

TİP 1 AĞIZ KOKUSU İLE AĞIZDA KANDİDA KOLONİZASYONU ARASINDA BİR İLİŞKİ VAR MIDIR?



Murat Aydın *DDS, PhD Microbiology
Reşatbey mah Gazipaşa Bulv, Emre apt, n:6, k:2, d:5 Adana-
Türkiye, Phone:+0903224536262, E-mail:
aydinmur@gmail.com <http://halitorium.com>



Mustafa Çağrı Derici, MD, otolaryngologist,
Adana Numune hastahnesi, Kulak Burun Boğaz servisi Adana-
Türkiye



Yener Ünal PhD, istatisyen
Cumhuriyet Üniversitesi Fen fakültesi Sivas, Türkiye



Defne Yeler DDS, PhD Oral and Maxillofacial Radiolog
Cumhuriyet Üniversitesi diş hekimliği fakültesi Sivas, Türkiye



Yusuf İslam Demir, öğrenci
Atatürk Üniv. Diş hekimliği fakültesi, Erzurum Türkiye

* iletişim sorumlusu

Şöyle refere edilir:

Aydın M, Derici MÇ, Ünal Y, Yeler D, Demir Yİ. Tip 1 Ağız Kokusu ile Ağızda Kandida Kolonizasyonu Arasında İlişki Var mı? Bulletin of Microbiology; 2019, 53(2):192-203 Doi No: 10.5578/mb.67759

Bu bir taslak kopyadır orjinaliyle aynı olmayabilir.

Orijinal yayını bilgisayarınıza indirmek için [burayı tıklayınız](#)

ÖZ:

Patolojik ağız kokusu sırasıyla oral, hava yolu, gastroözofageal, kan kaynaklı ve subjektif ağız kokusu olarak 5 tiptir. Tip 1 (oral) ağız kokusu, çoğunlukla dil sırtı ve ağız mukozası yüzeylerindeki anaerob bakteriyel aktivitelerden köken alır. Anaerob bakteri faaliyetlerinin rolü açıkça gösterilmiştir fakat, çok sayıda anektodal iddia bulunmasına rağmen, ağız kokusu hastalarında *Candida*'nın rolü yeterli bir şekilde araştırılmamıştır. Bu çalışmada, toplam 136 katılımcı iki gruba ayrıldı. Çalışma grubu, kendisi veya sosyal çevresi tarafından ağız kokusu bulunduğu beyan edilen ve ağız içerisinde halitometrik olarak en az 0.7 ppm H₂S gaz konsantrasyonu tespit edilen 69 hastadan oluştu. 67 sağlıklı birey kontrol grubunu oluşturdu. Katılımcıların kendi ağız kokusunu skorlama puanları, tükürük örneklerindeki *Candida* koloni sayısı, ağız havasında bulunan NH₃, SO₂, H₂S, H₂ ve uçucu organik gazların konsantrasyonları taşınabilen çoklu gaz dedektörü ile tespit edildi. Hastaların H₂S üretme kapasitesi sistein meydan okuma testi uygulanarak ölçüldü. Ağız kokusu bulunan ve bulunmayan bireylerin tükürük örneklerinden elde edilen *Candida* türlerinin buyyon kültürleri yapıldı. *Candida* hücrelerinin buldukları ortama hangi kokuları yaydığını tespit etmek amacı ile, besiyerinin bulunduğu erlenmayerin hava boşluğundan gaz ölçümleri yapıldı ve elde edilen değerler kendi aralarında ve ağızdakilerle karşılaştırıldı. Çalışma grubunda *Candida* pozitifliği % 44.9 iken kontrol grubunda % 46.3 olarak bulundu. En sık rastlanan tür, *C. albicans* olmuştur. *Candida* üremesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p = 0.561$). Oral gaz konsantrasyonları her iki grupta da benzerdi ($p < 0.05$). Oral H₂S konsantrasyonu, ağız kokusu olan hastalarda 20 mM sistein gargara yapmak ile 9.65 kat artarken, ağız kokusu şikayeti bulunmayanlarda 5.8 kat artmıştır. Bu parametre ağız kokusu üretim kapasitesi olarak kaydedilmiştir. Her katılımcının kendi hissettiği ağız kokusu için kendini değerlendirme skoru klinik işaretlerle iyi bir uyum göstermiştir ($p = 0.001$, $r = 0.8$). Besi yeri içerisinde bütün *Candida* kültürlerinde H₂ ve organik gaz konsantrasyonları artmış olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *Candida* varlığı ile ağız kokusu arasında bir ilişki saptanmamıştır. Sonuç olarak; Ağız kokusu tedavisinde *Candida* diyetine benzer diyetlere gerek yoktur, Öte yandan, sistein meydan okuma testi yararlı bir teşhis aracı olabilir. Taşınabilen çoklu gaz dedektörleri ağız kokusu ölçmek için uygun ve pratik bir halitometre olarak kullanılabilir.

Anahtar sözcükler: *Candida*, Ağız kokusu, hidrojen sülfid, Nefes testi

[English copy of the manuscript](#)

Bu bir taslak kopyadır orijinaliyle aynı olmayabilir.

