



**BEBEKLİK DÖNEMİNDE ORAL MİKROFLORADA
GÖRÜLEN *STREPTOCOCCUS MUTANS*, *LACTOBACILLUS*
SPP., *CANDIDA SPP.*'NİN KOLONİZASYONUNUN VE
EBEVEYNDEN BEBEĞE GEÇİŞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zehra Beyza EREL

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

Dt. Zehra Beyza EREL

Pedodonti Anabilim Dalı
Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm DURUK

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDH-2017-963 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA

2019

İnönü Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Pedodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan Dt. Zehra Beyza EREL'in "Bebeklik Döneminde Oral

Mikroflorada Görülen *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida*

***spp.*'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması"**

konulu bu çalışması aşağıdaki jüri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

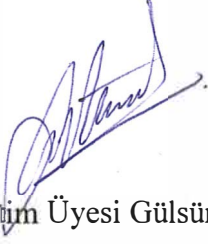
Tez Savunma Tarihi 29/04/2019



Prof. Dr. Meryem UZAMIŞ TEKÇİÇEK

Hacettepe Üniversitesi

Jüri Başkanı



Dr. Öğretim Üyesi Gülsüm DURUK

İnönü Üniversitesi (Tez Danışmanı)

Üye



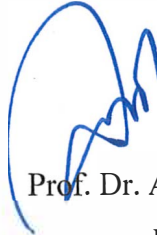
Dr. Öğretim Üyesi Sacide DUMAN

İnönü Üniversitesi

Üye

ONAY

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Alaadin POLAT

Dekan

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Oral Flora	2
2.1.1. Oral Floranın Kazanımı	3
2.2. Dental Plak.....	4
2.3. Tükürük.....	4
2.4. Diş Çürüğü.....	5
2.5. Çürük Mikroflorası	6
2.6. Oral Streptokoklar.....	6
2.6.1. Streptococcus Mitis Grubu	7
2.6.1.1. <i>Streptococcus sanguis</i>	7
2.6.2. <i>Streptococcus salivarius</i>	8
2.6.2.1. <i>Streptococcus vesitibularis</i>	8
2.6.3. Mutans Streptokokları Grubu (MS).....	8
2.6.3.1. <i>Streptococcus sobrinus</i>	10
2.6.3.2. <i>Streptococcus cricetus-S. rattus</i>	11
2.6.3.3. <i>Streptococcus ferus</i>	11
2.6.3.4. <i>Streptococcus macacae</i>	11
2.6.3.5. <i>Streptococcus downei</i>	12
2.6.3.6. <i>Streptococcus mutans</i>	12
2.7. <i>Lactobacillus</i> Türleri.....	15
2.8. <i>Candida</i> Türleri.....	18
2.9. Tükürükte Mikroorganizma Tespit Yöntemleri.....	20
2.9.1. Kültür Yöntemleri.....	20
2.9.1.1. Mutans Streptokok İçin Kültür Yöntemleri	20
2.9.1.2. <i>Lactobacillus</i> Türleri İçin Kültür ve Tespit Yöntemleri	21
2.9.1.3. <i>Candida</i> Türleri İçin Kültür ve Tespit Yöntemleri	22

2.9.2. Moleküler Yöntemler.....	23
2.9.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR).....	23
2.9.2.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism- RFLP).....	27
2.9.2.3. Değişken Alanlı Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE) ..	27
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Etik Kurul Onayı ve Gerekli Resmi İzinler	29
3.2. Örneklem Seçimi ve Örnek Toplanması.....	29
3.3. Laboratuvara Getirilen Örneklerin Saklanması	31
3.4. Örneklerden Mikroorganizmaların Kültürü, Kantitasyonu ve İdentifikasyonu.....	31
3.4.1. <i>Streptococcus mutans</i> Türleri İçin Kültür Ortamı	32
3.4.2. <i>Lactobacillus</i> Türleri İçin Kültür Ortamı.....	32
3.4.3. <i>Candida</i> Türleri İçin Kültür Ortamı.....	33
3.5. Direkt Örnekten PCR ile <i>Streptococcus mutans</i> Tespiti.....	34
3.5.1. Amplifikasyon Koşulları.....	35
3.5.2. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi .	36
3.6. Bebek ve Ebeveynlerden İzole Edilen Bakteri ve Mayalar Arasındaki Klonal İlişkinin Tespiti	37
3.6.1. PFGE ile Klonal İlişkinin Tespiti	37
3.6.2. AP-PCR ile <i>Candida albicans</i> İzolatları Arasındaki Klonal İlişkinin Tespiti.....	39
3.7. Çalışmanın Sonlandırılması.....	40
3.8. İstatistiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. <i>S. mutans</i> İçin Bulgular.....	45
4.2. <i>Lactobacillus</i> Türleri İçin Bulgular	53
4.3. <i>Candida</i> Türleri İçin Bulgular	61
4.4. <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> ve <i>Candida</i> Türlerinin Değerlerinin Birbiriyle İlişkisine Ait Bulgular.....	70
4.5. Klonal İlişki Bulguları	72
4.6. Diş Sürme Süreci ile İlgili Bulgular	75
5. TARTIŞMA.....	78
5.1. Materyal ve Metotların Tartışılması	78
5.2. Bulguların Tartışılması	80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89

KAYNAKLAR	91
EKLER.....	118
EK 1. Özgeçmiş Formu	118
EK 2. Etik Kurul Kararı.....	119
EK 3. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kararı	122
EK 4. Malatya İl Sağlık Müdürlüğü Kararı	123
EK 5. Etik Kurul Çalışma Merkezi Ekleme Kararı	124
EK 6. Hasta Bilgilendirme ve Onam Formu.....	125
EK 7. Anket Formu.....	129
EK 8. Ebeveynlerin Muayene ve Anket Formu	130



TEŞEKKÜR

Pedodonti uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışması sürecimde büyük bir sabır ve titizlikle bana yardımcı olan, benden fikir ve desteğini esirgemeyen, çok değerli danışman hocam Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm DURUK'a,

Pedodonti Anabilim Dalında asistanlığım sırasında, bilgisi, desteği, güler yüzüyle her ihtiyacım olduğunda yanımda olan değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar DEMİR'e,

Asistanlık sürecimin yarısında ablam yarısında hocam olan, bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım; desteğini ve sevgisini her zaman hissettiğim değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sacide DUMAN'a,

Tezimin laboratuvar aşamasının planlanması ve gerçekleştirilebilmesi sağlayan, bana her aşamada yol gösteren ve desteğini esirgemeyen değerli hocam İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof Dr. Barış OTLU'ya ve çalışma arkadaşlarına,

Tezim için yeterli gönüllü sayısına ulaşmama yardımcı olan İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Yenidoğan Servisi ve Malatya Eğitim Araştırma Hastanesi Yenidoğan Servisi yöneticilerine ve hekimlerine,

Uzmanlık eğitimim boyunca çok güzel hatıralar biriktirdiğim, iş arkadaşlığının ötesinde güzel dostluklar kurduğum, sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim değerli asistan arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim süresinde klinikte huzurlu çalışmamı sağlayan Pedodonti Anabilim Dalı'nda çalışmış tüm personellerimize,

Araştırmamın maddi giderlerini karşılayan ve TDH-2017-963 proje numarası ile destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatım boyunca nereye gidersem gideyim maddi manevi desteğini benden esirgemeyen, ihtiyacım olan her zaman yanımda olan, sevgilerini doyasıya hissettiren annem Emine EREL'e, babam Fatih EREL'e ve abim Mehmet Asım EREL'e

Teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Bebeklik Döneminde Oral Mikroflorada Görülen *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.*'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması

Amaç: Diş çürüğü bulaşıcı bir hastalıktır ve günümüzde çok erken yaşlarda görülmeye başlanmıştır. Oral mikrofloraya karyojenik mikroorganizmaların yerleşmesi diş çürüğünün önemli etkenlerinden biridir. Bu çalışmada karyojenik mikroorganizmaların bebeklik döneminde ilk ne zaman, hangi yollarla ve kimden geçtiğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Yenidoğan sağlıklı 47 bebekten doğumdan sonra ilk 24 saatte, birinci aylarını doldurduklarında ve ilk dişleri ağız içerisine sürdükten sonra oral sürüntü örnekleri alındı. Bebeklerin annelerinden ve 20 tanesinin babasından son görüşmede tükürük örnekleri alındı. Bebekler ve ebeveynlerinden izole edilen suşlar, birbiriyle klonal ilişki açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Bebeklerden ilk 24 saatte alınan örneklerden sadece 5'inde *C. albicans* görülmüştür. Birinci ayda 4 bebekte *Lactobacillus spp.*, 7 bebekte *Candida spp.* görülmüştür. Bebeklerin ilk diş sürdüğü dönemde 15 tanesinden *S. mutans*, 17 tanesinden *Lactobacillus spp.* ve 22 tanesinden *Candida spp.* izole edilmiştir. Anne ve bebeklerde görülen *S. mutans* suşlarının %80'i, *L. fermentum* suşlarının %78.5'i, *C. albicans* suşlarının %86.6'sı birbiriyle ilişkili bulunmuştur. Babalarla benzerlik düşük oranlarda görülmüştür.

Sonuç: Bebeklerde diş sürmesiyle beraber karyojenik mikroorganizmaların görülmeye başladığı ve bu mikroorganizmaların ağırlıklı olarak anneden geçtiği görülmüştür. Ailelerin kendileri ve çocukları için oral hijyen ve beslenme alışkanlıkları konusunda farkındalıklarının oluşturulmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Ailesel geçiş, *Candida*, *Lactobacillus*, *S. mutans*, yenidoğan

ABSTRACT

Investigation of Colonization of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.* and *Candida spp.* in Oral Microflora in Infancy and Transmission from the Parent to the Infant

Aim: Dental caries is an infectious disease and occurs at rather early age today. The placement of cariogenic microorganisms in oral microflora is one of the important factors in dental caries. The aim of this study is to research from whom, when and how the cariogenic microorganisms are first transmitted to the infant.

Material and Method: Oral swab samples were taken from 47 healthy infants within the first 24 hours after birth, at first month and the first tooth eruption. Saliva samples were taken from the mothers of the infants and from the fathers of 20 infants in the last meeting. The strains isolated from the infants and their parents were compared in terms of clonal interaction.

Results: The samples taken from the newborns within the first 24 hours revealed that only 5 newborns had *C. albicans*. In the first month, 4 infants had *Lactobacillus spp.* while 7 infants had *Candida spp.* At first tooth eruption, *S. mutans* was isolated from 15 infants, *Lactobacillus spp.* was isolated from 17 infants and *Candida spp.* was isolated from 22 infants. 80% of *S. mutans* strains seen in mothers and infants, 78.5% of *L. fermentum* strains and 86.6% of *C. albicans* strains were related to each other. The rate of similarity with fathers was found to be low.

Conclusion: Cariogenic microorganisms are observed in infants with the first tooth eruption and these microorganisms are generally transmitted from mothers. There is the need to raise awareness of the parents about oral hygiene and feeding habits for themselves and their children.

Keywords: Familial transmission, *Candida*, *Lactobacillus*, *S. mutans*, newborn

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
AP-PCR	: Arbitrarily Primed Polimerase Chain Reaction
bç	: Baz çifti
CFU	: Colony Forming Unit (Koloni oluşturan birim)
dATP	: Deoksiadenintrifosfat
dCTP	: Deoksisitozintrifosfat
dGTP	: Deoksiguanintrifosfat
dk	: Dakika
DMF-T	: Daimi dişler için çürüklü, kayıp, dolgulu diş sayısı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Dinükleotidtrifosfat
dTTP	: Deoksitimintrifosfat
EÇÇ	: Erken çocukluk çürüğü
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
g	: Gram
HCL	: Hidroklorik asit
HST	: Hücre süspansiyon tamponu
IPS	: İntrasellüler polisakkarit
kbç	: Kilobaz çifti
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
mM	: Mili Molar

ml	: Mililitre
MS	: Mutans streptokok
MSB	: Mitis Salivarius Bacitracin Agar
µm	: Mikrometre
µl	: Mikrolitre
Ort	: Ortalama
LB	: Lactobacillus
PCR	: Polimerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PFGE	: Pulsed Field Jel Elektroforezi
pH	: Ortamdaki hidrojen iyonlarının konsantrasyonu
RE	: Restriksiyon Endonükleaz
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
RNA	: Ribo Nükleik Asit
sa	: Saat
Sm	: <i>Streptococcus mutans</i>
spp	: Species (Türleri)
S.S.	: Standart Sapma
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TYCSB	: Trypticase-yeast-cysteine-sucrose-bacitracin agar

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No.	Sayfa No.
Tablo 2.1. Oral mikroflora üyeleri	2
Tablo 2.2. Oral streptokokların tanımlanmış türleri.....	7
Tablo 2.3. Mutans streptokokların ayırt edici özellikleri.....	9
Tablo 2.4. Mutans streptokokların biyokimyasal özellikleri	10
Tablo 2.5. Diş çürüklerinden izole edilen <i>Lactobacillus</i> türleri	17
Tablo 3.1. PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler	34
Tablo 4.1. Bebeklerin doğum ağırlığı minimum, maksimum ve ortalama değerleri	42
Tablo 4.2. Annelerin yaşlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri	43
Tablo 4.3. Ailelerdeki çocuk sayıları	43
Tablo 4.4. Anne ve babaların eğitim düzeyleri	43
Tablo 4.5. Anne ve babaların DMF-T değerleri	43
Tablo 4.6. Ebeveynlerin sabit/hareketli protez kullanma durumu	44
Tablo 4.7. Ebeveynlerin diş fırçalama alışkanlıkları	44
Tablo 4.8. Annelerin hamilelik dönemi bulguları.....	44
Tablo 4.9. Bebeklerden alınan ilk örneklerin toplanma zamanları	44
Tablo 4.10. Bebekler için yapılan anket formunun verileri	45
Tablo 4.11. Bebeklerden <i>S. mutans</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>S. mutans</i> değerleri.....	46
Tablo 4.12. Anne ve babalardan <i>S. mutans</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>S.</i> <i>mutans</i> değerleri.....	46
Tablo 4.13. Bebeklerden <i>S. mutans</i> izolasyonuna göre annelerin DMF-T değerleri	47
Tablo 4.14. Bebeklerden <i>S. mutans</i> izolasyonuna göre babaların DMF-T değerleri	47
Tablo 4.15. İlk dişleri sürdüğü dönem <i>S. mutans</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin ebeveynlerinin bulgularına göre değerlendirilmesi.....	48
Tablo 4.16. Cinsiyete göre <i>S. mutans</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>S. mutans</i> değerleri	48
Tablo 4.17. İlk dişleri sürdüğü dönem <i>S. mutans</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi.....	49
Tablo 4.18. Diş sayılarına göre <i>S. mutans</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>S. mutans</i> değerleri.....	50

Tablo 4.19. <i>S. mutans</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin, doğum kiloları ve annelerinin yaşıyla karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.20. <i>S. mutans</i> izolasyonuna göre günlük anne sütü alma sıklığı.....	50
Tablo 4.21. <i>S. mutans</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin anneleriyle ilişkisine göre değerlendirilmesi	51
Tablo 4.22. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeğin <i>S. mutans</i> değerleri	51
Tablo 4.23. Bebeklerden <i>Lactobacillus</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>Lactobacillus</i> değerleri.....	53
Tablo 4.24. 1. ay ve diş sürme dönemi arasındaki <i>Lactobacillus</i> artışı	53
Tablo 4.25. İzole edilen <i>Lactobacillus</i> türleri	53
Tablo 4.26. 1. ayda <i>Lactobacillus</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi.....	54
Tablo 4.27. Anne ve babalardan <i>Lactobacillus</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>Lactobacillus</i> değerleri.....	55
Tablo 4.28. Bebeklerden <i>Lactobacillus</i> izolasyonuna göre annelerin DMF-T değerleri	56
Tablo 4.29. Bebeklerden <i>Lactobacillus</i> izolasyonuna göre babaların DMF-T değerleri	56
Tablo 4.30. İlk dişleri sürdüğü dönem <i>Lactobacillus</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin ebeveynlerinin bulgularına göre değerlendirilmesi.....	57
Tablo 4.31. <i>Lactobacillus</i> izole edilen bebeklerin cinsiyete göre değerleri.....	58
Tablo 4.32. İlk dişleri sürdüğü dönem <i>Lactobacillus</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi.....	58
Tablo 4.33. Diş sayılarına göre <i>Lactobacillus</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>Lactobacillus</i> değerleri.....	59
Tablo 4.34. <i>Lactobacillus</i> izolasyonu ile bebeğin kilosu ve annelerinin yaşının karşılaştırılması	59
Tablo 4.35. <i>Lactobacillus</i> izolasyonuna göre günlük anne sütü alma sıklığı	60
Tablo 4.36. <i>Lactobacillus</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin anneleriyle ilişkisine göre değerlendirilmesi	60
Tablo 4.37. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeğin <i>Lactobacillus</i> değerleri	61

