

# Tip 1 Ağız Kokusu ile Ağızda Kandida Kolonizasyonu Arasında İlişki Var mı?

## Is There Any Relation Between Type 1 Halitosis and Oral Candida Colonisation?

Murat AYDIN<sup>1</sup>, Mustafa Çağrı DERİCİ<sup>2</sup>, Yener ÜNAL<sup>3</sup>, Defne YELER<sup>4</sup>, Yusuf İslam DEMİR<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Serbest Diş Hekimi, Adana.

<sup>1</sup> Freelance Dentist, Adana, Turkey.

<sup>2</sup> Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak, Burun ve Boğaz Kliniği, Adana.

<sup>2</sup> Adana Numune Education and Research Hospital, Clinics of Ear, Nose and Throat, Adana, Turkey.

<sup>3</sup> Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik ve Bilgisayar Bilimleri Bölümü, Sivas.

<sup>3</sup> Cumhuriyet University Faculty of Science, Department of Statistics and Computer Sciences, Sivas, Turkey.

<sup>4</sup> Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Oral Maksillofasyal Radyoloji Anabilim Dalı, Sivas.

<sup>4</sup> Cumhuriyet University Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Radiology, Sivas, Turkey.

<sup>5</sup> Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Erzurum.

<sup>5</sup> Atatürk University Faculty of Dentistry, Erzurum, Turkey.

**Makale Atfı:** Aydın M, Dericı MÇ, Ünal Y, Yeler D, Demir Y. Tip 1 ağız kokusu ile ağızda kandida kolonizasyonu arasında ilişki var mı? Mikrobiyol Bul 2019;53(2):192-203.

### ÖZ

Patolojik ağız kokusu sırasıyla oral, hava yolu, gastroözofageal, kan kaynaklı ve subjektif ağız kokusu olarak beş tiptir. Tip 1 (oral) ağız kokusu, çoğunlukla dil sırtı ve ağız mukozası yüzeylerindeki anaerob bakteriyel aktivitelere 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, *Candida* ve ağız kokusu arasındaki ilişkisinin doğrulanması amaçlanmıştır. Çalışmaya iki gruba ayrılan toplam 136 kişi dahil edilmiştir. Çalışma grubu, kendisi veya sosyal çevresi tarafından ağız kokusu bulunduğu beyan edilen ve ağız içerisinde halitometrik olarak en az 0.7 ppm H<sub>2</sub>S gaz konsantrasyonu tespit edilen 69 hastadan oluşmuştur. Ayrıca, 67 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu çalışmaya alınmıştır. Araştırmaya katılan kişilerin kendi ağız kokusunu skorlama puanları, tükürük örneklerindeki *Candida* koloni sayısı, ağız havasında bulunan NH<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub> ve uçucu organik gazların konsantrasyonları taşınabilen çoklu gaz detektörü ile tespit edilmiştir. Hastaların H<sub>2</sub>S üretme kapasitesi sistein uyarım testi uygulanarak ölçülmüştür. Ağız kokusu bulunan ve bulunmayan bireylerin tükürük örneklerinden elde edilen *Candida* türlerinin buyyon içinde kültürleri yapılmıştır. *Candida* hücrelerinin buldukları ortama hangi kokuları yaydığını tespit etmek amacıyla besiyerinin bulunduğu erlenmayerin hava boşluğundan gaz ölçümleri yapılmıştır ve elde edilen değerler kendi aralarında ve ağızdakilerle karşılaştırılmıştır. Çalışma grubunda *Candida* pozitifliği %44.9 iken, kontrol grubunda %46.3 olarak bulunmuştur. En sık rastlanan tür, *Candida albicans* olmuştur. *Candida* üremesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p= 0.561). Oral gaz konsantrasyonlarının her iki grupta

**İletişim (Correspondence):** Dr. Diş Hekimi Murat Aydın, Reşatbey Mahallesi, Gazipaşa Bulvarı, Emre Apartmanı, No: 6/5 Adana, Türkiye. Tel (Phone): +090 322 453 6262, E-posta (E-mail): aydinmur@gmail.com

da benzer olduğu izlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Oral  $H_2S$  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 ( $p = 0.001$ ,  $r = 0.8$ ). Besiyeri içerisinde bütün *Candida* kültürlerinde  $H_2$  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 uyarım testi yararlı bir tanı aracı olabilir. Taşınabilen çoklu gaz dedektörleri ağız kokusu ölçmek için uygun ve pratik bir halitometre olarak kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** *Candida*; ağız kokusu; hidrojen sülfür; nefes testi.

