (7, 17).

BALIKLI DE MAN, ROGOSA, SHARPE AGARI BESİYERİ (M. R. S. Besiyeri) :

Sodyum asetat	5 gr.
Maya ekstresi	5 gr.
K ₂ HPO ₄	2 gr.
Di-amonyumhidrojen sitrat	2 gr.
Tuz eriyiği	5 cc.
Tween 80	1 cc.
Agar agar	20 gr.
Glikoz	20 gr.
Balıklı sıvı besiyeri	1000 cc.

Tuz eriyiği :

Mg SO ₄ 7 H ₂ O	11,5 gr.
Mn SO ₄ 4 H ₂ O	2,8 gr.
Damıtık su	100 cc.

Katı kısımlar eritilmiş, pH 5 še ayarlanmış ve tüplere bölünerek 100 C de 30 dakika otoklavda sterilize edilmiştir (7, 9). Steril Petri

kutularına dökülerek soğuduktan sonra 37 C lik etüvde kurutulmuştur (17). Ekuviyonlarla alınan muayene maddesi balıklı M. R. S. plâğına azaltma metoduyla ekilmiştir. 48 saat 37 C de etüvde bekletilmiştir. Buradan elde edilen farklı koloniler aynı şekilde hazırlanmış yalnız pH 6,5 ğa ayarlanmış balıklı M. R. S. sıvı besiyerine ekilmiş ve 37 C de 48 saat bekletilmiştir. Bakterilerin iyice üremesi ve koloni tiplerinin tayini tespit edildikten sonra buradan usulüne göre alınan üç öze saf kültür pH 6,5 olan balıklı M. R. S. eğri ağarına ekilmiş ve 48 saat 37 C de etüve kaldırılmıştır.

Balıklı M. R. S. eğri agarında saf kültür halinde üretilmiş bakterilerde glikozdan laktik asit yapması, katalaze negatiflik, nitratları nitritlere parçalamaması, hareketsizlik, sporsuzluk, Gram-pozitiflik, adi ve çikolatalı jelozda ürememesi aranmış ve bu özelliklere haiz bakteriler Laktobasil olarak kabul edilmiş, bu özelliklerde şu metodarla aranmıştır (7).

Glikozdan laktik asit teşkilinin aranması :

Bakterilerin balıklı sıvı M. R. S. besiyerinde (pH 6,5) 37 C de 24 saat üremesiyle elde edilen kültür santrifüje edilmiş, üstteki sıvıda KELLİNG TESTİ ile laktik asidin varlığı aranmıştır. İçinde 10 cc. damıtık su bulunan deney tüpüne % 10 luk FeCl çözeltisinden 1 damla konup çalkalanmış ve sıvı ikiye bölünmüştür. Birine incelenecek santrifüj sıvısından, öbürüne kontrol olarak ekilmemiş besiyerinden birer damla damlatılmış, test tüpünde kanarya sarısı rengin görülmesi, kontrol tüpünün aynı kalmasıyla bakterinin glikozdan laktik asit oluşturduğu kabul edilmiştir.

Katalaze Deneyi :

pH 6,5 olan balıklı M. R. S. eğri agarda 37 C de 24s saat bekletilerek elde edilmiş kültürlerin yüzeyine 1 cc. % 3 lük H₂O₂ ilâve edildi. Katalaz pozitif bakteriler oksijeni açığa çıkararak hava kabarcıkları meydana getirdiler.

Nitrat Deneyi :

Balıklı M. R. S. eğri agarındaki 37 C de 24 saatlik kültürlerden usulüne göre 3 öze, daha önce hazırlamış olduğumuz nitratlı besiyerine ekilerek 37 C de 4 gün bekletilmiştir. Kültürlere hazır A ve

B miyarlardan 1 er cc. eklenmiş ve besiyerinin kızarması pozitif, renksiz kalışı negatif olarak değerlendirilmiştir.

Asılı Damla Metodu :

Bunun için çukurlu lam gereklidir. Bakterilerin hareketlerini incelemede kullanılır. Temiz bir lamel üzerine steril öze ile muayene maddesi konulmuştur. Lamel ters çevrilir, damla lam'ın çukuruna gelecek şekilde kapatılmış ve mikroskopta incelenerek bakterinin hareketli olup olmadığı araştırılmıştır.