Tablo 4.38. Bebeklerden <i>Candida</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>Candida</i> değerleri	61
Tablo 4.39. Bebeklerin takiplerdeki <i>Candida</i> sayılarının karşılaştırılması.....	62
Tablo 4.40. İzole edilen <i>Candida</i> türleri	62
Tablo 4.41. Bebeklerden doğumdan sonraki ilk 24 saatte <i>Candida</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi	63
Tablo 4.42. 1. ayda <i>Candida</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi.....	64
Tablo 4.43. Anne ve babalardan <i>Candida</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>Candida</i> değerleri.....	65
Tablo 4.44. Bebeklerden <i>Candida</i> izolasyonuna göre annelerin DMF-T değerleri.....	66
Tablo 4.45. Bebeklerden <i>Candida</i> izolasyonuna göre babaların DMF-T değerleri.....	66
Tablo 4.46. İlk dişleri sürdüğü dönem <i>Candida</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin ebeveynlerinin bulgularına göre değerlendirilmesi.....	66
Tablo 4.47. <i>Candida</i> izole edilen bebeklerin cinsiyete göre değerleri.....	67
Tablo 4.48. İlk dişleri sürdüğü dönemde <i>Candida</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi.....	68
Tablo 4.49. Diş sayılarına göre <i>Candida</i> izole edilme oranları ve izole edilen <i>Candida</i> değerleri.....	68
Tablo 4.50. <i>Candida</i> izolasyonu ile bebeğin kilosu ve anne yaşının karşılaştırılması	69
Tablo 4.51. <i>Candida</i> izolasyonuna göre günlük anne sütü alma sıklığı	69
Tablo 4.52. <i>Candida</i> izole edilen ve edilmeyen bebeklerin anneleriyle ilişkisine göre değerlendirilmesi	69
Tablo 4.53. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin <i>Candida</i> değerleri	70
Tablo 4.54. <i>S. mutans</i> izole edilen bebeklerde <i>Lactobacillus</i> türlerinin görülme oranı	71
Tablo 4.55. <i>Lactobacillus</i> türleri izole edilen bebeklerde <i>S. mutans</i> görülme oranı	71
Tablo 4.56. <i>S. mutans</i> izole edilen bebeklerde <i>Candida</i> türlerinin görülme oranı.....	71
Tablo 4.57. <i>Candida</i> türleri izole edilen bebeklerde <i>S. mutans</i> görülme oranı.....	71
Tablo 4.58. <i>Lactobacillus</i> türleri izole edilen bebeklerde <i>Candida</i> türlerinin görülme oranı	72

Tablo 4.59. <i>Lactobacillus</i> türleri izole edilen bebeklerde <i>Candida</i> türlerinin görülme oranı	72
Tablo 4.60. Bebeklerden izole edilen <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> ve <i>Candida</i> sayılarının karşılaştırılması	72
Tablo 4.61. Anne ve babayla ilişkili bulunan izolatlar	73
Tablo 4.62. Anneyle ilişkili bulunan izolatların değerlendirilmesi.....	74
Tablo 4.63. Diş sürme sürecindeki semptomlar	75
Tablo 4.64. <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Candida spp.</i> izole edilen bebeklerde diş kaşiyıcı kullanma oranları	76
Tablo 4.65. <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Candida spp.</i> izole edilen bebeklerde topikal jel kullanma oranları	77



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No.</u>	<u>Sayfa No.</u>
Şekil 2.1. Çürükte etkili olan faktörleri gösteren Keyes diyagramı	5
Şekil 2.2. Polimeraz zincir reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi	25
Şekil 3.1. Steril eküvyon çubuk.....	30
Şekil 3.2. Bebeklerden örnek alınma dönemleri; 1. ay ve ilk dişlerin sürdüğü dönem.....	30
Şekil 3.3. Vida kapaklı tüpler ve steril toplama kapları	31
Şekil 3.4. TYCSB agar besiyerinde <i>S. mutans</i> kolonilerinin görüntüsü.....	32
Şekil 3.5. Ragoza agar besiyerinde <i>Lactobacillus</i> kolonilerinin görüntüsü	33
Şekil 3.6. Sabouraud agar besiyerinde <i>Candida</i> kolonilerinin görüntüsü	33
Şekil 3.7. Qiasymphony SP otomatize ekstraksiyon sistemi.....	35
Şekil 3.8. Thermal Cyclers, PCR Cihazı	35
Şekil 3.9. PCR ürünlerinin yürütüldüğü yatay elektroforez cihazı.....	36
Şekil 4.1. Bebeklerin cinsiyet dağılımı.....	42
Şekil 4.2. Bebeklerin doğum şekilleri	42
Şekil 4.3. Anne ve babalardan izole edilen <i>S. mutans</i> sayılarının grafik gösterimi	46
Şekil 4.4. Bebeklerin cinsiyete göre <i>S. mutans</i> sayılarının grafik gösterimi	49
Şekil 4.5. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin <i>S. mutans</i> değerlerinin frekans dağılımı	52
Şekil 4.6. <i>S. mutans</i> PCR agoroz jel elektroforez görüntüsü.....	52
Şekil 4.7. Anne ve babalardan izole edilen <i>Lactobacillus</i> sayılarının grafik gösterimi .	55
Şekil 4.8. Bebeklerin cinsiyete göre <i>Lactobacillus</i> sayılarının grafik gösterimi.....	58
Şekil 4.9. Annelerin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin <i>Lactobacillus</i> değerlerinin frekans dağılımı.....	61
Şekil 4.10. Anne ve babalardan izole edilen <i>Candida</i> sayılarının grafik gösterimi	65
Şekil 4.11. Bebeklerin cinsiyete göre <i>Candida</i> sayılarının grafik gösterimi.....	67
Şekil 4.12. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin <i>Lactobacillus</i> değerlerinin frekans dağılımı	70
Şekil 4.13. Cinsiyetlere göre diş sürme dönemleri.....	75
Şekil 4.14. Diş sürme sürecinde bebeklerde görülen semptomlar	76
Şekil 4.15. Bebeklerin diş kaşıtıcı kullanma oranları	76
Şekil 4.16. Annelerin oral hijyen bilgisi.....	77

1. GİRİŞ

Diş çürüğü; oral mikroorganizmaların diyet ile alınan rafine karbonhidratları fermente etmesi sonucu ortaya çıkan asidin, dişin inorganik ve organik dokularında meydana getirdiği lokalize yıkım olarak tanımlanmaktadır. Diş çürüğünün etiyojisinin temelinde konak, mikroflora, zaman ve rafine karbonhidrat sayılmaktadır (1).

Mutans streptokoklar (MS) ve *Lactobacillus*'lar (LB) diş çürüğü etiyojisinde en çok öne çıkan bakteriler olarak bilinmektedir (2, 3). Mutans streptokokların çürük oluşumunun başlamasıyla, *Lactobacillus*'ların ise çürüğün gelişimi ile ilişkili oldukları belirtilmektedir (2, 4) *Candida albicans*'ın da çürük gelişim sürecinde rol oynadığı ve şiddetli erken çocukluk çağı çürüğüyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (5-7).

Yenidoğanın ağız florasının ilk üyeleri, doğumdan kısa bir süre sonra kolonize olan *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus mitis*' tir. Bununla birlikte, *Veillonella alcalescens*, *Lactobacillus* ve *Candida albicans* doğumdan kısa süre sonra ağızda yer almaktadır. *Aktinomiçes* ve diğer anaeroblar ise aylar sonra izlenmektedir (8). *S. mutans*'ın tutunmak için sert yüzeylere ihtiyacının olduğu bu yüzden dişsiz ağızda görülmediği belirtilmiştir (9). Ancak anneler ile bebekleri arasındaki tükürük temasına bağlı olarak *S. mutans*'ın dişsiz dönemde de görüldüğü bildirilmektedir (10). Annelerin yanı sıra babaların ve diğer bireylerin de çocuklar için enfeksiyon kaynağı olabileceği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (11-13).

Bir bireyin çürük yapan mikroorganizmalarla erken tanışması, gelecekteki çürük deneyimi açısından belirleyicidir (14). Özellikle süt dişlenmenin hemen başında yaygın *S. mutans* varlığı, ağız içinde erken ve hızlı çürük oluşumunu tetiklemektedir. Erken dönemde enfekte olan çocukların, ilerleyen yaşlarda enfekte olmayanlara göre 6-8 kat daha çok çürüğe sahip oldukları bildirilmektedir (15). Bu yüzden çocukların erken yaşta enfekte olmalarının önüne geçilmesi koruyucu diş hekimliği için önemli bir adım olacaktır.

Yapılan bu çalışmada bebeklerin ilk 24 saat, 1. ay ve ilk diş ağza sürdüğü dönemde oral mukozasından alınan sürüntü örneklerinde çürük oluşumunda önemli rol oynayan *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* ve *Candida spp.*'nin kolonizasyon zamanını ve miktarını tespit etmek ve bu patojenlerin anne ve babadan genetik geçişini analiz etmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oral Flora

Oral kavite eşsiz bir ekosistemdir. Dişler, dişeti sulkusu, dil, yanaklar, sert ve yumuşak damak ve bademcikler dahil olmak üzere; kendine özgü, benzersiz geniş bir yaşam alanı içerir (8).

Vücudun dış yüzeyinin bir parçası sayılan ağız ortamı milyarlarca bakteri, mantar ve virüs tarafından kolonize edilir ve günümüzde bu ortam “oral mikrobiyom” olarak adlandırılır. Bu kommensal flora konakçı ile simbiyotik uyum içinde bulunur, ancak bu mikrobiyal denge bozulduğunda hastalıklar ortaya çıkar. Mikrobiyal dengenin hastalık lehine bozulmasına disbiyozis denir. İnsanlarda, çürükler ve periodontal hastalıklar da bu şekilde ortaya çıkar (8).

Son zamanlarda insan oral mikrobiyomunun yapısı, işlevi ve çeşitliliği ile ilgili yapılan çalışmalarda, oral mikrobiyomun bireye özgü olduğu açıkça gösterilmiştir (16). Sağlıklı bireylerin bile yerleşik oral floraları dikkate değer biçimde farklılık gösterir. Bu çeşitliliğin nedeni henüz anlaşılammış olsa da, diyet, çevre, konakçı genetiği ve erken mikrobiyal maruziyetin rol aldığı düşünülmektedir (8). Sağlıklı bireylerin oral mikroflora üyeleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (17).

Tablo 2.1. Oral mikroflora üyeleri

Gram pozitif		Gram negatif		
Kok	Çomak ve Filamanlar	Kok	Çomak ve Filamanlar	Spiraller
<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Branharnella</i>	<i>Actinobacillus</i>	<i>Treponema</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Aracnia</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Campylobacter</i>	
<i>Stomatococcus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Capnocytophaga</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>		<i>Centipeda</i>	
	<i>Eubacterium</i>		<i>Eikenella</i>	
	<i>Lactobacillus</i>		<i>Fusobacterium</i>	
	<i>Propionibacterium</i>		<i>Haemophilus</i>	
	<i>Rothia</i>		<i>Leptotrichia</i>	
			<i>Mitsuokella</i>	
			<i>Prevotella</i>	
			<i>Porphyromonas</i>	
			<i>Selenomonas</i>	
			<i>Simonsiella</i>	
			<i>Wollinella</i>	

2.1.1. Oral Floranın Kazanımı

Bebek ağızı genellikle annenin doğum kanalından alınan birkaç organizma dışında doğumda sterilidir. Birkaç saat sonra, annenin (ya da hemşirenin) ağızından veya çevreden gelen organizmalar ağızda yerleşmeye başlar. Her ne kadar organizmalar su, gıda ve diğer besleyici sıvılardan bebeğe bulaşabilse de, bulaşmanın ana yolu tükürük yoluylaadır. Bu öncü türler genellikle mukoza epiteline bağlanan streptokoklardır (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus oralis*). Öncü topluluğun metabolik aktivitesi diğer bakteriyel cinsler ve türler tarafından kolonizasyonun kolaylaştırılması için oral ortamı değiştirmektedir. Örneğin, *S salivarius*, sükrözden *Actinomyces* türleri gibi bakterilerin tutunabileceği ekstraselüler polimerler üretir (8).

Çocuk 1 yaşına geldiğinde oral flora genellikle *Streptococci*, *Staphylococci*, *Neisseria* ve *Veillonella* türleri gibi bazı gram-negatif anaeroblardan oluşur. Daha az sıklıkla *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Prevotella* ve *Fusobacterium* türleri de bu dönemde izole edilir (8).

Bebekte oral floranın bir sonraki değişimi; süt dişlerinin erüpsiyonuyla beraber mine, sement ve diş eti oluşunun bakteri kolonizasyonu için elverişli yüzeyler oluşturmasıyla başlar. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces spp*, *Lactobacillus* ve *Rothia* gibi gram pozitif bakteriler mine yüzeyinde kolonize olur. Buna karşılık anaerobik ortamları tercih eden, *Prevotella spp*, *Porphyromonas spp*, *Neisseria* ve *Capnocytophaga* gibi gram negatif organizmalar dişeti oluşuna kolonize olur (18, 19). Süt dişlerinin sürmeye başladığı dönemde tetiklenmekte olan bu mikroorganizmalar, süt dişi sayısının arttığı 19-31. aylar arasında ise en üst düzeye ulaşmaktadır (9, 20). Bu döneme “enfektivite penceresi” adı verilmektedir ve bebeklerin bu organizmaları enfekte bireylerden, özellikle de annelerinden kazandıkları düşünülmektedir (20, 21). 6-12 yaşlarında daimi dentisyonun tamamlanmaya başlamasıyla da “ikinci enfektivite penceresi” ortaya çıkmaktadır (22, 23).

Genç yetişkin döneminde oral flora daha kompleks ve yerleşik bir hal almaktadır. Ağız boşluğu nem, çok ve çeşitli besin alımı, 35-36 °C dolaylarında ısı, değişik oksijen basıncı gibi faktörlerle; aerop, fakültatif ve anaerop mikroorganizmaların üremesi için elverişli koşulların sağlandığı iyi bir etüv görevi görmektedir (24, 25).

2.2. Dental Plak

Dental biyofilm oluşumu birkaç aşamadan oluşan karmaşık bir süreçtir. İlk adım olan pelikül oluşumu konak ve bakteriyel moleküllerin diş yüzeyine adsorpsiyonuyla diş yüzeyinde oluşan ince bir tükürük tabakasıdır. Pelikül oluşumu, diş temizlendikten sonra saatler içinde başlar ve tükürük glikoproteinleri, fosfoproteinler, lipidler ve dişeti oluğu sıvısı bileşenlerinden oluşur. Ölü bakteri ve diğer mikrobiyal ürünlerin hücre duvarlarının kalıntıları (Glukosiltransferazlar ve glukanlar gibi) pelikülün bir parçasıdır. Bu aşama plak oluşumu için gereklidir, çünkü oral bakteriler mineralize diş yüzeyine doğrudan kolonize olamaz; başlangıçta pelikula yapışırlar. Tükürük molekülleri, diş yüzeyine bağlandıktan sonra, bakteri bağlanmasına yardımcı olacak ataşmanları açığa çıkarırlar ve diğer bakteriler yüzeye tutunmaya başlar (8).

Plak gelişimi, sakarozun iki ana komponenti olan glukoz ve fruktoza yıkımı ile ekstraselüler polimer zincirlerinin oluşumu ile devam eder. Polimerler bu komonomerlerin her birinden sentezlenir. Glukoz ve fruktoz zincirleri (glukan ve fruktan olarak adlandırılırlar) bakterilerin dişe ve birbirlerine yapışma yeteneğini daha da arttıran yapışkan jöle gibi maddelerdir (1).

Plak büyümeye devam ettikçe, erken dönem plak mikroflorasında bulunan gram-pozitif koklar ve kısa çomaklar artar. Plak daha olgun ve kompleks bir hale dönüşür ve zamanla diş yüzeyinin büyük bir bölümünü kaplar (26).

2.3. Tükürük

Oral kavitede bakteriler baskın organizma grubudur ve 500-700 civarı bakteri türünün veya filotipinin bulunduğu tahmin edilmektedir (8). Tükürük bu bakteriler için bir rezervuar görevi görmektedir (27).

Tükürük diş yüzeyindeki ulaşamadığı arayüzler ya da içine giremediği fissür bölgeleri hariç diş yüzeyinde fermente edilebilir karbonhidratlar nedeniyle oluşabilecek pH düşüşünü tamponlayabilmekte ve diş yüzeyindeki mineral kaybını belirli boyutlara kadar geri döndürebilmektedir (28).