## ABSTRACT

Pathologic halitosis has been classified into 5 types: oral, airway, gastroesophageal, blood-borne and subjective, respectively. Type 1 (oral) halitosis mostly takes origin from anaerobic bacterial activities on oral surfaces. The role of anaerobic bacterial activities is clearly demonstrated, but despite the large number of anecdotal claims, the role of *Candida* in patients with halitosis has not been adequately investigated. The aim of this study was to confirm the relationship between *Candida* and halitosis. A total of 136 subjects were enrolled and divided into two groups. The study group comprised of 69 patients with halitosis who had over 0.7 ppm  $H_2S$  concentration in their oral cavity and the control group comprised of 67 healthy subjects. Self assessment scores for halitosis, *Candida* colony counts in saliva samples, oral  $NH_3$ ,  $SO_2$ ,  $H_2S$ ,  $H_2$  and volatile organic gas concentrations were recorded.  $H_2S$  producing capacity of subjects was quantified by applying cysteine challenge test. *Candida* samples were taken from the mouths of the patients with and without halitosis, and *Candida albicans* isolates were inoculated into broth medium. After 3 days of incubation at 37°C, gas concentrations of the headspace of the flasks were read by a portable multigas detector. The rate of *Candida* positivity was 44.9% in the study group while it was 46.3% in the control group. There was no statistical significant difference between the groups according to the *Candida* growth ( $p = 0.561$ ). The oral gas concentrations were comparable in both groups ( $p < 0.05$ ). Oral  $H_2S$  concentration increased 9.65 fold with 20 mM cysteine rinse in patients with halitosis while it was increased 5.8 fold in controls. Self assesment for halitosis were well correlated with clinical signs ( $p = 0.001$ ,  $r = 0.8$ ). Concentrations of hydrogen and organic gases were found to be increased in all *Candida* culture media. In this study, no relationship between the presence of *Candida* and oral halitosis was detected. As a result, there is no need for diets similar to *Candida* diet in the treatment of halitosis. On the other hand, cysteine challenge can be a useful diagnostic tool. In addition, portable gas detectors can be used as a convenient and practical halitometer to quantify halitosis.

**Keywords:** *Candida*; halitosis; hydrogen sulfide; breath tests.

## 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<sup>1</sup>.

Tip 1 ağız kokusu olgularının yaklaşık %80-90'ı ağız boşluğundan köken alır ve aminoasitler gibi substratları parçalayarak aromatik bileşikler üreten oral bakterilere bağlıdır<sup>2</sup>. Ortaya çıkan kokulu gazların içerisinde organik ve azotlu gazların yanında<sup>3-5</sup>, en baskın olan çoğunlukla uçucu sülfürler ve özellikle hidrojen sülfür ( $H_2S$ ) gazıdır<sup>6,7</sup>. Bu sebeple  $H_2S$  gazı, tip 1 ağız kokusunu temsil etmek için yeterli görülmüştür. Literatürde oral anaerob bakterilerin  $H_2S$  gazını üretme mekanizmaları ayrıntılı şekilde açıklanmıştır<sup>8-10</sup>.

Bununla birlikte, ağız mikrobiyotasının doğal üyesi olan *Candida*'ların H<sub>2</sub>S veya diğer ağız kokusu gazlarını üretmede rolü sınırlı bir şekilde araştırılmıştır.

Literatürde yer alan bazı çalışmalarda, ağız kokusu olan veya olmayan olgularda ağızdaki *Candida* türleri ve sülfürlü gazların konsantrasyonları karşılaştırılmış, metil merkaptan haricinde diğer kükürtlü gazlar [H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] ile ağızdaki *Candida* koloni sayısı arasında ilişkili bulunamamıştır<sup>11</sup>. Bu ve buna benzer yayınlarda yalnız üç adet kükürtlü gaz incelenmiştir, organik veya nitrojen bazlı ağız kokusu gazları ve diğer kükürtlü gazlar araştırılmamıştır. Ağızdan 700, nefesten 3481 adet farklı gazın emisyonu olduğu belirtilmiştir<sup>1</sup>.

İnternet kaynaklı ve anektodal birçok yayın, 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 kanıtı dayanmayan ve yeterli bilim desteği bulunmayan hipotezler oldukları için bu kaynakların atfedilmesi mahzurludur. Ağız kokusu ile *Candida*'lar arasında böyle bir ilişki yok ise halk sağlığına aykırı uygulamaların durdurulması uygun olacaktır. *Candida* ve ağız kokusu arasındaki ilişkisinin doğrulanması bu nedenle gereklidir. Bu çalışmada, *Candida* ve ağız kokusu arasındaki ilişkinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu çalışma, ağız kokusunun kükürtlü olmayan gazlarını da ele alan, ağız kokusu gazlarını en geniş ölçekte değerlendiren nadir çalışmalardan birisidir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 26.06.2018 ve Karar No: 2018-06/22).