Gram Boyama Metodu :

Preparat havada kurutulduktan sonra alevde üç defa ekmek keser gibi geçirilip tespit edilmiştir. Üzerine Jansiyon Moru dökülmüş ve 2 dakika bekletilmiş, su ile yıkanmadan çok az Lugol mahlülü ile Jansiyon moru temizlenmiş, 2 dakika da Lugol mahlülünde tutulmuştur. Sonra % 95 lik alkol ile renk giderilmiş, üzerine sulu fuksin dökülerek 0,5-1 dakika tutulmuştur. Su ile yıkanarak kurutma kâğıdında kurutulmuş ve üzerine bir damla sedir yağı damlatılarak immersiyon mikroskobunda incelenmiştir.

Ayrıca bakterilerin saf kültürleri Adi ve Çikolatalı Jeloza ekilerek 37 C de 48 saat bekletilmiştir.

Deneyler sonucunda glikozdan laktik asit teşkil eden, Gram-pozitif, nitratları nitritlere çevirmeyen, katalaza negatif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, adi ve çikolatalı jelozda üremeyen bakteriler Laktobasil olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR :

Muayene maddelerini ekmiş olduğumuz pH 5 olan balıklı M.R.S. besiyeri Laktobasiller için iyi bir tecrit besiyeri olduğu görülmüştür. Besiyerinde bazı hastaların muayene maddelerinde tek tük maya hücrelerinin dışında geenlikle laktobasiller üremiştir. Laktobasiller pH 6,5 olan balıklı M. R. S. besiyerinde de çok iyi üremişlerdir.

Laktobasiller R, S, ve RS tipi koloniler meydana getirmişlerdir.

Ağız hijyeni iyi ve diş çürükleri olmayan 20 hastamızın 7 si steril kalmış, 13 hastamızdan ise 23 değişik suş elde edilmiştir (Tablo : 1).

NORMAL AĞIZ FLORASINDAN ALINAN MATERYEL SONUÇLARI

Hasta sayısı	Suş No.	Hareket	Kataloz Deneyi	Spor ve Kapsül	Adi Jelozda Üreme	çikolataı Jelozda üreme	Nitrat	Deneyi Kelling Testi	Gram Boyama	Bakteri Kökeni
1	1	2	3	—	—	—	—	+	+	Laktobacillus
2	S		T		E		R	i	L	
3	4	5	6	—	—	—	—	+	+	»
4	7	8		—	—	—	—	+	+	»
5	9			—	—	—	—	+	+	»
6	S		T		E		R	i	L	
7	S		T		E		R	i	L	
8	10			—	—	—	—	+	+	»
9	11			—	—	—	—	+	+	»
10	12	13		—	—	—	—	+	+	»
11	S		T		E		R	i	L	
12	S		T		E		R	i	L	
13	S		T		E		R	i	L	
14	14	15		—	—	—	—	+	+	»
15	16			—	—	—	—	+	+	»
16	17	18		—	—	—	—	+	+	»
17	19			—	—	—	—	+	+	»
18	20			—	—	—	—	+	+	»
19	21	22	23	—	—	—	—	+	+	»
20	S		T		E		R	i	L	

Tablo : 1

Ağızlarında diş çürüğü bulunan 20 hastamızın muayene mad-
desi ekilmiş Petri kutularının hepsinde üreme olmuş ve 43 değişik
suş elde edilmiştir (Tablo : 2).