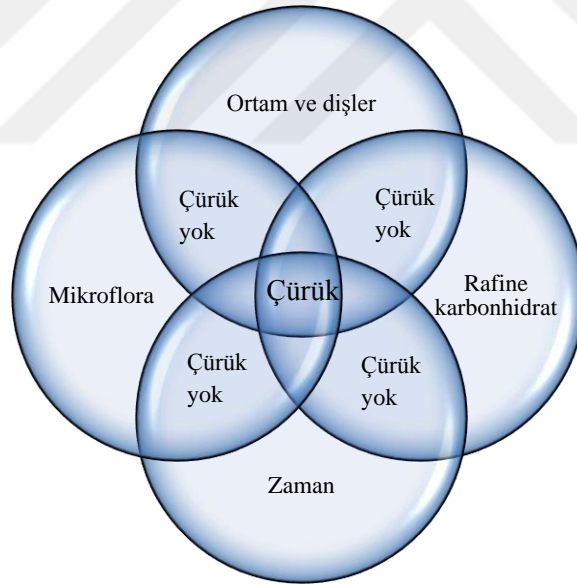
Tükürük mikroflorasında sayısı artan ve dental plağa tutunan bazı bakterilerin zamanla diş çürüğü ve periodontal hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir. Bu düşünce ilk olarak 19. yy'da diş hekimleri tarafından ortaya atılmıştır. Diş enfeksiyonlarının bakterilerin diş yüzeyine tutunduktan sonra sayılarının artması ve büyümesi nedeniyle

olduğu ve tedavinin bu büyümeı engellemeye yönelik olması gerektiği savunulmuştur. (29, 30).

2.4. Diş Çürüğü

Çürük; oral mikroorganizmaların rafine karbonhidratları kullanmasıyla başlayan bir diş sert doku hastalığıdır. İlk olarak dişin inorganik kısımlarının dekalsifikasyonu görülür. Bu süreç devam ederse dişin organik kısmının yıkımı da gerçekleşir. Çürük etkenleri özetle Keyes diyagramında gösterilmiştir (Şekil 2.1) (1).

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



Şekil 2.1. Çürükte etkili olan faktörleri gösteren Keyes diyagramı (1)

Plak bakterileri, rafine karbonhidratlardan laktik ve asetik asit üretir (31, 32). Mine yüzeyinin altında bu asitler ayrışır ve minedeki hidroksiapatit kristalleriyle reaksiyona girer. Bunun sonucu olarak diş sert dokularından kalsiyum ve fosfat iyonları çözünür. Bu çözünme paterni diş çürüğünün gelişimi açısından büyük öneme sahiptir ve bu olaya “deminerlizasyon” denir (28). Daha sonra öğünler veya atıştırmalıklar

arasında, plaktaki pH nötre dönerse kalsiyum ve fosfat iyonları dişe geri döner ve “remineralizasyon” meydana gelir (33-36).

2.5. Çürük Mikroflorası

Leeuwenhock tarafından 1683’te mikroskop altında ilk kez dental plakta mikroorganizma varlığı gözlenmiştir (37). 1924 yılında İngiltere’de bir çocuk dişindeki çürük lezyonundan *Streptococcus* izole edilmiş ve izole eden doktor J.K Clark tarafından bu bakteri *Streptococcus mutans* olarak adlandırılmıştır (38). 1960’larda Keyes ve arkadaşları diş çürüğünün bulaşıcı, enfeksiyöz bir hastalık olduğunu deney hayvanları üzerinde göstermişlerdir (39, 40).

Çürük etiyojisiyle ilgili ilk ortaya atılan hipotez non spesifik plak hipotezi olup, tüm plağın patojen olduğunu savunur. Bunun üzerine Loesche spesifik/alternatif plak hipotezini öne sürmüştü ve bu hipotezinde sadece hastalık varlığında plağın patojen kabul edilebileceğini savunmuştur (41, 42). Günümüzde geçerli olan ekolojik plak hipotezi ise lokal çevresel koşulların değişmesiyle oral mikrofloranın değişeceğini ve bunun sonucu olarak çürük oluştuğunu savunmaktadır (43).

Mutans streptokok ve *Lactobacillus*’lar asit üretebilen (asidojenik), asit ortamda yaşayabilen (asidürik) bakterilerdir ve çürükle ilişkili başlıca mikroorganizmalar olarak görülürler (2, 3). Mutans streptokoklar daha çok çürüğün başlamasıyla, *Lactobacillus* türleri kavite oluşmuş lezyonla ilişkilendirilir (2, 4).

2.6. Oral Streptokoklar

Streptokoklar, ağız mikroflorasının büyük bir çoğunluğunu oluştururlar (44). Yuvarlak veya oval şekilli 0.5-2 µm çapında kok türü bakterilerdir (45, 46). Oral streptokoklar 4 ana grupta incelenmektedir (47, 48). Bu gruplar Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Oral streptokokların tanımlanmış türleri

Grup Adı	Tür Adı
Streptococcus mutans grubu (Mutans streptokokları)	<i>S. mutans</i> , serotip c, e, f, k <i>S. sobrinus</i> , serotip d, g, h <i>S. cricetus</i> , serotip a <i>S. rattus</i> , serotip b <i>S. ferus</i> <i>S. macacae</i> <i>S. downei</i> , serotip h
Streptococcus salivarius grubu	<i>S. salivarius</i> <i>S. vestibularis</i>
Streptococcus anginosus grubu	<i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. anginosus</i>
Streptococcus mitis grubu	<i>S. sanguinis</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. parasanguinis</i> <i>S. oralis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. crista</i>

2.6.1. Streptococcus Mitis Grubu

1930-1940'larda Sherman ve arkadaşları, *S. salivarius* ve *S. mitis* ekolojisini ve özelliklerini gözden geçirmişlerdir. *S. mitis* grubunun biyokimyasal aktivitesinin benzersiz şekilde kendine ait özelliklerinin olduğunu fark etmişlerdir (49). *S. mitis* grubunun bazı üyelerinin arginin ve eskülünü hidrolize edebildiği ve salisin saldıdığı tespit edilmiştir. Bu özelliklere sahip streptokoklar daha sonra endokardit hastalarının kanlarından izole edilmiş ve bu yeni tür "*S. sanguis*" olarak adlandırılmıştır (50).

S. sanguis ve *S. mitis* normal ağız florasında bulunur. Bu yüzden diş plağı veya tükürük ile kontamine olmuş herhangi bir örnekte bulunabilirler. Her ikisi de endokardiyum için önemli patojenlerdir. Hem *S. sanguis* hem de *S. mitis* suşları glukan üretebilir (44). İkisi de kanlı agarda güçlü alfa hemolizine neden olur (51-53)

2.6.1.1. Streptococcus sanguis

S. sanguis, diş sürmesinden sonra doğrudan kolonileşir ve normal ağız florasında bulunur (54). *S. sanguis* ağız boşluğuna *S. mutans* 'lardan daha fazla dağılmıştır ve oral

streptokok türlerinden mine, plak ve vestibüler mukoza için en yüksek afiniteye sahip olandır (55).

S. sanguis'un düşük karyojenik potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Çünkü bu organizma ile *S. mutans* arasında ters bir ilişki bulunmuştur (56-58). *S. mutans* yer edinmekte *S.sanguis* ile rekabet halindedir. *S.sanguis*, diş yüzeyine yapışmak için *S. mutans*'dan daha etkindir ve daha hızlı yerleşir (59).

S. mutans ve *S. sanguis*'in tükürük seviyeleri, pürüzsüz yüzeylerin kolonileşmesinde önemli belirleyiciler olarak görünmektedir (60)

2.6.2. Streptococcus salivarius

Streptococcus salivarius doğumdan sonraki ilk günlerde ağızda kolonize olmaya başlar (61). Dil sırtı *S. salivarius*'ların baskın olduğu plak topluluğuna sahiptir (59)

S. salivarius sükrözden ekstrasellüler materyal olan levan üretir (49). Sükröz agarda geniş, uzun ve yumuşak bir viskoz yapıya sahip, kolay seçilebilir tipik koloniler oluşturur (44). *S. salivarius*'lar asetoin üretebilirler. Eskülünü hidrolize edebilir, ancak arginini hidrolize edemezler. Laktoz, rafinoz, trehaloz ve salisini fermente edebilirler (51-53, 62).

2.6.2.1. Streptococcus vesitibularis

S vestibularis yeni, oral, alfa hemolitik bir tür olarak tanımlanmıştır. Vestibüler mukozadan izole edilmiştir (63).

Bu suşlar *S salivarius* gibi eskülin, nişasta ve üreyi ayırır ve *S mitis* ve *S sanguis* gibi hidrojen peroksit üretirler. Fakat gluklan ve levan sentezleyemezler (44).

2.6.3. Mutans Streptokokları Grubu (MS)

1924 yılında, Clarke çürük lezyonlarından aldığı örnekte gram boyamada daha oval gözüken streptokoklar görmüş ve bunlara mutant anlamında *Streptococcus mutans* demiştir. Clarke diş çürüğü ve *S. mutans* arasındaki ilişkiyi anlamaya çalışmış, ancak dönemindeki diğer araştırmacılar ona destek olmamıştır (64). 1960'larda yapılmış hayvan çalışmalarında *S. mutans* diş çürüklerinden izole edilmiş ve tekrar gündeme gelmiş, bulaşıcı ve enfeksiyöz bir hastalık olduğu anlaşılmıştır (51, 65, 66). Yapılan

çalışmalarda *S. ferus* hariç tüm mutans streptokok türlerinin hayvanlarda karyojenik olduğu söylenmiştir (67, 68).

MS'ler, mannitolü ve sorbitolü fermente edebilir, sükrözdan hücre dışı glukan üretebilirler (28). Yapılan serolojik çalışmalarda, hücre duvarındaki karbonhidrat antijenlerine göre 8 serotipe ayrılırlar. Bunlardan řu ana kadar izole edilmiş olanlar da 7 türe ayrılır (28, 69, 70). Bu türler; *S. mutans* (serotip c, e, f), *S. cricetus* (serotip a), *S. rattus* (serotip b), *S. ferus-S. macacae* (serotip c), *S. sobrinus* (serotip d, g, h), *S. downei* (serotip h)'dir. İnsanda en fazla görülen %70-100 oranında *S. mutans*'ın c serotipidir. Bunu düşük oranlarda *S. sobrinus* takip eder (28). Yeni çalışmalarda *S. mutans*'ın yeni bir serotipi keşfedilmiş ve "serotip k" olarak adlandırılmıştır. İnsanlarda ağız boşluğunda mevcut olduğu tespit edilmiştir. Fagositoza karşı daha az duyarlı olduğu, bunun bir sonucu olarak da kanda daha uzun süre hayatta kalabildiği bildirilmiştir (71).

Okul öncesi çağındaki çocuklar arasındaki mutans streptokok prevalansı % 2.5 ile %13.7 arasında değişmektedir. Süt keser dişlerin sürmesiyle oral flora değişmektedir. Bu MS ile kolonizasyonun, ilk diş ıkmasından kısa bir süre sonra meydana geldiğini ve daha sonra sürmekte olan dişlere yayıldığını gösterir (72, 73).

Beyaz nokta lezyonlarından ve çürük başlangıcı görülen dişlerden alınan plak örneklerine bakıldığında MS ile diş çürüğü arasında önemli bir ilişki olduğu görülmüştür (56, 74-77).

Mutans streptokokların ayırt edici özellikleri ve biyokimyasal özellikleri Tablo 2.3 (28) ve Tablo 2.4 'te (28, 44, 78, 79) gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Mutans streptokokların ayırt edici özellikleri

	Serotip	Hücre duvarında bulunan polisakkaritler
<i>S. mutans</i>	c, e, f, k	Glukoz, rhamnoz
<i>S. sobrinus</i>	d, g, h	Glukoz, rhamnoz, galaktoz
<i>S. cricetus</i>	a	Rhamnoz, galaktoz, gliserol
<i>S. rattus</i>	b	Rhamnoz, glukoz, galaktoz
<i>S. ferus</i>	c	Tanımlanmamış
<i>S. macacae</i>	c	Tanımlanmamış
<i>S. downei</i>	h	Rhamnoz, glukoz

Tablo 2.4. Mutans streptokokların biyokimyasal özellikleri

	<i>S.mutans</i>	<i>S.ratus</i>	<i>S.sobrinus</i>	<i>S.cricetus</i>	<i>S.downei</i>	<i>S.macacae</i>	<i>S.ferus</i>
Havada üreme	Δ	Δ	Δ	Δ	+	Z	Δ
10°C de yaşama	-	-	-	-	B	B	-
45°C de yaşama	Δ	Δ	Δ	Δ	-	-	-
Hemoliz	γ	B	γ veya α	γ	B	α	B
Mannitol fermantasyonu	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol fermantasyonu	+	+	Δ	+	-	+	+
Raffinoz fermantasyonu	+	+	Δ	+	-	+	-
İnulin fermantasyonu	+	+	Δ	Δ	+	-	+
Melibioz fermantasyonu	Δ	+	-	B	B	B	B
Salicin fermantasyonu	+	+	-	+	+	B	+
Trehalose fermantasyonu	+	+		+	+	+	B
Arginin Hidroliz	-	+	-	-	-	-	-
Eskulin Hidroliz	+	+	Δ	Δ	-	+	+
Hidrojen Peroksit Üretimi	-	-	+	-	-	-	-
Basitrasin direnci	+	+	+	-	-	-	-

Δ, türün %11-89'u pozitif

+, türün %90 veya daha fazlası pozitif

-, türün %90 veya daha azı negatif

Z, zayıf üreme

B, belirlenemedi

α, alfa hemoliz, kan agarında yeşilimsi renk değişimi

γ, gama hemoliz, berraklık yok

Streptokokların yaşam alanlarının kısıtlı olması ve ağız dışında çok fazla ortamda yaşayamamaları enfeksiyonun kişiden kişiye geçişinde en önemli yolun tükürük yoluyla olduğunu düşündürmüştür (10). Eğer anneden çocuca bir geçiş varsa vertikal geçiş, ebeveyn hariç beraber yaşadığı insanlardan bir geçiş varsa horizontal (yatay) geçiş olarak adlandırılmaktadır (11).

Bebekte bakteri geçişi ev içinde anne, baba, bakıcı, kardeşler yoluyla ya da dışarıda kreş, yuva gibi uzun vakit geçirdiği yerler aracılığıyla da olabilmektedir (10-13, 80-82).

2.6.3.1. *Streptococcus sobrinus*

S. sobrinus hücreleri genellikle çiftler ve zincirlerde meydana gelen çapı 0.5 µm olan gram pozitif koklardır. Mannitol ve sorbitolu fermente edebilir; rafinoz ve

melibiozu edemezler. Sükrozdan adheziv olan glukan üretebilir. Ayrıca hidrojen peroksit de üretebilirler (83).

Hayvan çalışmalarında *S. sobrinus*'un karyojenik olduğu bildirilmiştir (28). İnsan dişlerinde de ara yüz çürüklerinde izole edildiklerine dair çalışmalar vardır (84, 85)

S. sobrinus'un yaşam alanı, insan dişlerinin yüzeyidir (70, 86). Yapılmış bir çalışmada diş sürmesiyle beraber en çok *S. mutans*, ikinci sırada *S. sobrinus* görüldüğü bildirilmiştir (28, 87). 18-20 yaş arası askerlerde yapılmış bir çalışmada da *S. mutans* hem çürüklü hem çürüksüz ağızlarda görülmüş, ancak *S. sobrinus* sadece çürüklü ağızlarda görülmüştür (84).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, *S. sobrinus*'un diş çürüğüyle yakından ilişkili olduğunu savunmaktadır (88-90).

2.6.3.2. *Streptococcus cricetus-S. rattus*

S. rattus (serotip b) ve *S. cricetus* (serotip a), sırasıyla laboratuvarında yetiştirilmiş sıçanlardan ve hamsterlerden izole edilmiş mutans streptokoklar türleridir (91). Nadiren insanda dental plaktan izole edilmişlerdir (79, 86, 92, 93). *S. rattus* ve *S. cricetus*'un hayvan modellerinde karyojenik olduğu bildirilmiştir (28). Rafinoz ve melibiozu fermente edebilirler. *S. rattus* arjinini hidroliz edebilir. Aerobik ortamda gelişirler ve basitresine duyarlı değildirler (44). *S. cricetus* diğer mutans türlerinden, basitrasine karşı duyarlı olmasıyla ayırt edilebilir (94).

2.6.3.3. *Streptococcus ferus*

S. ferus yabani sıçanlardan izole edilmiştir. Hücrelerinin çapı 0.5 µm olan gram pozitif koklardır. Çift veya zincirlerden meydana gelir. Mannitol ve sorbitol fermente edebilirler, ancak rafinozu fermente edemezler. Sükrozdan glukan üretebilirler ve basitresine duyarlıdır (83). *S. ferus* hariç bütün mutans streptokokların, hayvan modellerinde karyojenik olduğu görülmüştür (67).

2.6.3.4. *Streptococcus macacae*

Fenotipik özellikleri *S. mutans*'lardan farklı olduğu için ayrı bir tür olarak isimlendirilmiştir. Maymunlardan izole edilmiştir ve guanin ve sitozin içerir. *S. macacae*, *S. mutans*'lara çok benzer, ancak basitrasine karşı daha duyarlıdır (95).