Orijinal yayını bilgisayarınıza indirmek için [burayı tıklayınız](#)

GİRİŞ

Ağız kokusu, endojen olarak üretilen ve oral, nazal veya alveoler yollarla vücuttan dışarı yayılan kötü kokudur. Etiyolojik olarak tip 0 (fizyolojik), tip 1 (oral), tip 2 (hava yolu), tip 3 (gastroözofageal), tip 4 (kan kaynaklı) ve tip 5 (subjektif) ağız kokusu olarak sınıflandırılır.¹

Tip 1 ağız kokusu vakalarının yaklaşık % 80-90'ı ağız boşluğundan köken alır ve amino asitler gibi substratları parçalayarak aromatik bileşikler üreten oral bakterilere bağlıdır.² Ortaya çıkan kokulu gazların içerisinde organik ve azotlu gazların yanında³⁻⁵, en baskın olan çoğunlukla uçucu sülfürler ve özellikle hidrojen sülfür (H₂S) gazıdır.^{6,7} Bu sebeple H₂S gazı, tip 1 ağız kokusunu temsil etmek için yeterli görülmüştür. Literatürde oral anaerob bakterilerin H₂S gazını üretme mekanizmaları gayet doyurucu şekilde açıklanmıştır.⁸⁻¹⁰ Bununla birlikte, ağız mikrobiyotasının doğal üyesi olan *Candida*'ların H₂S veya diğer ağız kokusu gazlarını üretmede rolü sınırlı bir şekilde araştırılmıştır.

Literatürde yeralan bazı çalışmalarda, ağız kokusu olan veya olmayan olgularda ağızdaki *Candida* türleri ve sülfürlü gazların konsantrasyonları karşılaştırılmış, metil merkaptan haricinde diğer kükürtlü gazlar (H₂S, H₂(CH₃)₂) ile ağızdaki *Candida* koloni sayısı arasında ilişkili bulunamamıştır.¹¹ Bu ve buna benzer yayınlarda sadece 3 tane kükürtlü gaz incelenmiştir, organik veya nitrojen bazlı ağız kokusu gazları ve diğer kükürtlü gazlar araştırılmamıştır. Halbuki ağız kokusu sadece 3 tane kükürtlü gazdan ibaret değildir. Ağızdan 700, nefesten 3481 tane farklı gazın emisyonu olduğu belirtilmiştir.¹

Birçok web sitesi ve anekdotallı yayınlar, dil kaplaması ile kandidiyal plak arasındaki görsel benzerlik sebebi ile tip 1 ağız kokusunu sanki subklinik, kronik bir

oral kandidiyaz gibi görmekte, oral *Candida* lezyonları ve tip 1 ağız kokusu arasında potansiyel bir ilişki olduğunu iddia etmekte, hatta ağız kokusu tedavisine antifungal antibiyotikler eklenmesi teklif edilmekte, kandida diyeti adı altında karbonhidrat kısıtlı diyetler önermektedir. Yeterli kanıta dayanmayan ve yeterli bilim desteği bulunmayan hipotezler oldukları için bu kaynakların burada refere edilmesi mahzurludur. Ağız kokusu ile *Candida*'lar arasında böyle bir ilişki yok ise halk sağlığına aykırı uygulamaların durdurulması uygun olur. *Candida*-ağız kokusu ilişkisinin doğrulanması bu sebeple gereklidir.

Bu çalışmada, *Candida* türlerinin tip 1 ağız kokusundaki potansiyel rolünü belirlemek için ağız kokusu olan hastalarda oral *Candida* izolasyon sıklığı, sağlıklı bireylerdekiyle karşılaştırıldı. *Candida* ve/veya ağız kokusu bulunan ağızlarda hidrojen, kükürtlü, azotlu, organik gazların konsantrasyonları karşılaştırıldı. Ek olarak, katılımcıların kendi ağız kokusunu skorlama puanı ve sistein testinin, ağız kokusu muayenesinde bir tanı aracı olarak uygunluğu incelendi. Bu çalışma, ağız kokusunun kükürtlü olmayan gazlarını da ele alan, ağız kokusu gazlarını en geniş skalada değerlendiren nadir çalışmalardan birisidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hasta grubu ve örnekler

Bu çalışmada toplam 136 katılımcı iki gruba ayrıldı. Çalışma grubu, ağız kokusu olan 69 hastadan (yaş ort. 34 (19-60); 51 kadın) ve kontrol grubundan 67 (yaş ort. 33 (22-62); 44 kadın) sağlıklı bireylerden oluşmuştur. Her katılımcı için bilgilendirilmiş onam alınarak, yaş, cinsiyet, tıbbi öykü, tütün kullanımı ve mevcut ilaçların bir listesi gibi bireysel veriler kaydedilmiştir. Çalışmadan dışlama kriterleri şunlardır: sistemik hastalıklar, hamilelik, menstürasyon, nazal ve faringeal enfeksiyon, sinonazal bozukluklar (nazal polipler, kronik

rinosinüzit, alerjik rinit, septum deviasyonu), solunum yolu enfeksiyonları (astım, malignite), tat ve koku bozuklukları, nörolojik ve psikiyatrik bozukluklar (epilepsi, şizofreni, depresyon, psikotik bozukluklar, sosyal fobi, obsesif veya sanrılı bozukluklar), metabolik ve endokrin bozuklukları (diabetes mellitus, karaciğer veya böbrek hastalıkları), gastrit, sabit veya hareketli herhangi bir diş protezi bulunması; son 1.5 aydan beri antibiyotik veya diğer antimikrobiyal (gargara, pastil, ağız yıkama suyu, macun, sprey vs) kullanmış olması, sigara veya alkol kullanıyor olmasıdır. Bu çalışma için, Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (2016-06-22).

Hastanın kendisinin veya sosyal çevresinin bireyin ağız kokusu bulunduğunu ifade etmesi, ölçülen ağız içi H₂S gazı konsantrasyonu 0.7 ppm'den yüksek bulunması Tip 1 ağız kokusu teşhisi koymak için yeterlidir.¹² Bu çalışmada, çalışma grubundaki tüm hastalar bu koşulları sağlayanlardan seçilmiştir. Öte yandan, tip 5 ağız kokusu şüpheli bireyler daha önce validasyonu yapılmış bir soru sistemi¹³ kullanılarak tespit edildi ve çalışmadan uzaklaştırıldı. Sonunda, Tip 2,3,4,5 ağız kokusu vakaları çalışma dışında tutularak grubun sadece Tip 1 ağız kokusu vakalarından oluşması temin edildi. Kontrol grubuna ağız kokusu dışında amaçlarla kliniğe müracaat etmiş, hiçbir ağız kokusu şikayeti bulunmayan ve ağız içi H₂S gazı konsantrasyonu 0.7 ppm den düşük olan bireyler dahil edildi.