### Hasta Grubu ve Klinik Örnekler

Bu çalışmada toplam 136 kişi çalışmaya dahil edilerek iki gruba ayrıldı. Çalışma kapsamında yer alan çalışma grubu, ağız kokusu olan 69 hasta [yaş ortalaması 34 (yaş aralığı: 19-60); n= 51 kadın] ve 67 sağlıklı bireyi [yaş ortalaması 33 (yaş aralığı: 22-62); n= 44 kadın] kapsayan kontrol grubundan oluşturuldu. Her katılımcı için bilgilendirilmiş onam alınarak, yaş, cinsiyet, tıbbi öykü, tütün kullanımı ve mevcut ilaçların bir listesi gibi bireysel veriler kaydedildi. Çalışmadan dışlama kriterleri; sistemik hastalıklar, hamilelik, menstüasyon, nazal ve faringeal enfeksiyon, sinonazal bozukluklar (nazal polipler, kronik rinosinüzit, allerjik 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 vb.) kullanmış olması, sigara veya alkol kullanıyor olması şeklinde belirlendi.

Hastanın kendisinin veya sosyal çevresinin bireyin ağız kokusu bulunduğunu ifade etmesi, ölçülen ağız içi  $H_2S$  gazı konsantrasyonu 0.7 ppm'den yüksek bulunması tip 1 ağız kokusu olarak kabul edildi<sup>12</sup>. Çalışma grubundaki tüm hastalar bu koşulları sağlayanlardan seçildi. Öte yandan, tip 5 ağız kokusu şüpheli bireyler daha önce validasyonu yapılmış bir soru sistemi<sup>13</sup> kullanılarak tespit edildi ve çalışmadan uzaklaştırıldı. Sonunda, tip 2, 3, 4, 5 ağız kokusu olguları çalışma dışında tutularak grubun yalnız tip 1 ağız kokusu olgularından oluşması temin edildi. Kontrol grubuna ağız kokusu dışındaki amaçlarla kliniğe müracaat etmiş, hiçbir ağız kokusu şikayeti bulunmayan ve ağız içi  $H_2S$  gazı konsantrasyonu 0.7 ppm'den düşük olan bireyler dahil edildi.

### Bireylerin Kendi Ağız Kokusunu Puanlaması

Kendini değerlendirme veya sosyal çevrenin şikayeti ağız kokusu tanısı için tanı ölçütü olarak kabul edildi<sup>14</sup>. Katılımcılardan kendi ağız kokularını 0-5 arasında (0, hiç ağız kokusu yok; 5, şiddetli ağız kokusu) derecelendirmeleri istendi. Her katılımcının cevabı ağız kokusu seviyesi (HL) olarak not edildi.

### Muayene Protokolü

Protokol üç adımdan oluşturuldu. 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 değerlendirme yapıldı. Üçüncü olarak, her bireye aşağıda anlatıldığı şekilde sistein uyarım testi uygulandı.

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

**Gaz ölçümü:** Birey burundan nefes alırken, sol işaret parmağını sol molar dişler arasına yerleştirdi ve hafifçe ısırıldı, böylece kesici dişleri arasında bir boşluk oluştu. Bu konunun bireyin çevresi ile sosyal etkileşimde olduğu fizyolojik ağız pozisyonunu en iyi temsil ettiği kabul edildi<sup>12</sup>. 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<sup>12</sup>.

**Mikrobiyolojik inceleme:** Başlangıç ağız kokusu gaz ölçümünden sonra 3 ml steril serum fizyolojik solüsyon ağıza verildi, bireyin üç dakika boyunca gargara yapması istendi. İğne ucu çıkarılmış bir enjektör dil altına yerleştirilerek bu çözelti aspire edildi, vorteklenerek seri olarak seyreltildi ve BBL CHROMagar *Candida* seçici besiyerine (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) inoküle edildi. Besiyeri beş gün süreyle 37°C'de aerobik şartlarda inkübe edildi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda bu besiyerinde koloni rengine göre seçilen *Candida* türleri şöyledir: *Candida albicans* (açık yeşil), *Candida tropicalis* (mor-mavi), *Candida krusei* (mor bulanık), *Candida membranefaciens*, *Candida lisitaniae* (mavi-menekşe), *Candida glabrata* ve *Candida parapsilosis* (krem-beyaz). Üreyen koloniler renklerine göre tiplendirildikten sonra tanımlama için konvansiyonel yöntemler kullanıldı.