2.6.3.5. *Streptococcus downei*

S. downei ilk önce maymunların (*Macaca fascicularis*) diş plağından izole edilmiş, başlangıçta *S. mutans* serotipi olarak tanımlanmıştır. (96) Daha sonra biyokimyasal testler, serotipleme ve DNA-DNA hibridizasyonu ile bağımsız bir tür olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Hücreleri gram pozitif, katalaz negatif kok hücreleridir. *S. downei* suşlarının, yüksek sükröz diyeti verilen bakterisiz sıçanlar için karyojenik olduğu ve maymunlardaki diş çürükleriyle ilişkili olduğu bulunmuştur (97). 2005 yılında yapılmış bir çalışmada, insan dental plağından izole edildiği bildirilmiştir (98).

2.6.3.6. *Streptococcus mutans*

Kapsamlı taksonomik çalışmalar, bu organizmaların homojen olmayan, hareketsiz, kapsülsüz, katalaz negatif, gram pozitif, çiftler ya da kısa-orta zincirler halinde, 0.5-0.75 µm çapında bir streptokok grubu oluşturduğunu göstermiştir (17, 51, 65, 66, 99-101). *S. mutans*, koyun kanlı agarı üzerinde çoğunlukla α veya γ hemolitik, ancak β hemolitik suşların da olduğu bildirilmiştir. *S. mutans* normal ağız ve boğaz florasının bir üyesidir. Aynı zamanda bakteriyel endokarditte izole edilir (44, 52, 53, 102, 103).

***S. mutans*'ın Metabolik Aktivitesi**

S. mutans glukoziltransferaz ve fruktoziltransferazın enzimatik etkisiyle sükrözden hücre dışı polisakaritleri, yani glukanları ve fruktanları sentezler. Bu polisakaritler, özellikle glukanlar diş plağı oluşumunda dolayısıyla diş çürüğünün patogeneğinde kritik öneme sahip olarak kabul edilir. Glukanlar suda çözünmez ve çeşitli katı yüzeylerde sentezlendiğinde yapışmayı artırma kabiliyetine sahiptir (79).

S. mutans türlerinin çoğu, *S. mutans*'ların patojenitesine katkıda bulunabilecek bir depo hücre içi polisakarit (IPS) üretmektedir (104-107). Depolanan IPS eksojen şeker yeterli olmadığında veya hiç bulunmadığında asit kaynağı olabilir. IPS metabolizmasının temel olarak dış çevrenin pH'ından etkilendiği görülmektedir (108). *S. mutans*lar, eksojen glikoz sınırlaması altında IPS'den laktik asit, etanol ve asetik asit üretir. Ancak fazla glikoz varlığında sadece laktik asit üretirler (109).

***S. mutans* ve Diyet**

Diyet karbonhidratlarının ve *S. mutans* enfeksiyonunun diş çürüğünün gelişiminde temel faktörler olduğu iyi bilinmektedir (110, 111). Diyet karbonhidratları arasında sükrozun doğrudan diş çürüğü ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (112-114).

Sükrozun, *S. mutans*'ların büyümesi sırasında hücre dışı glukoz sentezi için substrat olarak rol almasının yanında, enerji kaynağı olarak da hizmet ettiği gösterilmiştir. Diyetle alınan sükrozun çoğu laktik aside dönüştürülür. Sadece düşük oranlarda sükroz hücre dışı polisakkarit sentezine yönlendirilir (115-117). *S. mutans*, uzun süreli inkübasyondan sonra laktik aside dönüştürülebilen sükrozdan önemli miktarda hücre içi polisakkarit üretir (118). "Karyojenik" ve "karyojenik olmayan" plakların metabolik aktivitelerinin karşılaştırılması, *S. mutans*'ların çürük lezyon ile yakından ilişkili plaklarda metabolik olarak baskın olduğunu gösterir (119). *S. mutans*, diğer oral streptokok türlerinden daha asidüridir (120). Sükroz varlığında, *S. mutans* glikoz miktarıyla aynı katsayıda büyür (121).

Diyetteki sükrozun plak florasındaki streptokok kompozisyonu üzerindeki etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar insan deneklerle yapılmıştır. Carlsson ve Egelberg, plak oluşumunun, yüksek sükroz ağırlıklı diyet dönemlerinde, glikoz ağırlıklı diyet dönemlerinden daha fazla olduğunu bildirmiştir (122). Başka bir çalışmada, yüksek sükroz diyetlerinin toplam plak birikimi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı, ancak *S. mutans*'ların ve *Lactobacillus* türlerinin popülasyonlarını arttırdığı bildirilmiştir (123).

***S. mutans* Epidemiyolojisi ve Kazanımı**

Dünya genelinde tüm insanlarda *S. mutans* mevcuttur. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda bebeklerde biberon çürüklerinde, çocuklar ve genç erişkinlerde mine çürüğünde, yaşlılarda kök çürüklerinde birinci sıradaki etkenin *S. mutans* olduğu tespit edilmiştir (28).

Önceki yıllarda yapılan çalışmalara göre *S. mutans*'ın kolonize olmak için sert yüzeylere ihtiyaç duyduğu, bu yüzden bebeklerde diş sürmesinden önce ya geçici olarak bulunduğu ya da hiç bulunmadığı bildirilmiştir (9). Ancak Rosenblatt ve arkadaşlarının yenidoğanlarda yaptığı çalışmada, ilk 48 saat içerisinde oral kavitede *S. mutans* görüldüğü bildirilmiştir (124) Plonka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da *S. mutans*

ve *Lactobacillus spp.* doğumdan 34 gün sonra ağız boşluğunda tespit edilmiştir (125). Tanner ve arkadaşları 6-18 aylık 57 bebekle yaptığı çalışma sonucunda plak örneklerinin %55'inde dilden alınan örneklerin %70'inde *S. mutans* görüldüğünü bildirmiştir (126).

***S. mutans* Geçişi**

Bir bireyin başka bir bireyi *S. mutans* açısından enfekte edebilmesi için tükürükte en az 10^5 CFU/ml (CFU: Coloni-Forming Units) olması gerekir. Buna gerekli en düşük doz (Minimum İnfektif Doz) denmiştir. Bu miktarın üzerindeki *S. mutans* düzeyleri enfeksiyon açısından riskli kabul edilmiştir (60, 127).

Yapılan çalışmalarda, bebeğin doğum şekli, beslenme tipi ve annenin yüksek *S. mutans* seviyesi bebekte görülen *S. mutans* kolonizasyonu ile ilişkili bulunmuştur (125, 128, 129). Susan ve arkadaşlarının 68'i anne sütüyle, 36'sı bebek mamasıyla beslenen 4-6 haftalık bebeklerde yaptığı çalışmada anne sütüyle beslenenlerde *S. mutans* seviyesi anlamlı olarak anneye ilişkili görülmüştür (130). Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise sezaryenle doğanların normal yolla doğanlara göre ortalama 11.7 ay önce *S. mutans*'la enfekte olduğu ve anneleri ile aynı olan tek bir *S. mutans* genotipi barındırdıkları bildirilmiştir (129). 6 aylık henüz diş çıkarmamış bebeklerde yapılan başka bir çalışmada ise normal yoldan doğan bebek grubunda anlamlı olarak daha yüksek miktarda *S. mutans* görülmüştür (131). Başka bir çalışmada da anne yanında uyuma ve gece beslenmesi, yüksek *S. mutans* düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (128).

Annenin bebeğin mama kaşığını, emziğini yalaması ya da bebeği ağzından öpmesi gibi davranışları annenin ağzındaki bakterilerin bebeğe geçmesine neden olmaktadır (81, 82).

Bebeklerin mutans streptokokları edindiği büyük rezervuar, anneleridir (127). Annelerden ve bebeklerinden izole edilen mutans streptokok suşlarının benzer veya aynı bakteriyosin profilleri veya kromozomal DNA kalıpları sergilediğini gösteren klinik çalışmalar vardır (132-138). Bebekten elde edilen türler anne ve babayla karşılaştırıldığında bebeğin örneklerinin annenin örnekleriyle % 90'dan fazla bağlantı gösterdiği görülmüştür. Bu yüzden vertikal geçişin anneye daha çok ilgili olduğu düşünülmektedir (1).

100 çocuk ve ebeveynlerinin dahil edildiği bir çalışmada çocukların tükürük *S. mutans* sayıları ile anneleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmiş, babalarla anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (139).

Hindistan'da 20 aileyle yapılmış bir çalışmada, agaroz jeller üzerindeki kromozomal DNA'nın elektroforetik analizi 13 anne-çocuk çiftinde ve üç baba-çocuk çiftinde aynı bant kalıplarını ortaya çıkarmıştır (140).

Çocuğun aile bireyleri dışında uzun süre vakit geçirdiği kreş, yuva gibi ortamlardan da horizontal geçişle *S. mutans*'la enfekte olduğu düşünülmektedir (1). Mattos-Graner ve arkadaşları, 12-30 aylık yuva çocuklarında MS izole etmiş ve izole edilen MS'lerin benzer genotipte olduğunu bildirmiştir (11). 13-24 aylık yuvaya giden çocuklarda yapılan bir başka çalışmada da çocuklar arasında horizontal geçiş olduğu ileri sürülmüştür (82).

Tükürük *S. mutans* seviyesi yüksek 77 anne ve 3-8 aylık bebekleriyle yapılan çalışmada kontrol grubu ve test grubu olmak üzere anneler iki gruba ayrılmış, test grubundaki annelere düzenli aralıklarla diş çürüğü için profilaktik korunma uygulamaları yapılmıştır. Bebekler 3 yaşına gelene kadar çalışmaya devam edilmiştir. Profilaktik uygulama yapılan annelerde zamanla *S. mutans* sayısının düştüğü gözlenmiştir. Bebekler 3 yaşına geldiğinde annesi kontrol grubunda olanların % 70'inde test grubunda olanların %41'inde *S. mutans* görülmüştür. *S. mutans* görülen çocukların %52'sinde çürük görülmüştür. 15 aylıkken *S. mutans* taşıyan çocukların % 77'sinde 3 yaşına geldiğinde çürük görülmesi, çocuklarda *S. mutans*'ların erken yaşlarda görülmesinin, ilerleyen zamanlarda çürük gelişimini etkilediği şeklinde yorumlanmıştır (14).

Yapılan çalışmalar, erken dönemde *S. mutans* kolonizasyonu engellenirse ileri dönemlerde çürük riskinin önemli miktarda azalacağını bildirmektedir (9, 141-144).

2.7. *Lactobacillus* Türleri

Gram pozitif çubuk şeklinde bakterilerdir. Laktik asit üretirler ve düşük pH değerlerine toleranslıdırlar. Pürüzsüz yüzeylere zayıf şekilde kolonize olurlar ve bu bölgelerde çürük başlatmazlar. *Lactobacillus*'lar, asidürik özelliklerinin diğer organizmalarla rekabet etmelerine izin verdiği, yerleşik çürük lezyonlarının sekonder kolonileridir. Asit üretimi daha sonra lezyonu şiddetlendirir ve dentin içine yayılmasını

kolaylaştırır. *Lactobacillus* türleri pit ve fissürlere yerleşirse, bu bölgelerde çürük başlatabilirler. Farklı *Lactobacillus* tür ve suşları, farklı kariyojenik potansiyel sergiler (145).

Lactobacillus'lar fermantasyon özelliklerine göre geleneksel olarak üç gruba bölünmüş, 175 tanınmış türü içerir (146):

A) Zorunlu homofermanter

B) Fakültatif heterofermanter

C) Zorunlu heterofermanter

L. acidophilus, *L. gasseri*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. vaginalis* oral kaviteden izole edilen türleridir (147).

Yang ve arkadaşları, *Lactobacillus plantarum* 'un diş çürümelerini başlatabileceği veya hızlandırabileceği sonucuna varmıştır. Aynı zamanda bu mikroorganizma geniş spektrumlu bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği için oral kavite için potansiyel bir probiyotik olarak da kabul edilebilir (148).

Yenidoğanların doğum sırasında ağız boşluğunda *Lactobacillus*'ları barındırdıkları ve bu bakterilerin annenin vajinasına kadar izlenebilecekleri gösterilmiştir (149). Yenidoğanın oral florasındaki bu süreç geçicidir. *Lactobacillus*'lar emzirilen bebeklerin ağızda bulunurken, nadiren biberonla beslenen bebeklerde de görülür (150, 151). Dişin sürmesinden önce *Lactobacillus* türleri bebeklerin ağız boşluğunda nadir olarak bulunur (149). Dişler sürdükten sonra, okluzal fissürler *Lactobacillus*'ların kolonizasyonu için uygun alanlar olarak görülür (152). Bununla birlikte oral kavite içinde *Lactobacillus*'un sürekli kolonizasyonu için temel ekolojik belirleyici, çürük varlığı gibi görünmektedir. *Lactobacillus* seviyelerinin küçük çocukların ağız boşluğunda, doğumdan diş erüpsiyonuna kadar çeşitli gelişimsel olayların bir sonucu olarak dalgalandığı görülmektedir. Dişler sürene kadar ağız boşluğunda görülen *Lactobacillus*'ların ana kaynağının süt olduğu düşünülmektedir (153).

Farklı çalışmalarda çürükten izole edilen *Lactobacillus* türleri Tablo 2.5'te gösterilmiştir (148, 154-157).

Tablo 2.5. Diş çürüklerinden izole edilen *Lactobacillus* türleri

Marchant ve ark. (2001)	Ş-EÇÇ'li 3-5 yaş arası çocukların enfekte dentin lezyonlarından alınan örnekler	London, United Kingdom	<i>L. casei</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. buchneri</i> <i>L. brevis</i>
Piwat ve ark. (2010)	2-5 yaşındaki çürüğe yatkın çocuklardan alınan tükürük örnekleri	Songkhla, Thailand	<i>L. fermentum</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. casei/paracasei</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. mucosae</i> <i>L. oris</i> <i>L. gasseri</i>
Yang ve ark. (2010)	Ş-EÇÇ'li çocuklardan tükürük ve çürük lezyonlarından alınan örnekler	New York, NY, United States	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. casei</i> <i>L. oris</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. vaginalis</i>
Tanner ve ark. (2011)	2-6 yaş arası Ş-EÇÇ'li çocuklardan alınan plak örnekleri	Boston, MA, United States	<i>L. fermentum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. casei/paracasei</i>
Teaipaisan ve ark. (2012)	2-5 yaş arası çürüğe yatkın anne-çocuk çiftleri	Songkhla, Thailand	<i>L. fermentum</i> <i>L. casei/paracasei</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. mucosae</i> <i>L. plantarum</i>

Lactobacillus türlerinin oral floraya yerleşme zamanına dair çalışmalar yapılmıştır. Plonka ve arkadaşları, 34 günlük bebeklerin oral florasında *S. mutans* ve *Lactobacillus spp.* izole etmişlerdir. Sonrasında çalışmayı devam ettirip bebekler 7 aylık olduklarında diş sürmeyenlerden tekrar sürüntü örneği almışlardır. Buna ek olarak annelerden de oral sürüntü alınmış ve bebeklerle karşılaştırma yapılmıştır. Sonuçlarda iki zaman aralığı arasında *Lactobacillus* varlığında anlamlı artış görülmüştür. Yenidoğanda *Lactobacillus* türleri görülmesi, normal doğum şekli ve annede *Lactobacillus* izole edilmesiyle ilişkili bulunmuştur. (125).

Taylandlı anneler ve çocukları arasında mutans streptokok ve *Lactobacillus* türlerinin vertikal geçişini görebilmek için yapılan bir çalışmada, çocuklarda anneye eşleşen genotip varlığı sırasıyla %76 ve %50 oranlarında bulunmuş ve annenin mutans streptokok ve *Lactobacillus* türleri için bulaş kaynağı olabileceği belirtilmiştir (157).

2.8. *Candida* Türleri

Mantarlar, oral mikrobiyal floranın üyeleridir. İnsan ağız boşluğundan en sık izole edilebilen mantar türü *Candida albicans*'tır (*C. albicans*). *C. albicans*, ağız boşluğu, sindirim sistemi, rektum ve vajinada normal insan mikrobiyotasının bir parçası olarak bulunur. Genellikle bu bölgelerde gözle görülür hastalık semptomları oluşturmada var olur. Sağlıklı erişkin deneklerin %40-50'sinde *C. albicans*'ın oral taşınması saptanmıştır. *C. albicans* genellikle ağız boşluğu içindeki mukozal yüzeyleri, özellikle dil ve bukkal mukozayı kolonize eder. Bu organizma, sağlıklı bireylerin yaklaşık %20-40'ında zararsız bir topluluktur. Bununla birlikte, mantarlar özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde oral mukozal hastalıklara neden olabilir. En sık görülen oral mantar enfeksiyonu, kandidiyazistir (158, 159).

Mantar hücrelerin çapı yaklaşık 3-6 µm'dir ve genel olarak bakterilerden daha büyük ve memeli hücrelerinden daha küçüktür. Mantarların kendine özgü ve değişken hücre morfolojileri vardır. Tek hücreli olanlar genellikle ovaldir (158).