Kendi ağız kokusunu skorlama:

Kendini değerlendirme veya sosyal çevrenin şikayeti ağız kokusu teşhisi için en değerli tanı ölçütleridir.¹⁴ Katılımcılardan kendi ağız kokularını 0 ile 5 arasında (0, hiç ağız kokusu yok; 5, şiddetli ağız kokusu) derecelendirmeleri istenmiştir. Her katılımcının cevabı ağız kokusu seviyesi (HL) olarak not edilmiştir.

Muayene protokolü:

Protokol üç adımdan oluşuyordu. İlk olarak, her iki grubun her bireyinden başlangıç ağız içi gaz konsantrasyonu ölçümü yapıldı. İkinci adımda, ağızda *Candida* varlığını ve sayısını tespit etmek için mikrobiyolojik muayene yapıldı. Üçüncü olarak, her bireye aşağıda anlatıldığı şekilde sistein meydan okuma testi uygulanmıştır.

Tüm ölçümler sabah 8:30 - 11:30 (öğle yemeğinden önce) ve en az 2 saat açlıkta kaydedildi.

1) Gaz ölçümü

Birey burundan nefes alırken, sol işaret parmağını sol molar dişler arasına yerleştirir ve hafifçe ısırır, böylece kesici dişleri arasında bir boşluk oluşur. Bu konum bireyin çevresi ile sosyal etkileşimde olduğu fizyolojik ağız pozisyonunu en iyi temsil eder.¹² Bu pozisyonda iken portatif çoklu gaz detektörünün (IBRID MX6 C526R311, IndSci) hava emme ucuna bağlı olan pipet ağız içerisine sokuldu ve oral gaz seviyeleri ölçüldü ve kaydedildi. Bu cihaz ve bu ağız kokusu ölçme yöntemi daha önce klinik çalışmalar için doğrulanmıştır.¹²

2) Mikrobiyolojik inceleme:

Başlangıç ağız kokusu gaz ölçümünden sonra 3 ml steril serum fizyolojik solüsyon ağıza verildi, bireyin 3 dakika boyunca gargara yapması istendi. İğne ucu çıkarılmış bir injektör dil altına yerleştirilerek bu solüsyon aspire edildi, vortekslendi, seri olarak seyreltildi ve BBL CHROMagar *Candida* selektif besiyerine (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) inoküle edildi, 5 gün süreyle 37 °C'de aerobik şartlarda inkübe edildi. Bu besi yerinde, *Candida* türlerini koloni renginden ayırmak mümkün olmaktadır. Üreticiye göre bu besi yerinin koloni rengine bakarak seçebildiği kandida türleri şöyledir: *Candida albicans* (açık yeşil), *C. tropicalis* (mor-mavi), *C. krusei* (mor

bulanık), *C. membranefaciens* ve *C. lisitaniae* (mavi- menekşe), *C. glabrata*, ve *C. parapsilosis* (krem-beyaz). Üreyen koloniler renklerine göre tiplendirildi, gerektiğinde identifikasyonda ileri yöntemler kullanıldı.

3) Sistein meydan okuma test protokolü ve H₂S üretim kapasitesinin tespiti:

Kleinberg tarafından tanımlanmış olan sistein meydan okuma testi¹⁵ ağıza sistein gargarası verip H₂S'den oluşan suni bir ağız kokusu ortaya çıkarmak şeklinde özetlenebilir. Oral bakteriler, sistein substratını sisteinaz enzimlerini kullanarak süratle H₂S 'e dönüştürür. Sistein gargarasından sonra kişinin üretebildiği maksimum H₂S konsantrasyonu bireyin H₂S üretim kapasitesine indekslidir.¹² Sistein yüklemesinden önce ve sonra oral H₂S konsantrasyonlarının oranı, hastanın H₂S üretim kapasitesini (HPC) temsil eder.

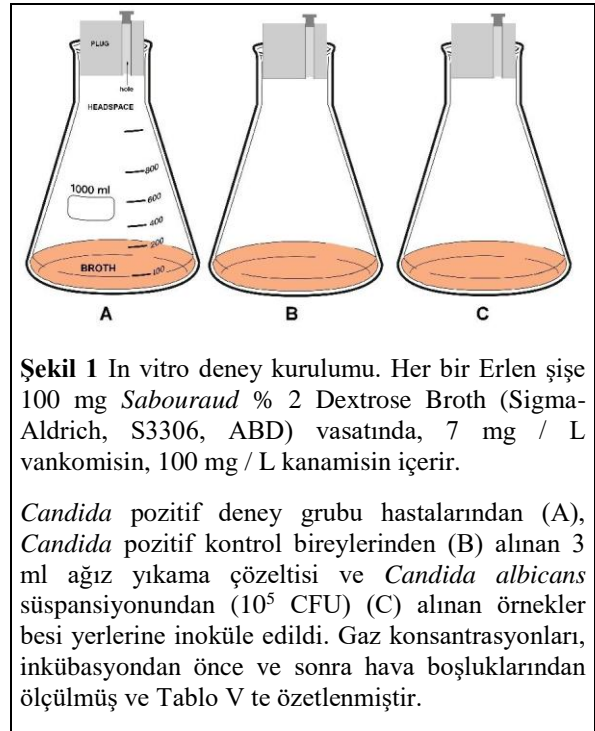
Daha önce tarif edilen modifiye edilmiş bir protokol¹² aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir: sistein yüklemesi ile H₂S üretmek için 20 mMol (2.43 g / L) L-Sistein (# 1,02839,0100, Merck) sulu çözeltisi kullanıldı. Sistein çözeltisi ağızda 30 saniye boyunca bekletildikten sonra, bireyin ağızındaki sıvıyı tükürmesi istendi. 3 dakika ağız kapalı olarak beklendi, sonra yukarıda açıklandığı gibi ağızda gaz tespiti gerçekleştirildi ve ölçülen değerler not edildi.