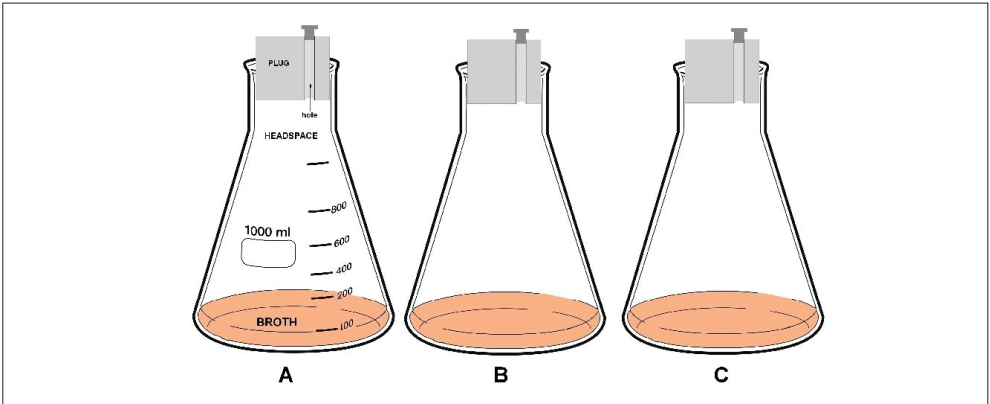
**Sistein uyarım test protokolü ve H<sub>2</sub>S üretim kapasitesinin tespiti:** Kleinberg ve Codipilly<sup>15</sup> tarafından tanımlanmış olan sistein uyarım testi, sistein gargarası verilmesinin ardından H<sub>2</sub>S'den oluşan suni bir ağız kokusu ortaya çıkarmaktadır.

Daha önce tarif edilen modifiye edilmiş protokol<sup>12</sup> aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi: Sistein yüklemesi ile H<sub>2</sub>S üretmek için 20 mMol (2.43 g/L) L-Sistein (# 1,02839,0100, Merck, Almanya) sulu çözeltisi kullanıldı. Sistein çözeltisi ağızda 30 saniye boyunca bekletildikten sonra, bireyin ağızındaki sıvıyı tükürmesi istendi. Üç dakika ağız kapalı olarak bekledi, sonra yukarıda açıklandığı gibi ağızda gaz tespiti gerçekleştirildi ve ölçülen değerler not edildi.

Her bir katılımcının ağızındaki başlangıçta elde edilen uçucu organik gazlar (VOC), NH<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub> gaz konsantrasyonları, kendi ölçümleri için kontrol verisi olarak kullanıldı.

### In Vitro Deney

Ağız kokusuna özgü olan koku ile *Candida*'ların ürettiği kokuyu karşılaştırabilmek amacıyla, kültür ortamında *C.albicans* tarafından doğal olarak hangi gazların yayıldığını göstermek amacıyla ek bir deney yapıldı. Bu deneyde, çalışma ve kontrol grubundan rastlantısal olarak 12'şer adet seçilen toplam 24 adet *Candida* pozitif bulunan bireyin ağızından yukarıda anlatılan şekilde ağız yıkama suyu örnekleri alınarak buyyona ekildi. Pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere önceden klinik olarak izole edilip saflaştırılmış ve stoklanmış *Candida* hücre süspansiyonundan (10<sup>5</sup> cfu/ml) 3 ml alınarak, 12 adet 100 ml buyyon içeren steril beher içerisine inoküle edildi. Kurulan düzenek Şekil 1'de açıklanmıştır.



**Şekil 1.** İn vitro deney kurulumu. Her bir Erlen şişe 100 mg Sabouraud %2 dektroz buyyon (Sigma-Aldrich, S3306, ABD) besiyerinde, 7 mg/L vankomisin, 100 mg/L kanamisin içermektedir. *Candida* pozitif deney grubu hastalarından (A), *Candida* pozitif kontrol bireylerinden (B) alınan 3 ml ağız yıkama çözeltisi ve *Candida albicans* süspansiyonundan (10<sup>5</sup> 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 üç 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 *Candida* izolatlarının ürettiği gaz karışımını emerek okuması sağlandı. Okunan gaz konsantrasyonları toplam 36 besiyeri için not edildi.

### İstatistiksel Analiz

*Candida* üremesinin ağız kokusu üzerine etkisi ki-kare testi ile analiz edildi. Uygulama öncesi/sonrası gaz konsantrasyonlarının dağılımı veya değişimi Wilcoxon eşleştirilmiş sıra testi ile analiz edildi. *Candida* üremesinin 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. İstatistiksel 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 hesaplanmıştır. Grupların HL değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p= 0.001). Altmış dokuz hastadan 31 (%46.3)'i *Candida* pozitif bulunmuştur. Bu 31 olgunun 21'inde ağız içerisindeki *Candida* koloni sayısı 100'den az olarak saptanmıştır (veriler gösterilmemiştir). Tüm *Candida* pozitif olguların %75'inde tek başına ya da diğer *Candida* türleri ile birlikte *C.albicans* tespit edilmiş ve diğer kandidalara kıyasla daha baskın tür olduğu belirlenmiştir.

Tüm katılımcıların (n= 136) 62 (%44.9)'sinde ağız mikrobiyotasında *Candida* varlığı gösterilmiştir. Bunların ancak yarısının (%31.5) ağız kokusu grubunda yer aldığı tespit edilmiştir.