Mantarlar, asidik ve anaerobik koşullar altında büyüyebilir. Kültürel çalışmalarda geleneksel bakterilerin tanımlanması ve moleküler çalışmalarda yeni bakterilerin tanımlanmasıyla insan ağız boşluğunda 700'den fazla tür tanımlanmıştır. Bu türlerin 400'den fazlası periodontal cepten; geri kalan 300 türü dil, oral mukoza membranı, çürük lezyonlar ve endodontik enfeksiyonlar gibi diğer oral bölgelerden tespit edilmiştir (160). *C. albicans*, spesifik oral bakteri türleriyle sıkı ilişkiler kurabilir ve bu topluluklarının gelişimini ve adezyonunu ve biyofilm oluşumunu destekleyebilir (159).

Mantarlar, insanlara çevreden kolayca bulaşabilir. Giriş yolu, genellikle bulaşıcı ajanın özelliklerine ve çevresel rezervuara bağlıdır. Mantar sporları akciğerler, *Candida* türleri ağız yoluyla ve dermatofitler deri ile doğrudan temas yoluyla bulaşabilir. *C. albicans*'ın insanlara bulaşması genellikle diğer insanlardandır. Klinik ortamda, sağlık çalışanlarının elleriyle transfer gerçekleşebilir. Mantarlar ağız kolonize edebilir

ve oral floranın bir bileşeni olabilirler. Filamentli mantarlar, nadiren ağız boşluğundan kültürlenebilir, ancak maya sağlıklı bireylerin yaklaşık %40'ının tükürüğünden kültürlenebilir. Tükürükten en çok izole edilen mayalar; *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* ve *Candida krusei*'yi içerir (158).

C. albicans içeren oral flora topluluklarının oluşumunda ilk olarak Streptokok türleri, tükürük kaplı yüzeylere ve mukozal yüzeylere kolonize olur. *C. albicans*, tükürük veya hücre zarı reseptörlerine yapışabilir ve biriken streptokoklarla etkileşime girebilir. *C. albicans*, streptokoklardaki reseptör polisakaritlerini tanıırken, streptokok *C. albicans*'ın hücre duvarı glikoproteinleri ile etkileşime girer. *Actinomyces naeslundii* organizmaları yoğun şekilde floraya dağılır ve fimbrialar streptokok reseptör polisakaritlerini tanıırken, bilinmeyen bir *C. albicans* adhezini *A. naeslundii*'yi tanıır. *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces* ve streptokoklara ve *C. albicans*'a bağlanır. *Lactobacillus* türleri sıklıkla *C. albicans* ile birlikte bulunur. Ancak bu organizmaların hücre-hücre etkileşimi mekanizmaları henüz anlaşılammıştır (159).

C. albicans'ın, diş çürüğü ve periodontal hastalık ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Karyojenik bakteri *Streptococcus mutans* ile birlikte derin çürük lezyonlarında *C. albicans*'ın bulunması, *C. albicans*'ın diş çürüğünün sonraki aşamalarında yer alabileceği yönündeki önerilere yol açmıştır. *C. albicans*, çürük lezyonlarda bulunan pH değerlerinde (pH = 5.0) yaşayabildiği bildirilmiştir (159).

100 gebe kadının oral ve vajinal mukozasından ve bebeklerinin oral mukozasından örnekler alınarak yapılmış çalışma sonucunda annelerin %49'unda oral bölgede, %40'ında vajinal bölgede ve bebeklerinin %7'sinde oral bölgede *Candida* türleri görülmüştür. Doğumların yarısı normal, yarısı sezaryen olmuş ve normal doğumla doğan bebeklerden alınan oral sürüntülerde daha fazla *Candida* görülmüş ve annenin vajinal örnekleriyle daha yakın bir ilişki bulunmuştur (161)

De carvalho ve arkadaşları, 1-5 yaş arası 56 çocukla yaptığı çalışmada; diş çürüğü olan, çürüğü olmayan ve EÇÇ görülen olmak üzere 3 grup oluşturmuştur. Bu çocukların diş plağından ve enfekte dentinlerinden örnekler almıştır. Sonucunda EÇÇ görülen çocukların örneklerinde, %85.4 oranında *S. mutans* ve %60.4 oranında *C. albicans* görülmüştür. EÇÇ görülen grupta diğer gruplara göre daha fazla *C. albicans* izole edilmiştir. Diş çürüğü ve *C. albicans* arasında anlamlı bir ilişkili olduğu

savunulmuştur (162). *C. albicans* ve EÇÇ arasında anlamlı ilişki olduğunu savunan başka çalışmalar da vardır (5-7).

Çürüklü ve çürüksüz dişlere sahip çocuklardan ve annelerinden oral sürüntü alınarak yapılmış çalışmalarda, *C. albicans* çürükle ilişkili bulunmuş ve anne-çocuk örnekleri karşılaştırıldığında benzer mikrobiyal kompozisyon içerdiği görülmüştür (163, 164)

2.9. Tükürükte Mikroorganizma Tespit Yöntemleri

Oral mikrobiyoloji geleneksel olarak mevcut türlerin tanımlanması için tükürükten ve diş plağından bakteri yetiştirebilme yeteneğine dayanmaktadır. Başlangıçta, oral hastalıklarda sadece birkaç bakteri türü önem taşımaktaydı. Kültür yöntemleri daha komplike hale geldikçe mevcut mikrobiyal türlerin karmaşıklığının tahmin edilmediği açıkça ortaya çıkmıştır. Son on yılda kültür dışı moleküler yöntemlerin gelişmesiyle birlikte, bakterilerin tek başına laboratuvarında yetiştirilmesinin mikrobiyal popülasyonların karmaşıklığını değerlendirmek için yetersiz olduğu anlaşılmıştır. Günümüzdeki moleküler teknikler farklı oral bölgelerdeki mikrobiyal topluluklarda bulunan, ölü veya canlı olan mikroorganizmaları belirlemek için hassas ve doğru araçlar sağlar (145).

2.9.1. Kültür Yöntemleri

Kanlı agar gibi seçici olmayan ortamlar geniş spektrumda birçok oral türün büyümesini destekler. Bir oral numuneden, bir koloni dizisi üretilebilir. Kanlı agarda bakteri türlerini karışımdan tek tek ayırmak zor olabilir ve toplam bakterilere göre yüzdesi küçük olan bakteriler hiç görülmeyebilir. Bir kaç türün büyümesini engelleyen bileşenler içeren seçici kültür ortamları spesifik türlerin izole edilmesi için faydalı olabilir (165).

2.9.1.1. Mutans Streptokok İçin Kültür Yöntemleri

MS'in izolasyonu, sayımı ve karakterizasyonu için çok sayıda seçici ortam geliştirilmiştir. Tipik olarak bu ortamlar bakterisin ve sükröz ile desteklenir (166, 167). Sükröz, diğer organizmaları inhibe ederek MS'leri ayırt ederken bakterisinin diğer oral streptokokları inhibe ettiği bilinmektedir (166-168). Mitis, streptokok türleri için seçici olduğundan baz ortam olarak kullanılır (MSB-MSKB). Çünkü MS kolonisi bu ortam üzerinde kolayca ayırt edilir (166). Sükröz, MSKB'de sorbitol ile değiştirilir ve

bakterisinin aktivitesini arttırmak için kanamisin ilave edilir (169). MS'in kantitatif sayımı için sık kullanılan besiyerleri aşağıda belirtilmiştir (166, 168-171):

▪ Mitis Salivarius Bacitracin (MSB)

▪ Mitis Salivarius-Kanamisin-Bacitracin (MSKB)

▪ Glukoz-Sükroz-Tellürit-Bacitracin (GSTB)

▪ Triptikaz Soy-Sükrosebasitracin (TYS20B)

▪ Tripton Maya-Sistein-Sukroz-Basitracin (TYCSB): Gold ve arkadaşları tarafından, *Streptococcus mutans* için seçici bir ortam olarak tasarlanmıştır. Basitracin ve sükroz içerir (166). Ortamdaki tripton ve maya ekstraktı, streptokokların büyümesi için gerekli besinleri sağlar. Sodyum sülfid, sodyum asetat, disodyum fosfat ve sodyum bikarbonat, metabolizmayı stimüle eden iyon kaynaklarıdır (166).

2.9.1.2. *Lactobacillus* Türleri İçin Kültür ve Tespit Yöntemleri

Rogosa agar: *Lactobacillus* türlerinin ekilmesi için seçici bir ortamdır. Yüksek asetat konsantrasyonu ve düşük pH, *Lactobacillus*'ların gelişmesine izin verirken diğer bakterileri etkili bir şekilde bastırır (172, 173).

Rogosa agar – modified (pH 6.2): Rogosa agar besiyerinin PH'nın 5.5 yerine 6.2'ye değiştirilmesiyle yapılır. Tüm laktik asit bakteri grubu için ortamın seçiciliğini değiştirir (173, 174).

de Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS): de Man, Rogosa ve Sharpe (1960) tarafından öncelikle çeşitli kaynaklardan *Lactobacillus* türlerinin ekimi için geliştirilmiştir. Tüm laktik asit bakteri grubunun kültürü için kullanılabilir. Ortam, hemen hemen tüm laktik asit bakterileri için iyi verimlilik gösterir, ancak orijinal versiyon seçici değildir (173, 175).

de Man, Rogosa and Sharpe agar with sorbic acid (MRS-S agar): MRS agarın PH'ı 5.7'ye düşürerek ve % 0.14 sorbik asit ilave edilerek laktik asit bakterileri için seçici hale getirilmesiyle yapılır (173, 174).

Snyder test: Bu test çürük artışıyla beraber *Lactobacillus* sayısının artacağını ve bununla beraber ortamda asit artacağını baz alarak çalışan kolorimetrik bir testtir. Hem

asidojenik hem asidürük mikroorganizmaların sayısını tahmin etmeye yarar. Asit agar besiyerine glukoz ve renk indikatörü olarak bromokrezol eklenmiştir. *Lactobacillus* gibi asit üreten bakteriler tükürükte arttığında renk mavi-yeşilden sarıya dönmektedir. Renk çok hızlı değişirse yüksek çürük aktivitesi olduğu kabul edilir (176).

Cariostat (Dentsply-Sankin, Tokyo) aktivite testi: 1974 yılında Shimono ve Sobue tarafından geliştirilen bir kolorimetrik testtir (177). Test ortamı, hastanın plak örneğinde toplanan mikroorganizmaların neden olduğu sürekli pH düşüşünü göstermek için iki çeşit pH göstergesi ve sükroz içerir. Dış plağındaki mikroorganizmalar sükrozu metabolize eder ve asit üretir. Bu asit pH göstergelerine reaksiyon verir ve böylece kolorimetrik değişim olur (178). Bazı araştırmacılar, pH ile çürük aktivite testi skoru arasında güçlü bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (179-181). Nishimura ve arkadaşları, çürük aktivite testi skoru ile mutans streptokok ve *Lactobacillus* sayıları arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir (182).

Ramesh ve ark., rogosa besiyeri kullanılarak yapılan *Lactobacillus* tayini çalışmalarının Synder ve Cariostat testlerine göre daha hassas sonuçlar verdiği bildirmiştir (183).

2.9.1.3. *Candida* Türleri İçin Kültür ve Tespit Yöntemleri

Sabouraud dextrose agar: Raymond Sabouraud tarafından 1980'lerde *Candida* türleri için tasarlanmış besiyeridir. İçeriğinde dekstroz ve pepton vardır. Asidik pH ve yüksek dekstroz konsantrasyonu mantarlara seçicilik sağlamaktadır (184)

CHROMagar™ *Candida*: Kromojenik reaksiyona dayanarak farklı *Candida* türlerini (albicans, glabrata, tropicalis ve krusei gibi) tanımlamaya yarar (185). Tekniğin başarısı, farklı renkler üreten beta-glukozidazın etkisiyle meydana gelen kromojen reaksiyonuna bağlıdır (186).

Klamidospor oluşturmeyen diğer mayalar, mısır unu tween 80 agardaki morfolojik özelliklerine bakılarak tanımlanabilir. Mısır unu-tween 80 agar dışında Eosin Metilen Blue (EMB) agar ve Mueller Hinton Agar (MHA) mayaların klamidospor oluşturmaları için kullanılmıştır (187, 188)

2.9.2. Moleküler Yöntemler

Oral bakterileri tanımlamaya ve sınıflandırmaya yönelik geleneksel yaklaşımlar organizmaların kültürlenmesini içerir. Oysa yeni moleküler tekniklerin kültürlenmesi gerekmez. Son birkaç yılda, moleküler teknikler oral bakterilerin analizinde daha belirgin bir rol edinmiş ve standart hale gelmiştir. Bu yaklaşım, henüz kültürlenmemiş olan yüzlerce yeni türün tanımlanmasına neden olmuştur (165).

2.9.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR)

PCR, 1993'te Nobel Kimya Ödülü'nü kazanan Kary Mullis tarafından 1983'te bilim dünyasına sunulmuştur (189, 190). Bu yöntem gen ve genom çalışmalarının ilerleme hızını önemli ölçüde arttırarak kısa sürede biyolojik ve tıbbi araştırmalar için önemli bir yere sahip olmuştur. Herhangi bir genin PCR kullanarak herhangi bir organizmadan izole edilmesi mümkündür ve bu genom dizileme projelerinin temel taşı haline gelmiştir (191).

Polimeraz zincir reaksiyonu primerler (özellik tamamlayıcı oligonükleotidler) ile ısıya dayanıklı enzimleri kullanarak; bakteri, virüs, fungus, parazit ve protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asit zincirlerinin laboratuvar ortamında çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir. Üzerinde çalışma yapılan genetik materyal, çok az sayıda olsa veya farklı DNA moleküllerinin arasında olsa bile çoğaltılabilir. Seçilen DNA dizisi çoğaltılırken istenmeyen diziler baskılanır. Sonrasında homojen bir DNA materyali haline getirilebilir ve böylece tanımlanabilir hale gelir (192-196).

PCR yöntemi, basit reaksiyonların tekrarlayan döngüleri boyunca DNA'nın in vitro replikasyonuna dayanır. Amplifikasyon reaksiyonları, özel DNA ısı döngüsü cihazı kullanılarak gerçekleştirilir. Tipik bir PCR reaksiyonu 25–40 siklus amplifikasyon içerir.(191).

PCR Yönteminin Temel Bileşenleri

PCR'de kullanılacak ana reaktifler, büyütülecek olan hedef DNA, hedef DNA'nın bilinen sekanslarını tamamlayan tek iplikli oligonükleotidler (primer), dört deoksiribonükleosit trifosfatın (dNTP'ler) fazla miktarları ve ısıya dayanıklı bir DNA polimerazıdır (191).

Kalıp DNA: Çoğaltılacak olan baz dizisine sahip genetik materyaldir. Bu amaçla genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler veya herhangi bir DNA

parçası kalıp olarak kullanılabilir. Bu amaç için DNA yerine RNA kullanılacaksa reaksiyondan önce ters transkriptaz kullanılarak RNA, komplementer DNA'ya (cDNA) çevrilir (192, 197-199).

Primer: 4-10 oligonükleotidden meydana gelen, DNA sentezinde basamak oluşturan kısa ve tek sarmallı DNA molekülleridir. Bunlar hedef DNA'ya özgü olduklarından ortamdaki başka DNA'lar ile çapraz reaksiyon vermezler. Primerler laboratuvarında hazırlanabilir ya da artık günümüzde binlerce bakteriden 16S genleri için DNA dizisi verilerinin bulunmasıyla sanal olarak tasarlanabilirler (165, 192, 200, 201).

Polimeraz Enzimleri: Primerlerin bağlanması, yüksek sıcaklıkta daha özgülmaktadır. Termotabil (ısıya dayanıklı) polimeraz enzimlerinden en yaygın kullanılan DNA polimerazı, termofilik bakteri *Thermus aquaticus*'tan izole edilen Taq DNA polimerazdır (191). Bu enzimin diğer enzimlere göre avantajı, her denatürasyon döngüsünde ortama yeni enzim ilavesini gerektirmemesidir (192, 200, 201).