Her bir katılımcının ağızındaki başlangıçta elde edilen VOC, NH₃, SO₂, H₂S, H₂ gaz konsantrasyonları, kendi ölçümleri için kontrol verisi olarak kullanılmıştır.

İn vitro deney

Ağız kokusuna özgü olan kokuyu ve *Candida* ların ürettiği kokuyu karşılaştırabilmek amacı ile, kültür ortamında *Candida albicans* tarafından doğal olarak hangi gazların yayıldığını bilmek gerekir. Bu amaç ile ilave bir deney yapıldı.

Deney ve kontrol grubundan rastlantısal olarak seçilen 12 +12 toplam 24 tane kandida pozitif bireyin ağızından yukarıda anlatılan şekilde ağız yıkama suyu örnekleri alındı. Bu örnekler buyyona ekildi. Pozitif kontrol olarak kullanmak üzere önceden klinik olarak izole edilip saflaştırılmış ve stoklanmış *Candida* hücre süspansiyonundan (10⁵ CFU) 3 ml alınarak, 12 tane 100 ml buyyona inoküle edildi ve inkübe edildi. Kurulan düzenek Şekil 1'de açıklanmıştır.



Şekil 1 İn vitro deney kurulumu. Her bir Erlen şişe 100 mg Sabouraud % 2 Dextrose Broth (Sigma-Aldrich, S3306, ABD) vasatında, 7 mg / L vankomisin, 100 mg / L kanamisin içerir.

Candida pozitif deney grubu hastalarından (A), *Candida* pozitif kontrol bireylerinden (B) alınan 3 ml ağız yıkama çözeltisi ve *Candida albicans* süspansiyonundan (10⁵ CFU) (C) alınan örnekler besiyerlerine inoküle edildi. Gaz konsantrasyonları, inkübasyondan önce ve sonra hava boşluklarından ölçülmüş ve Tablo V te özetlenmiştir.

Erlen şişelerin lastik tıkaçları üzerinde bulunan delik, bir pamuk parçası ile sıkıca kapatıldı ve şişeler 37 °C de 3 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonunda lastik tıkaç üzerindeki delikten gaz aspirasyon pipeti gevşek olarak, erlen tüpün hava boşluğuna sokuldu. İnkübasyonun başında ve sonunda gaz detektörünün kültür ortamında kandidaların ürettiği gaz karışımını emerek okuması sağlandı. Okunan gaz konsantrasyonları toplam 36 besiyeri için not edildi.

İstatistiksel analiz

Candida büyümesinin ağız kokusu üzerine etkisi X2 testi ile analiz edildi. Uygulama öncesi / sonrası gaz konsantrasyonlarının dağılımı veya değişimi Wilcoxon Signed Ranks Test ile analiz edilmiştir. *Candida* büyümesinin kültür ortamında gaz profili üzerindeki etkisini tespit etmek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. %80 doğruluk çift yönlü %95 anlamlılık seviyesi için örnek büyüklüğü 130 olarak hesaplandı. İstatistik hesaplamalar için SPSS 15.0.0v kullanıldı.

BULGULAR

Ortalama HL, ağız kokusu hastaları için 3.26 (n = 69, SD = 1.27) ve kontrol grubu bireyler için 0.89 (n = 67, SD = 0.76) olarak hesaplandı. Grupların HL değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p = 0.001).

69 hastadan 31'i *Candida* pozitif (pozitiflik oranı:% 46.3). Bu 31 olgunun 21 tanesinde ağız içerisindeki *Candida* koloni sayısı 100 den az idi (veriler gösterilmemiştir). Tüm *Candida* pozitif vakaların % 75'inde tek başına ya da diğer *Candida* türleri ile kombine olarak *Candida albicans*'ın diğer kandidalara kıyasla daha baskın olduğu tespit edildi.

Tüm katılımcıların (n=136) altmış iki tanesinde (%44.9) ağız mikrobiyotasında kandida varlığı gösterildi. Bunların ancak yarısı (% 31. 5) ağız kokusu grubunda yer alıyordu.

		<i>Candida</i> üremesi		Toplam	P değeri
		var	Yok		
Halitosis	n	31	38	69	0.561
Grup	%	44.9%	55.1%	100.0%	
Kontrol	n	31	36	67	
Grup	%	46.3%	55.2%	100.0%	
Toplam	n	62	74	136	
	%	45.6%	54.4%	100.0%	

Tablo II İzole edilen *Candida* türlerinin gruplara dağılımı

İzole edilen türler	Koloni sayısı	
	Deney grubu (n=69)	Kontrol grup(n=67)
<i>C. albicans</i> (90.2%)	1942	2125
<i>C. tropicalis</i> (5.1%)	107	126
<i>C. glabrata</i> + <i>C. parapsilosis</i> (3.6%)	99	66
<i>C. krusei</i> (0.4%)	6	13
<i>C. membranefaciens</i> + <i>C. lisitaniae</i> (0.04%)	2	0
Diğerleri (0.4%)	0	20
Total	2156	2350

Tablo III Ağız kokusu hastalarının (n=69) ağızda başlangıçtaki gaz konsantrasyonları (ppm) (± SD)

Gazlar	<i>Candida</i> pozitif	<i>Candida</i> negatif	P değeri
VOC	1.481 (1.347)	2.316 (1.584)	0.223
NH ₃	3.903 (2.211)	3.132 (1.545)	0.093
SO ₂	0.000 (0)	0.005 (0.032)	0.370
H ₂ S	1.245 (1.440)	1.432 (1.563)	0.611
H ₂	11.097 (15.186)	10.158 (16.621)	0.809

Candida izolasyon sıklığına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p = 0.561) (Tablo I). Ağızdaki *Candida* varlığı ağız kokusu hastalarında gaz konsantrasyonlarını değiştirmede.