DIŞ ÇÜRÜĞÜ OLAN AĞIZ FLORASINDAN ALINAN MATERYEL SONUÇLARI

Hasta sayısı	Suş No.	Hareket	Kataloz	Deneji	Spor ve Kapsül	Adi Jelozda Üreme	Çikolatalı Jelozda üreme	Nitrat	Deneji Kelling Testi	Gram Boyama	Bakteri Kökeni
21	24	25		-	-	-	-	-	+	+	Laktobacillus
22	26	27	28	-	-	-	-	-	+	+	»
23	29	30	31	-	-	-	-	-	+	+	»
24	32			-	-	-	-	-	+	+	»
25	33	34	35	-	-	-	-	-	+	+	»
26	36			-	-	-	-	-	+	+	»
27	37	38	39	-	-	-	-	-	+	+	»
28	40	41		-	-	-	-	-	+	+	»
29	42	43		-	-	-	-	-	+	+	»
30	44	45	46	-	-	-	-	-	+	+	»
31	47			-	-	-	-	-	+	+	»
32	48	49		-	-	-	-	-	+	+	»
33	50	51	52	-	-	-	-	-	+	+	»
34	53			-	-	-	-	-	+	+	»
35	54			-	-	-	-	-	+	+	»
36	55	56		-	-	-	-	-	+	+	»
37	57	58	59	-	-	-	-	-	+	+	»
38	60	61	62	-	-	-	-	-	+	+	»
39	63	64		-	-	-	-	-	+	+	»
40	65	66		-	-	-	-	-	+	+	»

Tablo : 2

Ağızlarında diş çürüğü olan ve gerekli tedavileri yapılmış olan 20 hastamızın 4 dü steril kalmış, 29 suş elde edilmiştir (Tablo : 3).

DİŞ ÇÜRÜĞÜ TEDAVİ EDİLMİŞ AĞIZ FLORASINDAN ALINAN MATERYEL SONUÇLARI

Hasta sayısı	Suş No.	Hareket	Katalaz	Deneysel Spor ve Kapsül	Adi Jelozda Üreme	Çikolata jelozda üreme	Nitrat	Deneysel Kelling Testi	Gram Boyama	İzakteri	Kökteni
41	S	T	E	R	i	L					
42	67	68	-	-	-	-	-	+	+	Laktobacillus	
43	69		-	-	-	-	-	+	+	»	
44	S	T	E	R	i	L					
45	70	71	72	-	-	-	-	+	+	»	
46	73	74	75	-	-	-	-	+	+	»	
47	76			-	-	-	-	+	+	»	
48	77			-	-	-	-	+	+	»	
49	78	79	80	-	-	-	-	+	+	»	
50	81	82		-	-	-	-	+	+	»	
51	83	84		-	-	-	-	+	+	»	
52	85	86		-	-	-	-	+	+	»	
53	S	T	E	R	i	L					
54	87	88		-	-	-	-	+	+	»	
55	89			-	-	-	-	+	+	»	
56	90	91		-	-	-	-	+	+	»	
57	92	93		-	-	-	-	+	+	»	
58	S	T	E	R	i	L					
59	94			-	-	-	-	+	+	»	
60	95			-	-	-	-	+	+	»	

Tablo : 3

Diş çürüğü olmayan hastalarda laktobasillerin bulunma yüzdesi 65 iken, diş çürüğü mevcut olan hastalarda % 100 laktobacillus bulunmuş ve diş çürüğü tedavisi yapılmış 20 hastamızın 16 sında laktobasiller rastlanmış ve % 80 olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ :

Araştırmamızda kullanmış olduğumuz balıklı De Man, Rogosa ve Sharpe Besiyeri laktobasiller için tecrit besiyeri olarak pH sınırın 5, iyi üreyebildikleri pH nın 6,5 olduğu görülmüş ve bu bulgular literatür bulgularına uygun bulunmuştur (5, 7).

Biz laktobasilleri eldeki imkanlar nisbetinde fizik karakterlerine göre ayırmaya çalıştık. Son yıllarda yapılmış olan araştırmalarda ise laktobasillerin hücre zarlarının bileşimlerinin değişik yapı gösterdiği, daha önce aynı tür olduğu sanılan laktobasillerin, bu metodla farklı tipler olduğu ortaya çıkmıştır (14).

Lactobacillus acidophilus'un diş çürüğü olan hastalarda daha çok rastlandığı ve bulunma yüzdesinin normal ve diş çürüğü tedavi edilmiş hastalara göre daha fazla bulunduğu ileri sürülmüştür (1, 4, 6, 10, 13, 15).