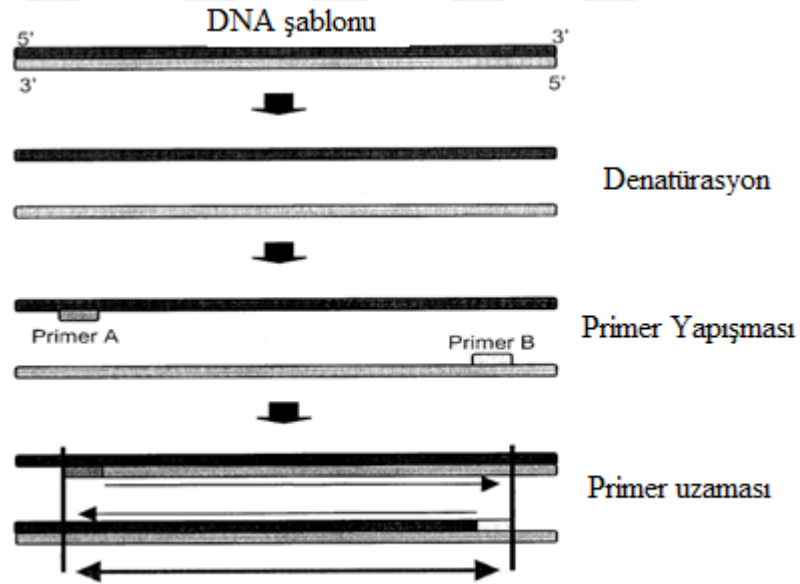
Deoksinükleotit-Trifosfat (dNTP) Karışımı: Yeni DNA sarmalının tamamlanmasında kullanılan; dNTP'nin nötrale edilmiş, molaritesi belirlenmiş dörtlü setleridir (dATP, dTTP, dGTP ve dCTP). Tek tek ya da dörtlü karışımlar halinde ticari olarak elde edilebilirler (196). Her deoksiribonükleozid trifosfat konsantrasyonunun eşit olması (20-200mM) ürünün özgünlüğü ve doğru sonuç elde edilebilmesi açısından önemli olduğu için konsantrasyonlarının spektrofotometrik olarak kontrol edilmesi gerekir. dNTP konsantrasyonunun yüksek olması yeni sentezlenen DNA dizilerinde hatalı (misincorporation) dizilerin ortaya çıkmasına sebep olabilir (197, 202, 203).

DNA Polimerazın çalışması için gereken tamponlar ve MgCl₂: Magnezyum (Mg) iyon konsantrasyonu primerlerin açılan DNA zincirlerine yapışmasını, kalıp DNA'nın açılma sıcaklığını, PCR sonucunda elde edilen DNA kalitesini, primer-dimer bağ oluşumlarını, enzim aktivitesi ve güvenilirliğini etkilemektedir. Bu yüzden PCR uygulamalarında Mg iyon konsantrasyonunu ayarlamak çok önemlidir. Taq DNA polimeraz enziminin iyi bir şekilde çalışabilmesi için de kalıp DNA, primerler ve nükleotid bazları üzerinde serbest Mg iyonlarının bulunması gerekir. dNTP konsantrasyonu içerisinde 0.5-2.5 mM (mili molar) arasında Mg iyonlarının bulunması önerilmektedir (202, 204).

PCR uygulamalarında genel olarak 10-50 mM arasında Tris-HCl tampon çözeltisi kullanılır. Bu tampon çözeltinin 20 °C saklanır ve pH'ı 6.8 ile 7.8 arasında değişir (202, 205).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Oluşum Mekanizması

Mekanizma belli bir uzunluktaki DNA fragmanının in vitro replikasyonuna ve DNA polimeraz enziminin hedef DNA'yı in vitro çoğaltması esasına dayanır (190). PCR reaksiyonu araştırılacak örnekteki DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasına (denatürasyon), daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasına (hibridizasyon), sonra zincirin uzamasına (polimerizasyon) ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır (190). Tüm bu basamaklara amplifikasyon işlemi denir. Bu işlemden sonra amplifikasyon ürününün saptanması, kopyaları çıkarılan primerler arasında kalan belli baz çifti büyüklüğündeki bölgenin jel üzerinde veya amplifikasyon yapılan bölgeye uygun tamamlayıcı prob ile hibridizasyon sonrası belirlenmesi ile gerçekleşmektedir (206). PCR tekniği, temelde üç aşamadan oluşmaktadır (Şekil 2.2) (191).



Şekil 2.2. Polimeraz zincir reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi

DNA Zincirinin Açılması (Denaturation): Kalıp DNA'da çift sarmal yapıdaki DNA iplikçikleri birbirlerinden ayrılması için 92-95 °C'de 1-2 dakika tutulması gerekmektedir. Bazı durumlarda DNA zincirini ayırmak için 5-10 dakika ön ısıtma yapmak gerekebilir (204, 207).

Primerlerin Açılan DNA Zincirlerine Yapışması (Annealing): Oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması işlemidir. Primerler kendileri için özgül dizileri tanıyarak 5'→3' yönünde

bağlanırlar. Bu reaksiyon için sıcaklığın 50-60 °C'ye düşürülmesi gerekmektedir. Üretilen baz uzunluğuna bağlı olarak bu işlem 30-60 saniye sürmektedir (202, 208).

Primer Uzaması (Primer Extension): DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) ortam sıcaklığı 72 °C'ye geldiğinde DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin 3' uçlarına bağlanarak DNA sentezine başlar. Enzim, primerlerin 3' ucuna dNTP'leri ekleyerek her iki zincir üzerinde 5'→3' yönünde DNA sentezi yapar (208, 209).

Bu 3 işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilmesiyle PCR protokolü gerçekleşmiş olur. Bu işlemlerle DNA parçaları üssel olarak artmaktadır. Bunun nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkması ile sonuçlanmaktadır (197). PCR sonucunda elde edilen ürünlerin boyu, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır. PCR sonucunda elde edilen DNA parçacıkları agaroz veya poliakrilamid jellerde yürütüldükten sonra, ethidium bromide (EtBr) veya gümüş nitrat (GN) ile boyanarak gözlemlenir (204).

PCR'in avantajları:

- Az miktarda DNA içeren, eskimiş, kurumuş örnekler uygulanabilir.
- Hızlı ve özgül bir yöntemdir.
- Bakteri alt tiplerinin, toksin oluşturan etkenlerin, saptanması güç toksinlerin, laboratuvar koşullarında üretilmesi güç virüslerin teşhisine uygundur.
- Antibakteriyel direnci olan bakterilerin saptanmasına uygundur.
- Geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Babalık testinde, popülasyon genetiği çalışmalarında ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir (192, 193, 195, 200, 201, 209-211).

Dezavantajları:

- Tecrübeli personel gerektirir
- Ortamdaki istenmeyen DNA'nın primer ile ortak dizilime sahip olma riski vardır
- Pahalı bir yöntemdir (192, 193, 195, 200, 201, 209-211).

2.9.2.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism- RFLP)

İki tane ilişkili fakat farklı DNA molekülleri aynı restriksiyon enzimiyle kesilirse, farklı uzunluklarda segmentler üretilir. Bunlar bir jel üzerinde ayrıldığında, farklı boyutlarda bantlar görünecektir. Bir restriksiyon bölgesini etkileyen iki DNA dizisi arasındaki fark, bir Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) olarak bilinir. RFLP'ler, değiştirilmiş DNA segmentinin fonksiyonunu bilmemek bile organizmaları tanımlamak veya ilişkileri analiz etmek için kullanılabilir (212).

2.9.2.3. Değişken Alanlı Jel Elektrofrezisi (Pulsed Field Gel Electrophoresis- PFGE)

Değişken alanlı jel elektrofrezisi (PFGE), uzun yıllardır bakteri tiplemesi için altın standart olmuştur. Bunun nedeni, PFGE'nin yüksek ayırt edici güce sahip olması ve epidemiyolojik ilişkiliyle uyumlu olmasıdır. Bu yöntemde standart protokoller, ekipman ve analiz araçları kullanıldığında sonuçlar tekrarlanabilir ve farklı laboratuvarlar arasında paylaşılabilirler (213).

PFGE'den önce moleküler biyoloji alanında, DNA moleküllerinin ayrılması, boyutlarının bilinmesi ve görüntülenmeleri gibi konularda kullanılan en yaygın teknik standart jel elektrofreziydi. Bu geleneksel teknik, sabit bir elektriksel alan altında 100-200 baz çifti (bç) ile 50 kilobaz çifti (kbç) arasındaki DNA fragmentlerinin (parçacık) rutin olarak ayrışmasını sağlayabiliyordu. 50 kbç'nin üzerindeki moleküllerin büyüklüğünden dolayı jel üzerinde ayrışamıyorlardı (214, 215). 1982'de Schwartz ve arkadaşları, iki alternatif elektrik alanı (yani PFGE) kullanılarak 50 kb'den daha büyük olan DNA moleküllerinin ayrılabilmesi fikrini ortaya koydu ve bunun üzerine çalıştı (216). Sonrasında bu prensip temelindeki cihazlar geliştirilerek 10 Mbç kadar büyüklükteki moleküllerin ayrışmaları sağlanmıştır (214-216).

Pulsed-Field Jel Elektrofresinin Çalışma Prensibi

Bakteri hücresi düşük erime ısı (low melting) agaroz içine gömülür. Gömülen bakteri hücresinden yapısal bütünlüğü bozulmadan genomik DNA izole edilir. İzole edilen DNA uygun restriksiyon endonükleaz enzimi (RE) ile kesilir ve oluşan profiller belirlenip yorumlanır. Standart jel elektrofrezine göre çok daha büyük DNA moleküllerinin hareket ettirilmesi, değişken elektriksel alan kaynaklı akım oryantasyonunun periyodik bir şekilde hareketiyle mümkün olmaktadır. PFGE'de

uygun RE ile tam olarak kesilmiş 10 ile 800 kbç arasında uzunluğa sahip parçalar etkin bir şekilde göç ettirilmekte ve bunun sonucunda yaklaşık 5 ila 25 arasında farklı yapıda DNA fragmentleri ortaya çıkmaktadır (217, 218).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) bakteriyel DNA parmak izi için PFGE kullanmaktadır. Bu teknik, patojenik bakteriyel enfeksiyonların epidemiyolojik çalışmaları için “altın standart” olarak kabul edilir (219). MS genomunu araştırmak için PFGE yöntemi farklı restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılarak çalışmalarda kullanılmıştır (220-223).

Şiddetli EÇÇ görülen ve genel anestezi altında tedavi göreceğ olan 27 çocuktan ve annelerinden dental plak örnekleri alınarak yapılan bir çalışmada plak örneklerinden MS izole edilmiştir. İzole edilen örnekler darbeli alan jel elektroforezi (PFGE) ile karakterize edilmiş ve anne/çocuk arasındaki %70’ten fazla eşleşme bulunmuştur (224).

Lactobacillus türlerinin PFGE yöntemiyle yapılan moleküler çalışmaları genelde probiyotikler için yapılmış çalışmalardır. Diş çürüğünde görülen *Lactobacillus* türlerini de içine alan bir çalışmada *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus* bakteri türlerinin genotiplendirilmesinde PFGE analizinin kullanılabileceği belirtilmiştir (225). Yine *Lactobacillus* türlerinin genotiplendirildiği bir çalışmada PFGE analizinin sonuçları, 16s rRNA PCR ve biyokimyasal teşhis ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada geliştirilen PFGE yöntemi *Lactobacillus* türlerinin moleküler karakterizasyonu için uygun olduğu belirtilmiştir (226).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Etik Kurul Onayı ve Gerekli Resmi İzinler

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi ve Malatya Eğitim Araştırma Hastanesi'nde yenidoğan bebekler üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma için İnönü Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay (Protokol no: 2017/105) (Ek-2) alındı. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan çalışmanın etik kurul onayıyla yapılabileceğine dair onay alındı (Ek-3). Ayrıca Malatya İl Sağlık Müdürlüğü'nden resmi izin (Evrak no: 16/05/2018-E.15353) (Ek-4) alındı. Bu izin kağıtları gerekli belgelerle birlikte İnönü Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na teslim edildi ve etik kurul onayı genişletildi (Ek-5).

Çalışma için Turgut Özal Tıp Merkezi ve Malatya Eğitim Araştırma Hastanesi yöneticileri, Yenidoğan servisi sorumlu doktorları ile görüşüldü. Çalışmanın amacı ve nasıl uygulanacağı hakkında bilgi verildi. Seçilen ebeveyn/bebek çiftlerinin ebeveynlerine uygulama hakkında bilgilerin yer aldığı Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu (Ek-6) verildi ve formları imzalayan ebeveynler ve bebekleri çalışmaya dahil edildi.

3.2. Örneklem Seçimi ve Örnek Toplanması

Örneklem hacminin belirlenmesi amacıyla yapılan power analizinde $\alpha=0.05$, $1-\beta$ (güç)= 0.80 alındığında bebeklerde 6 ay süresinde ortalama *S. mutans* değişim miktarının 1.87 birim olması için en az 46 bebekten örnek alınması gerektiği hesaplandı (131). Takip sırasında yaşanabilecek kayıplar düşünülerek, sistemik olarak sağlıklı doğan 60 yenidoğandan örnek alınarak çalışmaya başlandı.

Çalışmaya başlanılmadan önce çalışmayı yapacak olan hekimin bebeğin ağız içi değerlendirilmesi ve numune alımı konusunda çalışma için kalibrasyonu sağlandı.

Bebeklerden ilk 24 saat içerisinde, tek bir hekim tarafından (ZBE) oral muayenesi yapıldıktan sonra steril eküvyon çubuk yardımıyla yanak, dil ve vestibül mukozasından sürüntü örnekleri alındı (Şekil 3.1). Birinci ay dolduğunda aynı işlem tekrarlandı. Bebeklerin ilk dişi ağız ortamında en az 2 mm görülebilir hale geldiğinde, steril eküvyon çubuk kullanılarak diş yüzeylerinden oral sürüntü örnekleri alındı (Şekil 3.2). Ebeveynlerden de bir kereye mahsus olmak üzere son görüşmede tükürük örneği alındı. Ulaşım sıkıntıları nedeniyle fakülteye gelemeyen ailelere ev ziyaretleri yapıldı.

Gündüz saatleri içerisinde ev ziyaretleri yapıldığı için annelerin hepsine ulaşılabilsede babaların sadece 20 tanesine ulaşılabildi.



Şekil 3.1. Steril eküvyon çubuk



Şekil 3.2. Bebeklerden örnek alınma dönemleri; 1. ay ve ilk dişlerin sürdüğü dönem

Bebeklerden steril eküvyon çubuklarla alınan sürüntü örnekleri steril serum fizyolojik solüsyonu dağıtılmış 2 ml'lik vida kapaklı tüplere konularak laboratuvara ulaştırıldı. Anne ve babadan tükürük örneklerinin alınması için 50 ml'lik steril idrar toplama kapları kullanıldı (Şekil 3.3). Bebeklerden ve ebeveynlerden örnekler alınırken bireylerin en az bir saat kadar yemek yememiş olmalarına ve son 30 gün içerisinde antibiyotik kullanmamış olmalarına dikkat edildi. Bebeklerden sürüntü örnekleri ile anne ve babadan tükürük örnekleri alındıktan hemen sonra örnekler çalışmanın yapılacağı mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.



Şekil 3.3. Vida kapaklı tüpler ve steril toplama kapları

Bebeğin cinsiyeti, doğum şekli, doğum kilosu, takip süreçlerindeki bebeğin beslenme alışkanlıklarını içeren konuyla ilgili anket formu ailelerden bilgi alınarak dolduruldu. (Ek-7).

Ebeveynlerin oral bulguları muayene formundaki ağız ve diş şemalarına çürük (D), dolgulu (F) ve çekilmiş (M) dişler olarak işlendi. Dişlerin değerlendirilmesi Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine (227) uygun olarak gerçekleştirilerek DMF-T değerleri hesaplandı (Ek 8 Hasta muayene formu). Ailelerin oral hijyen alışkanlıkları ve eğitim durumları da aynı forma işlendi.

3.3. Laboratuvara Getirilen Örneklerin Saklanması

Elde edilen örneklerin laboratuvarında öncelikle kültür için uygun besiyerlerine ekimleri yapıldı, daha sonra PCR ve diğer çalışmalar için kullanılmak üzere 2ml'lik vida kapaklı tüplere aktarılarak -80°C'de saklandı.

3.4. Örneklerden Mikroorganizmaların Kültürü, Kantitasyonu ve İdentifikasyonu

S. mutans, *Lactobacillus* ve *Candida* türlerinin mikrobiyolojik kültürü için seçici nitelikteki özel besiyerleri kullanıldı. Örneklerin plak besiyerlerine ekimi için kantitatif ekim yöntemi ve tek koloni (seyreltme ekimi) ekim tekniği uygulandı. Bakteri ve maya sayısının belirlendiği kantitatif ekim için halka çapı 0.01 ml sıvı alabilecek özeler kullanıldı ve inkübasyon sonunda plak yüzeyinde sayılan koloniler 100 ile çarpılarak ml'deki bakteri/maya sayısı cfu/ml cinsinden hesaplandı. Seyreltme ekim plağında üreyen her farklı morfolojideki kolonilerin pasajları alınarak, saf olarak elde edilen mikroorganizmalar tür düzeyinde tanımlanmaları için işleme alındı.

3.4.1. *Streptococcus mutans* Türleri İçin Kültür Ortamı

Streptococcus mutans türlerinin izolasyonu için Tryptone Yeast Cysteine Sucrose Bacitracin (TYCSB) agar (HiMedia, Hindistan) besiyeri kullanıldı. Seçici özellikteki bu besiyeri üretici firmanın önerileri doğrultusunda otoklavlanarak hazırlandı ve besiyerine basitrasin içeren TYCSB Selective Supplement (HiMedia, Hindistan), final konsantrasyonu 0.2 U/ml basitrasin olacak şekilde ilave edildi. Besiyeri içerisindeki sükröz sayesinde *S. mutans*'ların üremeleri desteklenirken, basitrasin ilavesi sayesinde diğer oral streptokokların üremesi inhibe edildi.