Her iki grup dahil olarak, sık izole edilen *Candida* türlerinin gruplar arasındaki dağılımı Tablo II'de görülmektedir. *Candida* türüne göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p> 0.05). Ağız kokusu grubundaki hastaların, *Candida* pozitif olanlarının ağızlarında başlangıçta ölçülen

gaz konsantrasyonları ile ağız kokusu olmayanları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. (Tablo III)

Tablo IV. Sistein meydan okuma testi ile oluşan ortalama gaz konsantrasyonu (ppm) değişimleri

Gazlar	Ağız kokusu grubu		Kontrol grubu	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
VOC*	1.941	1.548	1.248	0.845
NH ₃ *	3.478	2.551	0.851	0.627
SO ₂	0.003	0.0	0.0	0.0
H ₂ S*	1.348	13.019	0.587	3.457
H ₂ *	10.58	6.029	15.43	8.746

* , istatistik olarak anlamlı

Tablo V *Candida* hücrelerinin kültür ortamında besiyeri içerisine saldırdığı gazlar

Gazlar	Katılımcıların ağızlarından izole edilen <i>Candida</i> kültürü inkübasyondan önce → sonra		Stok suşun kültürü inkübasyondan önce → sonra
	Ağız kokusu grubu (n=12)	Kontrol grubu (n=12)	<i>Candida albicans</i> kültür (n=12)
VOC	0.283 → 1.017*	0.486 → 1.100*	0.450 → 0.892*
NH ₃	0.333 → 0.167	0.000 → 0.000	0.167 → 0.583
SO ₂	0.000 → 0.000	0.000 → 0.000	0.000 → 0.000
H ₂ S	0.217 → 0.100	0.000 → 0.000	0.000 → 0.000
H ₂	0.833 → 19.667*	1.286 → 23.857*	0.750 → 17.500*

* istatistik olarak anlamlı

Her iki grupta da sistein gargarası H₂S gazında yükselmeye neden olurken,

ağız boşluğundaki diğer gazlar (VOC, NH₃ ve H₂) düşme göstermiştir (p = 0.001), SO₂ konsantrasyonunda anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Tablo IV). Sistein gargarası ile, ağız kokusu bulunan grupta başlangıç H₂S konsantrasyonu ortalama 1.348 den ortalama 13.019 ppm değerine yükselmiş, HPC= 9.65 hesaplanmıştır. Kontrol grubu bireylerde sistein gargarası ağızaki H₂S konsantrasyonunda daha az artışa sebep olmuştur (ortalama 0.587 den 3.457 ppm, HPC = 5.8).

Sistein gargarası ile H₂S'nin ortalama artışı, ağız kokusu ve kontrol grubunda sırasıyla 11.6710 (n = 69; SD = 1.1167) ve 2.8701 (n = 67; SD = 1.270) ppm olarak hesaplandı, fakat diğer gazlar için artış tespit edilmedi.

In vitro bulgular

VOC ve H₂ gazları tüm *Candida* kültürlerinde (n = 36) anlamlı derecede yüksekti (p <0.016), ancak diğer gazlarda anlamlı değişimler tespit edilmedi (Tablo V).

Candida, kültür ortamına inkübe edildikten sonra, organik gaz konsantrasyonu 1.98 kat (0.45 ila 0.892 ppm), H₂ ise 23.3 kat (0.75 ila 17.5 ppm) artmıştır (p = 0.000). *Candida* pozitif / negatif bireylerin kültür ortamlarında veya kontrol kültüründe Erlen tüpün hava boşluklarının gaz profilleri arasında anlamlı bir fark yoktu. (Tablo V)

TARTIŞMA

Candida lar, oral mikrobiyotanın doğal üyesi olup, ağızdan en sık izole edilen kommensal ve fırsatçı maya mantarlarıdır.^{16,17} *C. albicans* % 66.70 oranı ile ağız boşluğundan en sık izole edilen tür olarak tıbbi öneme sahiptir. Diğer oral kandida türleri *C. glabrata* (% 11.71), *C. parapsilopsis* (% 10.74), *C. tropicalis* (% 9.19) ve *C. krusei* (% 1.15) şeklinde izole edilmiştir.¹⁸ Bu çalışmada, literatür bulgularına benzer şekilde *C. albicans*, en baskın (% 90.2) tür olarak bulunmuştur.

Çalışmada, mikrobiyolojik muayene materyali olarak dil yüzeyi kazıntısı kullanılmamıştır. Çünkü dil plağının kazınması sırasında alınacak mikroorganizma hücre sayısı, kazıyıcı alete uygulanan mekanik kuvvet ve toplanan plağın kuru ağırlığına indekslidir. El ile uygulanan kuvveti ve dil sırtından toplanan materyalin ağırlığını her vaka için standardize etmek, pratik uygulamada pek mümkün olmayabilirdi. Dil kazıma materyali kullanılsaydı her deneyde farklı miktarda plak örneği toplanması deneyin bireyler arası standardizasyonunu ve homojen örnekleme bozardı. Mikrobiyolojik muayene örneklerini ağız yıkama suyu ile elde etmek hem standardizasyon hem de uygulama kolaylığı sağlamıştır. Ağız yıkama suyu dahil olan mikroorganizma hücre sayısı plaktan ayrılan hücreler olduğuna göre, dil kazıma ve ağız yıkama suyu ile elde edilen mikrobiyolojik muayene örnekleri arasında *Candida* hücre sayısı bakımından bir paralellik bulunması kaçınılmazdır. Bu sebeple örnek alınırken ağız yıkama suyu tercih edilmiştir.