*Candida* izolasyon sıklığına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p= 0.561) (Tablo I). Ağız kokusu olan hastalarda ağızda *Candida* varlığı halinde gaz konsantrasyonlarının değişmediği görülmüştür.

Her iki grup için, sık izole edilen *Candida* türlerinin gruplar arasındaki dağılımı Tablo II'de gösterilmiştir. *Candida* türüne göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p> 0.05). Ağız kokusu olan gruptaki hastalar arasında *Candida* pozitif olanlarının ağızlarında başlangıçta ölçülen gaz konsantrasyonları ile ağız kokusu olmayanlarınkı karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Tablo III).

Her iki grupta da sistin gargarası H<sub>2</sub>S gazında yükselmeye neden olurken, ağız boşluğundaki diğer gazlar (VOC, NH<sub>3</sub> ve H<sub>2</sub>) düşme göstermiştir (p= 0.001), SO<sub>2</sub> konsantrasyonunda anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Tablo IV). Sistein gargarası ile ağız kokusu saptanan grupta başlangıç H<sub>2</sub>S konsantrasyonu ortalama 1.348'den ortalama 13.019 ppm'e yükselmiş, HPC= 9.65 olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubu bireylerde gerçekleştirilen sistin gargarası ağızdaki H<sub>2</sub>S konsantrasyonunun daha az artmasına sebep olmuştur (ortalama 0.587'den 3.457 ppm'e artış, HPC= 5.8).

**Tablo I.** *Candida* İzolasyonunun Gruplar Arasındaki Dağılımı

	<i>Candida</i> üremesi		Toplam	p
	Var	Yok		
Halitozis grubu n (%)	31 (44.9)	38 (55.1)	69 (100.0)	0.561
Kontrol grubu n (%)	31 (46.3)	36 (55.2)	67 (100.0)	
Toplam n (%)	62 (45.6)	74 (54.4)	136 (100.0)	

**Tablo II.** İzole Edilen *Candida* Türlerinin Gruplara Dağılımı

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

**Tablo III.** Ağız Kokusu Hastalarının (n= 69) Ağızında Başlangıçtaki Gaz Konsantrasyonları (ppm) ( $\pm$  SD)

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

Sistein gargarası ile H<sub>2</sub>S'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 hesaplanırken diğer gazlar için artış tespit edilmemiştir.

VOC ve H<sub>2</sub> gazları tüm *Candida* kültürlerinde (n= 36) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p< 0.016), ancak diğer gazlarda anlamlı değişimler tespit edilmemiştir (Tablo V).

*Candida*, kültür ortamına inkübe edildikten sonra, organik gaz konsantrasyonu 1.98 kat (0.45-0.892 ppm), H<sub>2</sub> ise 23.3 kat (0.75-17.5 ppm) artmıştır (p= 0.000). *Candida*

**Tablo IV. Sistein Uyarım 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 <sub>3</sub> *	3.478	2.551	0.851	0.627
SO <sub>2</sub>	0.003	0.0	0.0	0.0
H <sub>2</sub> S*	1.348	13.019	0.587	3.457
H <sub>2</sub> *	10.58	6.029	15.43	8.746

\* İstatistiksel olarak anlamlı.

**Tablo V. Candida Hücrelerinin Kültür Ortamında Besiyeri İçerisine Saldığı Gazlar**

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

\* İstatistiksel olarak anlamlı.

pozitif/negatif bireylerin kültür ortamlarında veya kontrol kültüründe Erlen tüpün hava boşluklarının gaz profilleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo V).

## TARTIŞMA

*Candida*, oral mikrobiyotanın doğal üyesi olup, ağızdan en sık izole edilen komensal ve fırsatçı maya mantarlarıdır<sup>16,17</sup>. *C.albicans* %66.7 oranı ile ağız boşluğundan en sık izole edilen tür olarak tıbbi öneme sahiptir. Diğer oral *Candida* türleri *C.glabrata* (%11.71), *C.parapsilopsis* (%10.74), *C.tropicalis* (%9.19) ve *C.krusei* (%1.15) şeklinde izole edilmiştir<sup>18</sup>. Bu çalışmada, literatür bulgularına benzer şekilde *C.albicans*, en baskın (%90.2) tür olarak bulunmuştur.