Şekil 3.4. TYCSB agar besiyerinde *S. mutans* kolonilerinin görüntüsü

3.4.2. *Lactobacillus* Türleri İçin Kültür Ortamı

Lactobacillus türleri için seçici nitelikteki Rogosa agar (Merck, Almanya) besiyeri kullanıldı. Besiyerinin hazırlanması aşamasında önerilen oranlarda toz halindeki agar besiyeri distile su ile karıştırıldı ve agar tamamen çözülene kadar kaynatılarak steril edildi. Daha sonra %96'lık asetik asit solüsyonu (yaklaşık 1.3 ml/litre) eklenerek besiyerinin pH'sı 5.5 olarak ayarlandı. Berrak ve sarımsı-kahverengindeki plaklar ekim için kullanıldı.



Şekil 3.5. Ragosa agar besiyerinde *Lactobacillus* kolonilerinin görüntüsü

3.4.3. *Candida* Türleri İçin Kültür Ortamı

Mayaların seçici olarak üretilmesi amacıyla Sabouraud dextrose agar (Merck, Almanya) besiyeri üretici firma önerileri doğrultusunda distile suda çözülerek otoklavda steril edildi. Bu besiyerinde üreyen mayaların oluşturduğu karakteristik maya kokusundaki beyaz/krem renkli, yumuşak ve pürüzsüz koloniler ile tırtıklı görünümdeki maya kolonileri tür düzeyinde tanımlanmak üzere saflaştırılarak çoğaltıldı.

Candida ve *Lactobacillus* türlerinin tespiti için normal atmosferik koşullarda ve *S. mutans* için ise %5-10 CO₂'li ortamda 37°C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben üremeler değerlendirildi. Üreme olmayan plaklar 72 saate kadar takip edildi.

Besiyerlerinde üretilen bakteri ve mayaların tür düzeyinde tanımlanmaları için Matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) temelli VITEK MS (database v3.0, bioMérieux, Fransa) sistemi kullanıldı.



Şekil 3.6. Sabouraud agar besiyerinde *Candida* kolonilerinin görüntüsü

3.5. Direkt Örnekten PCR ile *Streptococcus mutans* Tespiti

Çalışılana kadar -80°C’de saklanan sürüntü ve tükürük örneklerinden Qiasymphony (Qiagen, Almanya) total nükleik asit izolasyon kiti ile DNA ekstraksiyonu yapıldı. Elde edilen ekstraksiyon ürünleri; *S. mutans* *gtfB* genine spesifik primerler kullanılarak yaklaşık 517 bç’lik bir bölgenin PCR ile amplifikasyonu yapıldı. Böylelikle klinik örnekteki *S. mutans* varlığı doğrulandı. PCR için kullanılan solüsyonlar ve amplifikasyon koşulları aşağıda belirtildiği gibidir.

TopTaq (Qiagen) PCR reaksiyon karışımının hazırlanması:

2X TopTaq Master Mix karışımı	12.5 µl
10X CoralLoad Concentrate	2.5 µl
Primer-F	1 µl
Primer-R	1 µl
DNAaz RNAaz free saf su	6 µl
DNA	2 µl
Toplam hacim	25 µl

PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler Tablo 3.1’de gösterilmiştir (228).

Tablo 3.1. PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler

Hedef büyüklüğü	Hedef Primer Adı	Primer dizilimi (5'-3')
517 bç	<i>gtfB</i> -F	5'-ACTACACTTTCGGGTGGCTTGG-3'
	<i>gtfB</i> -R	5'-CAGTATAAGCGCCAGTTTCATC-3'



Şekil 3.7. Qiasymphony SP otomatize ekstraksiyon sistemi

3.5.1. Amplifikasyon Koşulları

Amplifikasyon için GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems/ USA) cihazı kullanıldı. Amplifikasyon koşulları; 94°C’de 3 dakikalık ilk denatürasyonu takiben, 35 siklus olarak 94°C/30sn denatürasyon, 57°C/30 sn bağlanma ve 72°C/1 dk uzama ve 72°C/10 dk ek uzama olarak uygulandı.



Şekil 3.8. Thermal Cycler, PCR Cihazı (GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems/ USA))

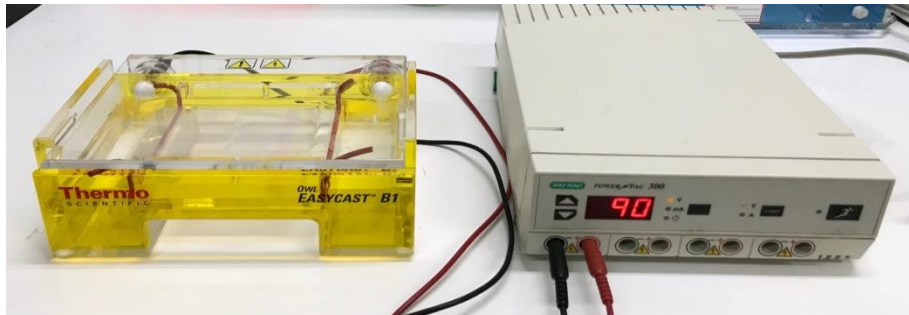
3.5.2. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezinde Görüntülenmesi

Agaroz jel elektrofrez için öncelikle aşağıda belirtilen oranlardaki kimyasallardan 10X konsantrasyonlu stok Tris-Borate-EDTA (TBE) tamponu hazırlandı. Stok solüsyonun distile su ile 1/10 oranında sulandırılması ile kullanıma hazır 1X konsantrasyonundaki tampon çözelti hem agarın hazırlanmasında hem de elektrofrez için kullanıldı.

1 Litre 10xTBE (Tris-Borate-EDTA) Tamponu (pH 8.0)

Trizma® base (Sigma-Aldrich)	121,1 gr
Ethylenediaminetetraacetic acid (disodium salt) (EDTA) (Sigma-Aldrich)	3,8 gr
Boric acid (merck)	55.55 gr

Amplifikasyon ürünlerinin elektrofrez ile yürütülmesi için ilk olarak %1.5 oranında agaroz jel hazırlandı. Bu amaçla 2.25 gr agar (Prona agarose-BIOMAX, İspanya) 150 ml 1xTBE tamponu ile çözülerek mikrodalga fırında (Arçelik) eritildi. Üzerine 5mg/ml'lık etidyum bromürden yaklaşık 20 mikrolitre (μL) eklendi ve jelin donması için soğumaya bırakıldı. Katılaştıran jel elektrofrez tankına yerleştirildi ve tankın içi 1X TBE ile dolduruldu. Çoğaltılmış DNA örneklerinin her birinden ve negatif ve pozitif kontrollerden 10 μL ve DNA molekuler ağırlık standardından (100 bp DNA ladder, New England Biolabs (NEB)) 5 μL alınarak agaroz jel kuyucuklarına yüklendi ve 90 volt/ cm^2 akımla yaklaşık 2 saat yürütüldü. Oluşturulan bantlar UV (ultraviyole) ışığı altında DNA molekuler ağırlık standardı [100 bp DNA ladder (New England Biolabs (NEB))] ile karşılaştırılarak yorumlandı ve Gel logic 2200 imaging system (Kodak Company, NY, USA) görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı.



Şekil 3.9. PCR ürünlerinin yürütüldüğü yatay elektrofrez cihazı (Thermo Scientific, ABD)

3.6. Bebek ve Ebeveynlerden İzole Edilen Bakteri ve Mayalar Arasındaki Klonal İlişkinin Tespiti

Çalışmamızda bebeklerden ve anne/babalarından elde edilen *S. mutans*, *L. fermentum* ve *C. albicans* izolatlarının klonal olarak ilişkileri araştırıldı. Bu amaçla; *S. mutans* ve *L. fermentum* için “Pulsed Field Gel Electrophoresis” (PFGE) yöntemi ve *C. albicans* için ise AP-PCR yöntemi kullanıldı. Kullanılan yöntemler aşağıda kısaca özetlenmiştir.

3.6.1. PFGE ile Klonal İlişkinin Tespiti

S. mutans ve *L. fermentum* izolatları arasındaki klonal ilişkilerin tespiti için Durmaz ve arkadaşlarının uyguladıkları, “Pulsed Field Gel Electrophoresis” (PFGE) yöntemi modifiye edilerek kullanıldı (229).

Yöntemin basamakları:

1. İzolatların Hazırlanması

Biyokimyasal ve/veya moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanımlaması yapılmış bakterilerden, insan kanlı agar besiyerine tek koloni ekimi yapıldı. Saf kültür halinde üreyen koloniler plastik öze ile toplanarak, 1 ml hücre süspansiyon tamponu (HST) (100 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA, pH 8,0) içinde süspansiyon edildi. Bakteri yoğunluğu, spektrofotometre (UV/Vis. Spectrophotometer, Boeco, Germany) yardımıyla 590 nm’de 1 absorbans olacak şekilde ayarlandı. Bakteri süspansiyonu kısa süre içinde (5 dakika) agaroz gömülecek ise oda ısısında, gecikecek ise kırık buz içinde bekletildi.

2. İzolatların Agaroz Gömülmesi

HST içerisinde %2’lik düşük erime ısıly agaroz (Gibco BRL, Paisley, UK) hazırlandı ve mikrodalga fırında agaroz iyice çözülünceye kadar eritildi. Hazırlanan agaroz karışımından 500 µl alınarak ependorf tüplere dağıtıldı ve işlem süresince 45-50°C’lik kuru ısı bloğunda bekletildi. HST içinde hazırlanan bakteri süspansiyonundan 500 µl alınarak 50°C ısı bloğunda bekletilen düşük erime ısıly agaroz 1/1 oranında eklendi. Pipetaj yapılarak iyice karışması sağlandı. Agaroz karışımı hava kabarcığı olmayacak şekilde agaroz kalıbına 100 µl olacak şekilde dağıtıldı. Kalıplar, agaroz katılaşmaya kadar +4°C’de, yaklaşık 10 dakika bekletilerek agarozun homojen olarak katılaşması sağlandı.

3. Agaroz İçindeki Hücrelerin Parçalanması

Beş ml'lik steril kapaklı tüplere, 0.5 ml hücre parçalama tamponu-1 (HPT-1) (50 mM Tris-HCl [pH 8.0], 50 mM EDTA, 2.5 mg/ml lizozim, 1.5 mg/ml proteinaz K) konuldu. İçerisinde bakteri bulunan agaroz, kalıptan çıkarılarak HPT-1 solüsyonuna yerleştirildi. 37°C'de 1 saat çalkalamalı su banyosunda bekletildi. HPT-1 dökülerek, yerine 0.5 ml HPT-2 (0.5 M EDTA, 1 mg/ml proteinaz K) konuldu. 55°C'de 2 saat çalkalamalı su banyosunda bekletildi.

4. Hücre Lizisinden Sonra Agaroz Kalıpların Yıkama

Agaroz kalıplar içerisine gömülen hücrelerin parçalama işleminin ardından HPT-2 aspire edildi. İçinde agaroz kalıp bulunan tüpe, 50°C'ye ısıtılmış olan steril ultra saf sudan 4 ml eklenerek, 50 °C çalkalamalı su banyosunda 15 dakika bekletildi. Su ile yıkama işlemi iki defa daha tekrarlandı. Su tamamen aspire edildi. Daha sonra agaroz kalıpları üç defa (her biri 50°C'de 15 dakika olmak üzere), 4 ml TE (10 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 7,6) tamponuyla yıkandı. Böylece içerisinde hücre kalıntılardan arındırılmış DNA bulunan agaroz, restriksiyon enzimi (RE) ile kesime hazır hale getirilmiş oldu.

5. Agaroz Kalıpları İçindeki DNA'nın RE İle Kesilmesi

S. mutans için etkinliği daha önce araştırılmış olan (224) SmaI (New England Biolabs (NEB)) restriksiyon endonükleaz enziminden 30 ünite ve *L. fermentum* için (230) SpeI (New England Biolabs (NEB)) enziminden 40 ünite kullanıldı.

DNA içeren agaroz kalıbı bir lam üzerine alınarak bistüri yardımı ile 1/3 oranında kesildi. Daha sonra bakteri türüne göre seçilen endonükleaz enzimleri ile uygun sıcaklıklarda yaklaşık iki saat inkübe edildi (SmaI için 25°C ve SpeI için 37°C). İnkübasyonu takiben kalıplar elektroforez işlemine alındı.

6. Elektroforez Jelinin Hazırlanması ve Kalıpların Jele Yüklenmesi

0.5X TBE (44,5 mM Trisma base, 44,5 mM Borik asit, 1 mM EDTA, pH 8,0) içinde 100 ml olacak şekilde %1' lik agaroz (pulsed-field certified agarose, Bio-Rad Laboratories) hazırlandı ve mikrodalga fırında agar homojen bir şekilde eritildi. Agaroz dökülecek kaset hazırlandı ve RE ile kesilmiş olan agaroz kalıplarının her biri, 15 dişli tarağın dişlerinin uç kısmına (tarağın uç çizgisine tam paralel olacak şekilde) yerleştirildi. Tarağın iki kenar ve ortasındaki dişlerine kontrol suşuna ait kalıplar

yüklendi. Ardından sıcaklığı yaklaşık 45-50 °C olan agaroz dikkatli bir şekilde hava kabarcığı oluşturulmadan kaset içine döküldü. Oda ısısında 20–30 dakika katılaşmaya bırakıldı. Tarak dikkatlice çıkarıldı. Kaset çerçeveleri çıkarılarak 1900-2000 ml 0.5X TBE tamponu bulunan PFGE tankına yerleştirildi.

7. Elektroforez:

S. mutans için CHEF-DR II sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) uygulanan elektroforez koşulları: Başlangıç vuruş süresi 1 sn, bitiş vuruş süresi 15 sn, vuruş açısı 120°, akım 6 V/cm², sıcaklık 14°C, süre 18 saat (TBE tamponu pH=8.0).

L. fermentum için CHEF-DR II sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) uygulanan elektroforez koşulları: Başlangıç vuruş süresi 1 sn, bitiş vuruş süresi 21 sn, vuruş açısı 120°, akım 5.5 V/cm², sıcaklık 14°C, süre 21 saat (TBE tamponu pH=8.0).

8. Sonucun Gözlenmesi ve Analizi:

Elektroforez sonrasında jel, 5µg/ml etidyum bromür içeren 400 ml ultra saf suda 20 dakika bekletildi. Gel logic 2200 imaging system (Kodak Company, NY, USA) kullanılarak DNA bant görüntülerinin fotoğrafı çekildi. Resimler TIFF formatında kaydedildi.

Elde edilen bant profillerinin analizi GelCompar version 6.6 software programı (Applied Maths, Kourtrai, Belgium) ile değerlendirildi. Bant analizleri için benzerlik hesaplarının yapılmasında Dice Benzerlik Katsayısı (Dice Similarity Coefficient) ve kümeleşme analizi için de UPGMA (Unweighted Pairwise Grouping Mathematical Averaging) yöntemi kullanıldı. İzolatlar benzerlik katsayıları göz önüne alınarak, *S. mutans* için birbirleriyle %75'in üzerinde benzerlik gösteren ve *L. fermentum* için birbirleriyle %90'ın üzerinde benzerlik gösteren suşlar ilişkili izolatlar olarak kabul edildi.

3.6.2. AP-PCR ile *Candida albicans* İzolatları Arasındaki Klonal İlişkinin Tespiti

Sabouraud dextrose agar besiyerinde saf kültür halinde üreyen *C. albicans* kolonilerinden Qiasymphony (Qiagen, Almanya) total nükleik asit izolasyon kiti ile DNA ekstraksiyonu yapıldı. Elde edilen ekstraksiyon ürünlerinden Ayan ve arkadaşları

(231) tarafından daha önce bakteriler için standardize edilmiş olan, M13 primerinin kullanıldığı AP-PCR protokolü uygulandı.

M13 primer dizisi: 5'-GAG GGT GGC GGT TCT-3'

Amplifikasyon koşulları:

Denaturasyon için 94 °C'de 5 dakika
Primer bağlanması için 40 °C'de 5 dakika
Primer uzaması için 72 °C'de 1 dakika

} 2 siklus

Denaturasyon için 94 °C'de 1 dakika
Primer bağlanması için 40 °C'de 1 dakika
Primer uzaması için 72 °C'de 2 dakika

} 40 siklus

Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel içinde 1X TBE buffer ile, önce 1 saat 100 V'ta sonra 1 gece 50 V'da elektroforeze tabi tutuldu. Daha sonra Gel logic 2200 imaging system (Kodak Company, NY, USA) görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı. Elde edilen bant profillerinin analizi GelCompar version 6.6 software programı (Applied Maths, Kourtrai, Belgium) ile değerlendirildi. Bant analizleri için benzerlik hesaplarının yapılmasında Dice Benzerlik Katsayısı (Dice Similarity Coefficient) ve kümeleşme analizi için de UPGMA (Unweighted Pairwise Grouping Mathematical Averaging) yöntemi kullanıldı. Benzerlik katsayısı %70'in üzerinde izolatlar birbirleriyle ilişkili kabul edildi.