Candida-ağız kokusu ilişkisi

Candida pozitif örneklerin sadece% 44.9'u ağız kokusu grubuna girmektedir. Bu dağılım *Candida* ve ağız kokusu olgusu arasında bir bağlantı bulunmayabileceğini ifade eder. Eğer *Candida*'ların ağız kokusu yaptığı hipotezi doğru olsaydı *Candida* pozitif örneklerin çoğunluğunun ağız kokusu grubunda isabet etmesi beklenirdi. Öte yandan, kontrol bireylerinin % 46.3'ü *Candida* pozitif bulunmuştur. *Candida* izolasyon sıklığının her iki grup arasında dağılımı istatistiksel olarak farklı değildir. *Candida* izolasyonu ile ağız kokusu arasında net bir ilişki saptanmamıştır.

Önceki literatür çalışmalarında, ağız kokusu olan hastaların oral *Candida* izolasyon oranı % 28 bulunmuştur.^{11,19} Bazı kandida türlerinin yerleştiği ağızlarda metil merkaptan (MM) konsantrasyonunu daha yüksek bulan yayınlar vardır.¹¹ Fakat *Candida* negatif ve pozitif grup arasında

toplam sülfür gazı düzeylerinde farklılık bulunmamıştır. Bu çalışmada kullanılan MX6 gaz dedektörünün sensör konfigürasyonu, yüzlerce organik, azotlu ve kükürtlü (MM dahil) gazı tespit edebilecek özelliğe sahiptir. Katılımcıların ağız havasında eğer varsa MM gazı, bir VOC olarak PID sensörü tarafından algılanmış ve değerlendirilmiştir.

Sistein meydan okuma testi ve HPC

Sistein, basit bir amino asit olup, ağız boşluğunda bulunan oral bakteriler tarafından kolay bir enerji kaynağı olarak kullanılır. Oral kavitede sisteyinin H₂S e transformasyonu yaş, cinsiyet veya periodontal hastalığın mevcudiyetinden bağımsız, ancak pH'a ve sistein dozuna bağlı olan genel bir olgudur.⁶ Bu nedenle, Ağız kokusu çalışmalarında yaygın olarak sistein meydan okuma testi kullanılır.^{7,12,15,20,21}

Sistein, H₂S oluşumu için gargara olarak kullanıldığında her iki grupta da ağız içerisinde H₂S gazı konsantrasyonu keskin bir şekilde yükselmiştir. Ancak diğer gazların konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür. Bunun sebebi oral bakterilerin bolca buldukları sisteyini sindirmeye başlayıp diğer kaynakları (karbonhidratlar veya karmaşık proteinleri) sindirmekten vaz geçmeleridir. Bu sırada açığa çıkan H₂S gazı seviyesi bireyin mikrobiyotasını oluşturan bakteri profiline ve ağzın ekolojik yapılarına indekslidir, dolayısıyla, başlangıçtaki H₂S gazı konsantrasyonundaki artış, bireyin ağız kokusu üretim kapasitesi (HPC)ni yansıtır.¹² Ağız kokusu grubunda HPC nin değeri yüksek (9.65) fakat ağız kokusu bulunmayan grupta HPC nin değeri istatistiksel olarak anlamlı (p <0.05) bir seviyede daha düşük (5.88) tespit edilmiştir. İki grup arasında, HPC değerindeki artış farkı, ağız kokusu bulunan bireylerdeki oral ekolojik faktörlerin sisteyinden H₂S oluşturma potansiyelinin daha yüksek olduğu şeklinde değerlendirilebilir. Ağız kokusu grubunda ağız kokusunu başlatan oral

ekolojik unsurların, örneğin mikroorganizma profili, retantif yüzeyler, salyanın kuru veya yetersiz olması, kötü diş restorasyonları vs, sisteinden daha fazla H₂S üretilmesine sebep olması çok mümkündür.

Literatürde patolojik ağız kokusu için farklı değerlendirmeler ve halitometrik eşik değerler tartışılmıştır.²² Ağızdan bir defalık gaz ölçümü yapmak ve elde edilen değeri belirli bir aritmetik sınır değeriyle karşılaştırmak, ağız kokusu teşhisi koyabilmek için yeterli değildir²³⁻²⁵ üstelik böyle bir yaklaşım ağız kokusunun gün içinde dalgalanan doğası sebebi ile yanıltıcı olabilir.^{1,12} Ayrıca binlerce ağız kokusu gazından sadece bir tanesini veya birkaç tanesini ölçerek değerlendirmek teşhis için eksiktir. Bu sebeple hem kantitatif hem de güvenilir başka muayene metotlarına ihtiyaç vardır. HPC, anlık gaz değişimlerinden oldukça bağımsızdır ve ağız kokusu hastalarının muayenesinde bir teşhis testi olarak kullanılması mümkün görünmektedir. HPC değeri >9.65 bulunan bireylerin anlık oral H₂S konsantrasyonu aritmetik limitlerin altında bile olsa potansiyel bir ağız kokusu hastası olabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. HPC değeri <5.88 tespit edilen bireylerin anlık oral H₂S konsantrasyonu aritmetik limitlerin üzerinde bile olsa mevcut ağız kokusu şikayetlerinin geçici olabileceği veya ağız kokusunun sebebinin ağız dışı kaynaklı (tip 2,3,4,5) olabileceği akılda tutulmalıdır. Bu HPC değerlerinin sayısal büyüklüğünün başka çalışmalar ile doğrulanması makul olur. Toplumsal veya yöresel farklar göstermesi pek mümkündür.