Çalışmada, mikrobiyolojik örnek olarak dil yüzeyi kazıntısı kullanılmamıştır. Çünkü dil plağının kazınması sırasında alınacak mikroorganizma hücre sayısı, kazıyıcı alete uygulanan mekanik kuvvet ve toplanan plağın kuru ağırlığına bağlıdır. El ile uygulanan kuvveti ve dil sırtından toplanan materyalin ağırlığını her olgu için standardize etmek, pratik uygulamada pek mümkün olmamaktadır. Dil kazıma materyali kullanılması halinde her deneyde farklı miktarda plak örneği toplanması deneyin bireyler arası standardizasyonunu ve homojen örnekleme yapılmasını bozabilmektedir. Mikrobiyolojik test örneklerini ağız yıkama



suyu ile elde etmek hem standardizasyon hem de uygulama kolaylığı sağlamaktadır. Ağız yıkama suyuna dahil olan mikroorganizma hücre sayısı plaktan ayrılan hücreler olduğuna göre, dil kazıma ve ağız yıkama suyu ile elde edilen mikrobiyolojik test örnekleri arasında *Candida* hücre sayısı bakımından bir paralellik bulunması kaçınılmazdır. Bu nedenle çalışmamızda örnek alınırken ağız yıkama suyu tercih edilmiştir.

Çalışmamızda, *Candida* pozitif örneklerin %44.9'u ağız kokusu grubunda yer almaktadır. Bu dağılım *Candida* ve ağız kokusu olgusu arasında bir bağlantı bulunmayabileceğini ifade etmektedir. Eğer *Candida*'ların ağız kokusu yaptığı hipotezi doğru olsaydı *Candida* pozitif örneklerin çoğunluğunun ağız kokusu grubunda bulunması 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 hastalarda oral *Candida* izolasyon oranı %28 olarak bulunmuştur<sup>11,19</sup>. Bazı *Candida* türlerinin gözlemlendiği oral bölgede metil merkaptan (MM) konsantrasyonunu daha yüksek bulan yayınlar bulunmaktadır<sup>11</sup>. Çalışmamızda *Candida* negatif ve pozitif grup arasında toplam sülfür gazı düzeylerinde farklılık bulunmamıştır. Kullanılan MX6 gaz detektörünün sensör konfigürasyonu, yüzlerce organik, azotlu ve kükürlü (MM dahil) gazı tespit edebilecek özelliğe sahiptir. Katılımcıların ağız havasında eğer varsa MM gazı, bir VOC olarak PID sensörü tarafından algılanmış ve değerlendirilmiştir.

Sistein, basit bir aminoasit olup, ağız boşluğunda bulunan oral bakteriler tarafından kolayca kullanılabilen bir enerji kaynağıdır. Oral kavitede sisteinin H<sub>2</sub>S'ye transformasyonu yaş, cinsiyet veya periodontal hastalığın mevcudiyetinden bağımsız, ancak pH'a ve sistein dozuna bağlı olan genel bir durumdur<sup>6</sup>. Bu nedenle, ağız kokusu çalışmalarında yaygın olarak sistein uyarım testi kullanılmaktadır<sup>7,12,15,20,21</sup>.

Çalışmamızda, sistein, H<sub>2</sub>S oluşumu için gargara olarak kullanıldığında her iki grupta da ağız içerisinde H<sub>2</sub>S gazı konsantrasyonu keskin bir şekilde yükselmiştir. Ancak, diğer gazların konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür. Bunun nedeni, oral bakterilerin bolca buldukları sisteini sindirmeye başlayıp diğer kaynakları (karbonhidratlar veya karmaşık proteinleri) sindirmekten vazgeçmeleridir. Bu sırada açığa çıkan H<sub>2</sub>S gazı seviyesi bireyin mikrobiyotasını oluşturan bakteri profiline ve ağızın ekolojik yapılarına endekslidir, dolayısıyla, başlangıçtaki H<sub>2</sub>S gazı konsantrasyonundaki artış, bireyin ağız kokusu üretim kapasitesi (HPC)'ni yansıtmaktadır<sup>12</sup>. 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 sisteinden H<sub>2</sub>S oluşturma potansiyelinin daha yüksek olduğu şeklinde değerlendirilebilir. Ağız kokusu grubunda ağız kokusunu başlatan oral ekolojik unsurların, örneğin; mikroorganizma dağılımı, retantif yüzeyler, tükürüğün kuru veya yetersiz olması, kötü diş restorasyonları gibi sisteinden daha fazla H<sub>2</sub>S üretilmesine sebep olması yüksek seviyede mümkündür.