Lactobacillus acidophilus'un diş çürüğü mevcut ağızlarda bol retansiyon bölgelerinin çokluğu sebebiyle fazla bulunduğu iddia edilmiş, fakat kesinlikle diş çürümesinin etkeni olmadığı kabul edilmiştir (8). Biz de çalışmamızın sonuçlarına bakarak aynı kanaatte olduğumuzu söyleyebiliriz.

Sonuç olarak diş çürüğü mevcut hastalarda Lactobacillus acidophilus'a sık rastlanmıştır. Ağız hijyeni iyi ve diş çürüğü bulunmayan kişilerin ağızlarında laktobasil bulunma yüzdesinin, tedavisi yapılmış hastalardan az olmasını sekonder çürük olma ihtimaline bağladık.

Ö Z E T

Bu çalışmada diş çürükleri ile Lactobacillus'lar arasındaki ilişki araştırılmıştır.

S U M M A R Y

In this study the relation between the dental caries and lactobacillus acidophilus, was investigated.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — Barber, F. W. and Frazier, W. C. : Dissociants of Lactobacilli, J. Bact., 50, 637, 1945.
- 2 — Burnett, G. W. and Scherp, H. W. : Oral Microbiology and Infections Disease, Third Edition, 283, 352, 527, 1972.
- 3 — Buttiaux, R., Beerens, H., Tacquet, A. : Manuel de Techniques Bactériologiques, 3 ed., Paris, 470, 1969.
- 4 — Camilleri, G. E., Bowen, W. H. : Classification of Lactobacilli isolated from Human Carious Dentin. J. Dent. Res., 42, 1104, 1963.
- 5 — Ercan, M. : Ağız Hastalıklarının Tedavisinde Lactobacillus acidophilus'ların rolü .Doktora Tezi, İ. Ü. Dişhekimliği Fak., Fatih Yayınevi Matb., İst., 1978.
- 6 — Hadley, FP., Bunting, R. W. : Further studies on the recognition of B. Acidophilus. J. Am. Dental Assoc., 19, 28, 1932.
- 7 — İleri, Z. : Ağız, dışkı ve besinlerden ayırdığımız aerob üreyen lactobacillus türlerinin fizyolojik karakterlerine göre tanımı. Uzmanlık Tezi. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak., İst., 1972.
- 8 — Nolte, W. A. : Ağız Mikrobiyolojisi. Anđ. Ö.'nün çevirisi. Gençlik Basımevi, İst., 1977.
- 9 — Öktem, Z., Unat, E. K. : Mikrobiyoloji pratiği. Ateş Matbaası, İstanbul, 1951
- 10 — Rodriguez, F. E., Baltimore, D. D. S. : Quantitative incidence of Lactobacillus acidophilus in the oral cavity as a Presumptive index of susceptibility to dental caries. J. Am. Dental Assoc., 18, 2118, 1931.
- 11 — Rogosa, M. and Mitchell, S. A. : Induced colonial variation of a total population among certain Lactobacilli. J. Bact. 59; 303, 1950.
- 12 — Rosebury, T. : Microorganism indigenous to man. 1962.
- 13 — Sundqvist, F., Carlsson, J. : Lactobacilli of infected dental root canal. Odontol. Revy., 25 (3) : 233, 1974.
- 14 — Şahin, İ. : Arpa ve malt mikroflorasındaki Laktobasillerin tanımı. 15. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Serbest Tebliđ, Hacettepe Ün. Basımevi, Ankara, 1972.
- 15 — Takei, M., Kobayashi, Y., Iwasaki, S. and Fujinashi, T. : Distribution of Lactobacilli in Oral Cavities. Japan J. Microbiol. 15, 109, 1971.

- 16 — **Unat, E. K.** : Dişhekimliği Mikrobiyolojisi. Bilgi Basım ve Yayınevi, İstanbul, 1955.
- 17 — **Unat, E. K.** : Balık hidroliziyle besiyeri hazırlanması. Yeni Tıp Alemi, 18: 231, 1169.
- 18 — **Wilson, G. S., Miles, A. A.** : Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. Six edition, Chapter 30, 956, 1975.