Sınırlılıklar

Literatürde bulunan ağız kokusu çalışmalarının neredeyse tamamına yakın bölümünde kullanılan Halimeter (Interscan, Chatsworth, CA) isimli cihaz bir tane kükürtlü gaz (H₂S) ölçer, Oral Chroma (Abimedical Corporation, Osaka, Jp) isimli cihaz 3 tane kükürtlü gaz ((H₂S, HCH₃, H₂ (CH₃)₂) ölçer. Halbuki nefesten

3481 tane gaz emisyonu olduğu bildirilmiştir.¹ Eğer bu çalışmada yukarıda sayılan popüler cihazlar kullanılsaydı ağız kokusunun diğer gazları yok farz edilmiş olacaktı. Bu sebeple çoklu gaz ölçer cihaz olan MX6 kullanıldı. Çoklu gaz ölçerler birden fazla sensor içerirler ve gazları gruplar halinde ölçerler. Meşhur ve popüler markalara karşı daha üstündür. Örneğin bu çalışmada kullanılan MX6 cihazında bulunan photo ionization detector 116 tane volatil organik gazı ve bunların türevlerini ölçer ve ekranda tek bir sayı olarak skorlandırır. MX6 üzerinde toplam olarak 5 tane buna benzer sensor mevcuttur. MX6 başka ağız kokusu çalışmalarında¹² başarı ile kullanılmıştır, yüzlerce gazı okumasına rağmen teker-teker hangi kokulu gazların hangi konsantrasyonda emisyonu uğradığını kesin olarak söylemek mümkün olmamıştır.

Literatürde yer alan yayınlarda kükürtlü olmayan gazlar deneye dahil edilmediği için bu çalışmada elde edilen hidrojen, organik ve azotlu gazları literatür ile karşılaştırmak mümkün olmamıştır. Bu gazlar değerlendirilirken dil yüzeyi kaplaması ve periodontal hastalık parametrelerine bakılmamıştır.

Ağız kokusu seviyesi (Halitosis Level) parametresi:

Ağız kokusu uzun süren bazı hastaların bu durumdan haberdar olmamasına rağmen, anamnezin en belirleyici ve teşhise götüren sorusu, hastanın kendi ağız kokusunu veya çevresindekilerin hastanın ağız kokusunu değerlendirmesidir.²⁶ İnsan burnunun çok düşük eşik değerlerinde bile olsa sadece sülfürlü değil, aynı zamanda diğer kokulu gazları da koklayabilmesi ve tanımlayabildiği bilinir. Bu sebeple bireyin kendi burnu ile algıladığı koku teşhise götürdüğü halde cihazlar ile algılanan koku seviyesi ikinci derecede önemlidir.^{13,14} hatta yukarıda açıklanan sebeplerle halitometrik ölçümler tek başına teşhis değeri taşımaz.

Bu çalışmada HL, ağız kokusu açısından anlamlı bir belirteç ($p = 0.001$) olarak bulunmuştur. Ağız kokusunun teşhisinde kullanmak mümkün görünmektedir.

In vitro deney

Candida karbonhidratları enerji kaynağı olarak kullanır onlardan alkol ve organik gazlar üretir.²⁷ Basit veya aromatik hidrokarbonlar, aldehitler, ketonlar, alkoller, fenoller ve türevlerinden oluşan yaklaşık 250 civarında organik gaz ürettikleri tespit edilmiştir.^{28,29} Bu özellikleri, bu çalışmada neden *Candida* ların kültür ortamında yüksek konsantrasyonda VOC ve H₂ gazı tespit edildiğini açıklamaktadır. Bu invitro deney, farklı kaynaklardan (1- klinik izolat, 2- ağız kokusu bulunan 3- bulunmayan bireyin ağzından) izole edilen *Candida* türlerinin yaydığı gazları karşılaştırma fırsatı da vermiştir. Bu karşılaştırmada ağız kokusu bulunan bireylerin ağızlarından izole edilen *Candida* türlerinde daha fazla VOC ve H₂ gazı emisyonu tespit edilmiştir (Tablo.V). Bu tespit, *Candida* ların ağızdaki H₂ ve uçucu organik gazlara katkısı bulunduğunu düşündürür fakat ağız kokusunun tamamından sorumlu değildir. Eğer kandidalar organik gaz ürettiği için ağız kokusundan sorumlu olsalardı, *Candida* pozitif bireylerin ilk müracaatlarında yapılan başlangıç ölçümlerinde ağızlarında yüksek miktarda VOC ve H₂ gazı tespit edilmiş olması gerekirdi, ve *Candida* negatif bireylerin ağız kokusundan yakınımıyor olması gerekirdi.

SONUÇ

1. Oral *Candida* kolonizasyonu ve oral ağız kokusu arasında net bir ilişki bulunmamaktadır.
- 2- Ağız kokusu tedavisine antifungal ilaç veya mantar diyeti ilave edilmemelidir.
- 3- Bireyin kendi ağız kokusuna karar vermesi, klinik bulgularla iyi bir ilişki içerisinde.

4- Portatif çoklu gaz ölçer cihazlar daha geniş gaz gruplarını okuyabilmesi sebebi ile ağız kokusu muyenesinde kullanışlı cihazlardır Popüler halitometreler (Halimeter veya Oral Chroma) sadece kükürtlü gazları ölçebilmektedir, ağız kokusu teşhisi için yetersizdir.