Literatürde patolojik ağız kokusu için farklı değerlendirmeler ve halitometrik eşik değerler tartışılmıştır<sup>22</sup>. Ağızdan bir defalık gaz ölçümü yapmak ve elde edilen değeri belirli bir aritmetik sınır değeriyle karşılaştırmak, ağız kokusu tanısı koyabilmek için yeterli değildir<sup>13-25</sup>. Üstelik böyle bir yaklaşım ağız kokusunun gün içinde değişiklik göstermesi nedeniyle yanıltıcı olabilir<sup>1,12</sup>. Ayrıca, binlerce ağız kokusu gazından yalnız bir tanesini veya birkaç tanesini ölçerek değerlendirmek tanı için eksiktir. Bu nedenle hem kantitatif hem de güvenilir başka muayene yöntemlerine gereksinim vardır. HPC, anlık gaz değişimlerinden oldukça bağımsız olup ağız kokusu hastalarının muayenesinde bir tanı testi olarak kullanılması da mümkün görünmektedir. HPC değeri > 9.65 bulunan bireylerin anlık oral H<sub>2</sub>S konsantrasyonu aritmetik limitlerin altında bile olsa potansiyel ağız kokusu hastası olabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. HPC değeri < 5.88 tespit edilen bireylerin anlık oral H<sub>2</sub>S konsantrasyonu aritmetik limitlerin üzerinde bile olsa mevcut ağız kokusu şikayetlerinin geçici olabileceği veya ağız kokusunun nedeninin ağız dışı kaynaklı (tip 2-5) olabileceği akılda tutulmalıdır. Bu HPC değerlerinin sayısal büyüklüğünün başka çalışmalar ile doğrulanması doğru bir yaklaşım olup bu değerlerin toplumsal veya yöresel farklar göstermesi fazlasıyla mümkündür.

Ağız kokusu ile ilişkili çalışmaların neredeyse tamamına yakın bölümünde kullanılan Halimeter (Interscan, Chatsworth, ABD) isimli cihaz kükürtlü gazlardan (H<sub>2</sub>S) birinin ölçümünü yapmaktadır. Oral Chroma (Abimedical Corporation, Osaka, Japonya) isimli cihaz ise üç adet kükürtlü gaz [H<sub>2</sub>S, HCH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub> (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] ölçmektedir. Oysa nefesten 3481 tane gaz emisyonu olduğu bildirilmiştir<sup>1</sup>. Eğer bu çalışmada yukarıda sayılan popüler cihazlar kullanılmış olsaydı ağız kokusunun diğer gazlarının tespiti mümkün olamayacaktı. Çoklu gaz ölçer cihazlar birden fazla sensör içermekte ve gazları gruplar halinde ölçmektedir. Popüler markalara karşı daha üstündürler. Örneğin bu çalışmada kullanılan MX6 cihazında bulunan "photo ionization detector" 116 adet volatil organik gazı ve bunların türevlerini ölçebilmekte ve ekranda tek bir sayı olarak ölçüm yapabilmektedir. MX6 üzerinde toplam olarak beş adet sensör mevcuttur. MX6 diğer bir ağız kokusu çalışmasında başarı ile kullanılmıştır<sup>12</sup> ancak yüzlerce gazı okumasına rağmen tek tek hangi koku içeren gazın hangi konsantrasyonda emisyonu uğradığını kesin olarak tespiti mümkün olmamıştır.

Literatürde yer alan yayınlarda kükürtlü olmayan gazlar çalışılmadığı için, çalışmamızda elde edilen hidrojen, organik ve azotlu gazları literatürde yer alan çalışmalar ile karşılaştırılamamıştır. Bu gazlar değerlendirilirken dil yüzeyi kaplaması ve periodontal hastalık parametrelerine bakılmamıştır.

Ağız kokusu uzun süren bazı hastaların bu durumun farkında olmamasına rağmen, hasta anamnezinin en belirleyici ve tanıya götüren sorusunun hastanın kendi ağız kokusu ile çevresindekilerin hastanın ağız kokusunu değerlendirmesi olduğu bilinmektedir<sup>26</sup>. İnsan burnunun çok düşük eşik değerlerinde bile olsa yalnız sülfür içeren değil, aynı zamanda diğer kokulu gazları da koklayıp tanımlayabildiği bilinmektedir. Bu nedenle bireyin kendi burnu ile algıladığı koku tanıya götürebilmekte, cihazlar ile algılanan koku seviyesi ikinci derecede önemlilik göstermektedir<sup>13,14</sup>. Bu yüzden, halitometrik ölçümler tek başına tanı değeri taşımamaktadır. Bu çalışmada kullanılan HL, ağız kokusu açısından anlamlı bir

belirteç olarak bulunmuştur ( $p= 0.001$ ). Ağız kokusunun tanısında kullanmak mümkün görünmektedir.