5- Sistein meydan okuma testi, bireyin ağız kokusu üretim kapasitesini yansıtmaktadır.

KAYNAKLAR

1. [Aydin M](#) , Harvey-Woodworth CN. Halitosis: a new definition and classification. British Dental Journal 2014; 217: E1.
2. Tangerman A. Halitosis in medicine: a review. International Dental Journal 2002; 52:7-12.
3. Persson S, Edlund MB, Claesson R, Carlsson J. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. Oral Microbiol Immunol 1990; 5(4):195-201.
4. Morita M, Wang HL. Relationship between sulcular sulfide level and oral malodor in subjects with periodontal disease. J Periodontol 2001; 72:79-84.
5. Takeshita T, Suzuki N, Nakano Y, Yasui M, Yoneda M, Shimazaki Y, Hirofujii T, Yamashita Y. Discrimination of the oral microbiota associated with high hydrogen sulfide and methyl mercaptan production. Scientific Reports 2012; 2 : 215.
6. Waler SM. On the transformation of sulfur-containing amino acids and peptides to volatile sulfur compounds (VSC) in the human mouth. Eur J Oral Sci 1997;105(2):534-7.
7. Thrane PS, Jonski G, Houg A. Comparative effects of various commercially available mouth rinse formulations on halitosis. Dental Health 2010;49(1):5-10.
8. Khalid TY, Saad S, Greenman J, Costello BL, Probert CSJ, Ratcliffe NM. Volatiles from oral anaerobes confounding breath biomarker discovery. J. Breath Res 2013;7: 017114.
9. Donaldson AC, McKenzie D, Riggio MP, Hodge PJ, Rolph E, Flanagan A, Bagg J. Microbiological culture analysis of the tongue anaerobic microflora in subjects with and without halitosis. Oral Diseases 2005; 11 (1): 61–63.
10. Seerangaiyan K, Winkelhoff AJV, Harmsen HJM, Rossen JWA, Winkel EG. The tongue microbiome in healthy subjects and

patients with intra-oral halitosis. *J Breath Res* 2017, 11(2): 036010

11. Koga C, Yoneda M, Nakayama K, Yokoue S, Haraga M, Oie T, Suga A, Okada F, Matsuura M, Tsue F, Suzuki N, Hirofuji T. The Detection of *Candida* Species in Patients with Halitosis. *Int J Dent* 2014;2014:857647.

12. [Aydin M](#), Özen ME, Kirbiyik U, Evlice B, Ferguson M, Uzel I. A new measurement protocol to differentiate sources of halitosis. *Acta Odontol Scand* 2016, 11:1-5.

13. [Aydin M](#), Derici MC, Yeler DY, Eren MO. Criteria to distinguish subjective halitosis. *Compend Contin Educ Dent* 2017;38(10):e5-e8

14. [Aydin M](#), Bollen CM, Özen ME. Diagnostic Value of Halitosis Examination Methods. *Compend Contin Educ Dent* 2016; 37(3):174-178

15. Kleinberg I, Codipilly DM. Cystein challenge testing: a powerful tool for examining oral malodour processes and treatments in vivo. *International Dental Journal* 2002; 52: 221-228.

16. Vitkov L, Krautgartner WD, Hannig M. *Candida* attachment to oral epithelium. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17:60-64.

17. Cannon RD, Lyons KM, Chong K, Newsham-West K, Niimi K, Holmes AR. Adhesion of Yeast and Bacteria to Oral Surfaces. *Methods Mol Biol.* 2017;1537:165-190.

18. Ng KP, Kuan CS, Kaur H, Na SL, Atiya N, Velayuthan RD. *Candida* species epidemiology 2000-2013: a laboratory-based report. *Trop Med Int Health* 2015; 20(11):1447-1453.

19. Ben-Aryeh H, Horowitz G, Nir D, Laufer D. Halitosis: an interdisciplinary approach. *Am J Otolaryngol* 1998; 19: 8–11.

20. Lopes RG, Godoy CHL, Deana AM, Santi MES, Prates RA, França CM, Fernandes KPS, Ferrari RAM, Bussadori SK. Photodynamic therapy as a novel treatment for halitosis in adolescents: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2014; 15:1-1.

21. Mota AC, Franca CM, Prates R, et al. Effect of photodynamic therapy for the treatment of halitosis in adolescents: a controlled, microbiological, clinical trial. *J Biophotonics* 2016; 9: 1337–1343.

22. Rösing CK, Loesche W. Halitosis: an overview of epidemiology, etiology and

clinical management. *Braz Oral Res* 2011; 25(5):466-471.

23. Rosengerg M. The science of bad breath. *Science American*, 2002; 285:72-79.

24. Çiçek Y, Orbak R, Tezel A, Orbak Z, Erciyas K. Effect of tongue brushing on oral malodor in adolescents. *Pediatrics International* 2003;45:719-723.

25. Faveri M, Hayacibara MF, Pupio GC, Cury JA, Tsuzuki CO, Hayacibara RM. A cross-over study on the effect of various therapeutic approaches to morning breath odour. *J Clin Periodontol* 2006; 33(8):555-60.

26. Özen ME, [Aydin M](#). Subjective halitosis: definition and classification. *J N J Dent Assoc* 2015; 86(4):20 -24.

27. Niel CB, Cohen AL. On the metabolism of *Candida albicans*. *Journal of Cellular and Comparative Physiology* 2005; 20(1): 95-102.

28. Morath SU, Hung R, Benett JW. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biology Reviews* 2012; 26:73-83.

29. Schlüter R, Schauer F. Biotransformation and Detoxification of Environmental Pollutants with Aromatic Structures by Yeasts Chapter in book *Yeast Diversity in Human Welfare*. Eds: Satyanarayana T, Kunze G Springer International Publishing AG. 2017 pp: 323-369