*Candida*, karbonhidratları enerji kaynağı olarak kullanarak, alkol ve organik gazlar üretir<sup>27</sup>. Basit veya aromatik hidrokarbonlar, aldehidler, ketonlar, alkoller, fenoller ve türevlerinden oluşan yaklaşık 250 civarında organik gaz ürettikleri tespit edilmiştir<sup>28,29</sup>. Bu özellikleri, bu çalışmada neden *Candida* izolatlarının kültür ortamında yüksek konsantrasyonda VOC ve H<sub>2</sub> gazı tespit edildiğini açıklamaktadır. Bu in vitro deney, klinik izolat, ağız kokusu bulunan ve bulunmayan birey gibi farklı kaynaklardan 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 H<sub>2</sub> gazı emisyonu tespit edilmiştir (Tablo V). Bu tespit, *Candida* izolatlarının ağızdaki H<sub>2</sub> ve uçucu organik gazların varlığına katkısı bulunduğunu düşündürmekle birlikte ağız kokusunun tamamından sorumlu değildir. Eğer *Candida* izolatları organik gaz ürettiği için ağız kokusundan sorumlu olsalardı, *Candida* pozitif bireylerin ilk müracaatlarında yapılan başlangıç ölçümlerinde ağızlarında yüksek miktarda VOC ve H<sub>2</sub> gazı tespit edilmiş olması ve *Candida* negatif bireylerin ağız kokusundan yakınmıyor olması gerekirdi.

Sonuç olarak, oral *Candida* kolonizasyonu ve oral ağız kokusu arasında net bir ilişki bulunmamaktadır. Ağız kokusu tedavisine antifungal ilaç veya mantar diyeti ilave edilmemelidir. Bireyin kendi ağız kokusuna karar vermesi, klinik bulgularla iyi bir ilişki içerisindedir. Portatif çoklu gaz ölçer cihazlar daha geniş gaz gruplarını okuyabilmesi nedeni ile ağız kokusu muayenesinde kullanışlı cihazlardır popüler halimetreler (Halimeter veya Oral Chroma) yalnız kükürtlü gazları ölçebilmektedir, ağız kokusu tanısı için yetersizdir. Sistein uyarım testi ise bireyin ağız kokusu üretim kapasitesini yansıtmaktadır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Aydin M, Harvey-Woodworth CN. Halitosis: a new definition and classification. Br Dent J 2014;217(1):E1.
2. Tangerman A. Halitosis in medicine: a review. Int Dent J 2002;52(Suppl 3):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(1):79-84.
5. Takeshita T, Suzuki N, Nakano Y, Yasui M, Yoneda M, Shimazaki Y, et al. Discrimination of the oral microbiota associated with high hydrogen sulfide and methyl mercaptan production. Sci Rep 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(1):017114.

9. Donaldson AC, McKenzie D, Riggio MP, Hodge PJ, Rolph E, Flanagan A, et al. Microbiological culture analysis of the tongue anaerobic microflora in subjects with and without halitosis. *Oral Diseases* 2005;11(1):61-3.
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, et al. The detection of *Candida* species in patients with halitosis. *Int J Dent* 2014;2014:857647.
12. Aydın 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. Aydın M, Derici MC, Yeler DY, Eren MO. Criteria to distinguish subjective halitosis. *Compend Contin Educ Dent* 2017;38(10):e5-8.
14. Aydın M, Bollen CM, Özen ME. Diagnostic Value of Halitosis Examination Methods. *Compend Contin Educ Dent* 2016; 37(3):174-8
15. Kleinberg I, Codipilly DM. Cysteine challenge testing: A powerful tool for examining oral malodour processes and treatments in vivo. *Int Dent J* 2002;52(Suppl 3):221-8.
16. Vitkov L, Krautgartner WD, Hannig M. *Candida* attachment to oral epithelium. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17(1):60-4.
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):1447-53.
19. Ben-Aryeh H, Horowitz G, Nir D, Laufer D. Halitosis: An interdisciplinary approach. *Am J Otolaryngol* 1998;19(1):8-11.
20. Lopes RG, Godoy CHL, Deana AM, Santi MES, Prates RA, França CM, et al. Photodynamic therapy as a novel treatment for halitosis in adolescents: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2014;15:1-1.
21. Costa de Mota AC, Franca CM, Prates R, Deana AM, Costa Santos L, Lopes Garcia L, et al. Effect of photodynamic therapy for the treatment of halitosis in adolescents: a controlled, microbiological, clinical trial. *J Biophotonics* 2016;9(11-12):1337-43.
22. Rösing CK, Loesche W. Halitosis: an overview of epidemiology, etiology and clinical management. *Braz Oral Res* 2011;25(5):466-71.
23. Rosengerg M. The science of bad breath. *Sci Am* 2002;286(4):72-9.
24. Çiçek Y, Orbak R, Tezel A, Orbak Z, Erciyas K. Effect of tongue brushing on oral malodor in adolescents. *Pediatrics International* 2003;45:719-23.
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, Aydın M. Subjective halitosis: definition and classification. *J N J Dent Assoc* 2015;86(4):20-4.
27. Niel CB, Cohen AL. On the metabolism of *Candida albicans*. *J Cell Comp Physiol* 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, pp: 323-69. In: Satyanarayana T, Kunze G (eds), *Yeast Diversity in Human Welfare*. 2017. Springer International Publishing AG.