3.7. Çalışmanın Sonlandırılması

Bebeklerden doğumdan sonra ilk 24 saatte sürüntü örnekleri alındıktan sonra ailelerle iletişim devam ettirildi. Bebeklerin birinci ayları dolduğunda ve ilk dişleri sürdüğü dönemde ailelerle tekrar iletişime geçildi ve bebeklerden tekrar oral sürüntü örnekleri alındı. İlk dişleri sürdüğü dönemde yapılan görüşmede ebeveynlerden de tükürük örnekleri alındı. Bu görüşmede ebeveynlere; bebeklerinin oral hijyenini nasıl sağlayacakları, beslenme alışkanlıklarını nasıl düzenleyecekleri konusunda bilgi verildi ve 6 ayda bir düzenli olarak bebeklerini diş hekimine götürmeleri yönünde tavsiyelerde

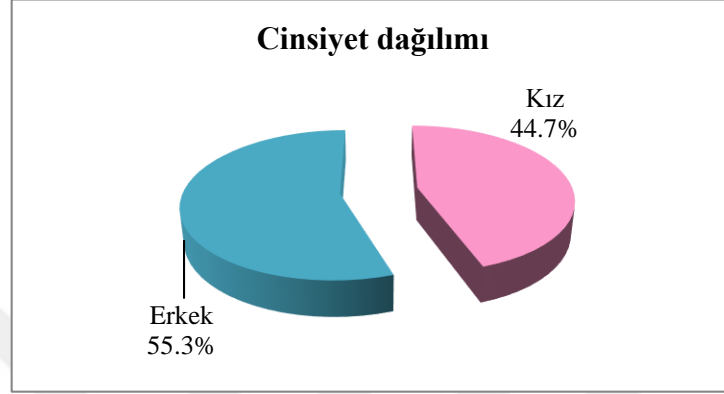
bulunuldu. Alınan örneklerle yapılan mikrobiyolojik çalışmalar ve genetik araştırmalar bitirildikten sonra çalışma sonlandırıldı.

3.8. İstatistiksel Analiz

Analiz sonuçları kategorik veriler için frekans ve yüzde olarak sunulurken, tanımlayıcı veriler için ortalama, standart sapma, ortanca (minimum-maksimum) olarak sunuldu. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Nitel verilerin karşılaştırmalarında, Ki-kare ve Fisher Exact testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi kullanılırken, ikili karşılaştırmalarda bağımsız örneklerde t-test ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. Değişkenlerin birbirleri ile korelasyonunu belirlemede Spearman Korelasyon Testi kullanıldı. Önem düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı. Çalışmadan elde edilen veriler IBM SPSS Statistics V22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile analiz edildi.

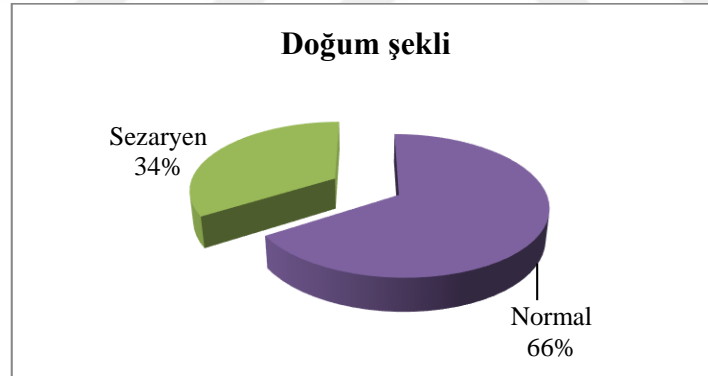
4. BULGULAR

Çalışmamıza 60 bebek ve ebeveynleriyle başlanmış takip edilen sürede 13 ebeveyn ve ailesiyle iletişim farklı nedenlerden aksamış, 47 bebek, 47 anne ve 20 baba ile çalışma sonlandırılmıştır. Bebeklerin 21'i (%44.7) kız, 26'sı (%55.3) erkektir. Bebeklerin cinsiyet dağılımı Şekil 4.1' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Bebeklerin cinsiyet dağılımı

Çalışmaya katılan bebeklerin 31'i (%66) normal doğumla, 16'sı (%34) sezaryenle doğmuştur. Bebeklerin doğum şekli oranları Şekil 4.2' de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Bebeklerin doğum şekilleri

Bebeklerin doğum ağırlığı minimum 2100 gr, maksimum 4750 gr, ortalama 3267.02 ± 48.2 gr olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Bebeklerin doğum ağırlığı minimum, maksimum ve ortalama değerleri

	n	Minimum	Maksimum	Ort. \pm S.S.
Bebek doğum ağırlığı (gr)	47	2100	4750	3267.02 ± 48.2

Çalışmaya katılan annelerin yaşları 20-39 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 30.23 ± 4.75 yıl olarak bulunmuştur (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Annelerin yaşlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri

	n	Minimum	Maksimum	Ort. ± S.S
Annenin yaşı (yıl)	47	20	39	30.23 ± 4.75

Çalışmaya katılan bebeklerin hepsinin en küçük çocuk oldukları, 8 bebeğin ilk çocuk olduğu gözlenmiştir. Çalışmaya katılan ailelerdeki çocuk sayıları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Ailelerdeki çocuk sayıları

	n (%)
1 çocuk	8 (17.0)
2 çocuk	16 (34.0)
3 çocuk	14 (29.8)
4 çocuk	6 (12.8)
5 çocuk	1 (2.1)
6 çocuk	1 (2.1)
7 çocuk	1 (2.1)

Anne ve babaların eğitim durumları incelenmiş; annelerin %14.9'unun, babaların %21.3'ünün üniversite mezunu olduğu görülmüştür (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Anne ve babaların eğitim düzeyleri

Eğitim durumu	Anne n (%)	Baba n (%)
İlkokul	15 (31.9)	11 (23.4)
Ortaokul	11 (23.4)	5 (10.6)
Lise	14 (29.8)	21 (44.7)
Üniversite	7 (14.9)	10 (21.3)

Çalışmaya dahil edilen annelerin DMF-T ortalaması 8.53±6.97, babaların 9.70±6.92 olarak tespit edilmiştir. Anne ve babaların DMF-T değerleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Anne ve babaların DMF-T değerleri

DMF-T	n (%)	Ort. ± S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Anne	47 (100.0)	8.53 ± 6.97	7	0	30
Baba	20 (100.0)	9.70 ± 6.92	9	2	28

Ağız içi muayeneleri sonucu sabit ya da hareketli protez kullandığı tespit edilen velilerin oranları Tablo 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Ebeveynlerin sabit/hareketli protez kullanma durumu

	Anne n (%)	Baba n (%)
Evet	14 (29.8)	6 (30.0)
Hayır	33 (70.2)	14 (70.0)

Anne ve babaların diş fırçalama alışkanlıkları Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Ebeveynlerin diş fırçalama alışkanlıkları

Diş fırçalama sıklığı	Anne n (%)	Baba n (%)
Günde 1	18 (38.3)	6 (30.0)
Günde 2	9 (19.1)	1 (5.0)
Nadiren	20 (42.6)	13 (65.0)

Annelerin 17’sinin (%36.2) hamilelikte bakteriyel hastalık geçirdiği ve antibiyotik kullandığı, 30’unun (%63.8) kullanmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Annelerin hamilelik dönemi bulguları

		n (%)
Annenin hamilelikte geçirdiği ateşli hastalık var mı?	Evet	17 (36.2)
	Hayır	30 (63.8)
Hamilelikte antibiyotik kullandı mı?	Evet	17 (36.2)
	Hayır	30 (63.8)

Bebeklerden doğumdan sonra ilk 24 saat içerisinde oral bölgeden sürüntü örnekleri alınmıştır. Ortalama sürüntü alma zamanları ortalaması doğumdan sonra 14.61±7.13 saattir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Bebeklerden alınan ilk örneklerin toplanma zamanları

	n	Minimum	Maksimum	Ort. ± S.S.
İlk 24 saat içinde (sa)	47	1.66	24	14.61 ± 7.13

Takipler sırasında ailelere sorulan anket sorularının frekans verileri Tablo 4.10’da gösterilmiştir. Bebeği ağızdan öpme alışkanlığı ve bebeğe emzik verme durumu

anne ve baba açısından değerlendirilmiş, ancak babaların hiçbirinin bebeğini ağızdan öpmediği ve emziğini bebeğine vermeden tatma alışkanlığı olmadığı tespit edilmiştir. Bu yüzden ebeveynlerin ağızdan öpme ve emzik verme alışkanlığı durumu bulguları annelerin sonuçlarını yansıtmaktadır. Bebeklerin ağızdan öpülme bulguları hesaplanırken annelere; hangi aydan itibaren ağızdan öpmeye başladıkları sorulmuş ve diş sürdüğü dönem sürüntü alınırken bebeğin kaç aydır ağızdan öpüldüğü ayrıca hesaplanmıştır.

Tablo 4.10. Bebekler için yapılan anket formunun verileri

		1. ay n (%)	İlk diş sürdüğü dönem n (%)
Beslenme şekli	Anne sütü	31 (66)	28 (59.6)
	Mama	0 (0.0)	7 (14.9)
	Anne sütü +mama	16(34.0)	12 (25.5)
Gece beslenmesi	Anne sütü	36 (76.6)	36 (76.6)
	Mama	3 (6.4)	3 (6.4)
	Gece beslenmez	8 (17.0)	8 (17.0)
Bebek bakteriyel/viral enfeksiyon geçirdi mi?	Evet	5 (10.6)	27 (57.4)
	Hayır	42 (89.4)	20 (42.6)
Bebek antibiyotik kullandı mı?	Evet	5 (10.6)	27 (57.4)
	Hayır	42 (89.4)	20 (42.6)
Bebeği ağızdan öpme alışkanlığınız var mı? (anne)	Evet	28 (59.6)	29 (61.7)
	Hayır	19 (40.4)	18 (38.3)
Emzik kullanıyor mu? (anne)	Şekerli bir besine batırıp veriyorum	2 (4.3)	3 (6.4)
	Kendim tadıp veriyorum	4 (8.5)	1 (2.1)
	Hiçbir şey yapmadan veriyorum	24 (51.1)	21 (44.7)
	Kullanmıyor	17 (36.2)	22 (46.8)

4.1. *S. mutans* İçin Bulgular

Çalışmamızda bebeklerden doğumdan sonraki ilk 24 saatte ve 1. aylarını doldurduklarında alınan örneklerde *S. mutans* tespit edilmemiştir. Bebeklerin ilk dişi sürdüğü zaman alınan örneklerde 15 (%31.9) bebekten *S. mutans* izole edilmiştir. Bebeklerin *S. mutans* sayılarının değerleri Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Bebeklerden *S. mutans* izole edilme oranları ve izole edilen *S. mutans* değerleri

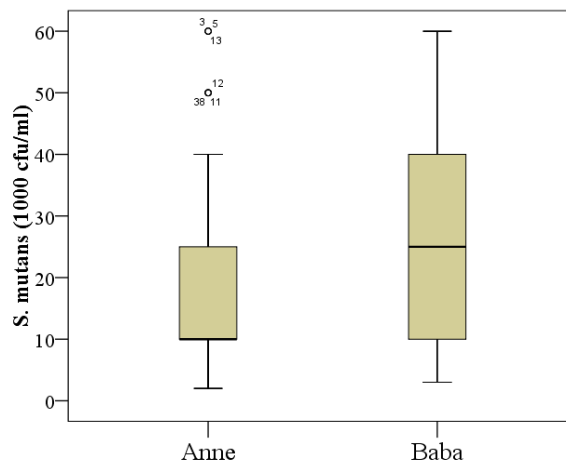
SM sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
İlk 24 saat	0	0.00 \pm 0.00	0	0	0
1. ay	0	0.00 \pm 0.00	0	0	0
İlk dişi sürdüğü dönem	15 (31.9)	0.56 \pm 1.33	0	0	8

SM: *S. mutans*

Annelerin *S. mutans* sayısı ortalama $(19.66+17.42) \times 10^3$ cfu/ml, babaların $(27.05+18.62) \times 10^3$ cfu/ml olarak saptanmıştır. Anne ve baba *S. mutans* sayıları arasında korelasyon görülmemiştir ($r=0.201$, $p=0.396$). Bebeklerin dişleri sürdüğü dönemde oral floralarında tespit edilen *S. mutans* sayısı ile anne ve babaların *S. mutans* sayıları karşılaştırılmış, anne ve bebekler arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0.763$, $p<0.001$). Babaların *S. mutans* sayısı ile bebeklerin *S. mutans* sayısı arasında herhangi bir korelasyon tespit edilmemiştir ($r=0.326$, $p=0.160$). Anne ve babaların *S. mutans* değerleri Tablo 4.12 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.12. Anne ve babalardan *S. mutans* izole edilme oranları ve izole edilen *S. mutans* değerleri

SM sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Anne SM	47 (100.0)	19.66 \pm 17.42	10	2	60
Baba SM	20 (100.0)	27.05 \pm 18.62	25	3	60

SM: *S. mutans***Şekil 4.3.** Anne ve babalardan izole edilen *S. mutans* sayılarının grafik gösterimi

Anne ve babaların DMF-T değerleri ve izole edilen *S. mutans* sayıları karşılaştırıldığında DMF-T değerleri ile *S. mutans* sayıları arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0.341$, $p=0.019$; $r=0.488$, $p=0.029$).

İlk dişleri sŸrdŸęŸ dŸnem *S. mutans* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerine bakıldığında *S. mutans* izole edilen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerinin anlamlı olarak daha yŸksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.13). Babaların DMF-T değerleri de *S. mutans* izole edilen bebeklerde yŸksek gŸrŸlmŸř, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.14). Ayrıca annelerin DMF-T değerleri ve bebeklerden izole edilen *S. mutans* sayıları arasında pozitif korelasyon gŸrŸlmŸřtŸr ($r=0.366$, $p=0.011$). Babaların DMF-T değerleri ve bebeklerin *S. mutans* sayıları arasında korelasyon gŸzlenmemiřtir ($r=0.000$, $p=1.000$).

Tablo 4.13. Bebeklerden *S. mutans* izolasyonuna gŸre annelerin DMF-T değerleri

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>S. mutans</i> (+)	9 (3 - 30)	U= 332.500	0.034
<i>S. mutans</i> (-)	6 (0 - 28)		

U: Mann Whitney U testi

Tablo 4.14. Bebeklerden *S. mutans* izolasyonuna gŸre babaların DMF-T değerleri

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>S. mutans</i> (+)	11.5 (2 - 28)	U= 61.000	0.314
<i>S. mutans</i> (-)	5 (2 - 16)		

U: Mann Whitney U testi

İlk dişleri sŸrdŸęŸ dŸnem *S. mutans* izole edilen ve edilmeyen bebekler; anne ve babalarının sabit/hareketli protez kullanımı, diş firęalama sıklığı ve eğitim dŸzeylerine gŸre değerlendirilmiş, bu değişkenlere gŸre anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. İlk dişleri sürdüğü dönem *S. mutans* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin ebeveynlerinin bulgularına göre değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>S. mutans</i> (+)	<i>S. mutans</i> (-)	p değeri
Annenin sabit/ hareketli protez kullanımı (n=47)	Evet	5 (%33.3)	9 (%28.1)	0.742
	Hayır	10 (%67.7)	23 (%71.9)	
Babanın sabit/ hareketli protez kullanımı (n=20)	Evet	2 (%16.7)	4 (%50.0)	0.112
	Hayır	10 (%83.3)	4 (%50.0)	
Annenin diş fırçalama sıklığı (n=47)	Günde 1	7 (%46.7)	11 (%34.4)	0.319
	Günde 2	1 (%6.7)	8 (%25.0)	
	Nadiren	7 (%46.7)	13 (%40.6)	
Babanın diş fırçalama sıklığı (n=20)	Günde 1	4 (%33.3)	2 (%25.0)	0.444
	Günde 2	0 (%0.0)	1 (%12.5)	
	Nadiren	8 (%67.7)	5 (%62.5)	
Annenin eğitim seviyesi (n=47)	İlkokul	3 (%20.0)	12 (%37.5)	0.523
	Ortaokul	3 (%20.0)	8 (%25.0)	
	Lise	6 (%40.0)	8 (%25.0)	
	Üniversite	3 (%20.0)	4 (%12.5)	
Babanın eğitim seviyesi (n=47)	İlkokul	3 (%20.0)	8 (%25.0)	1.000
	Ortaokul	2 (%13.3)	3 (%9.4)	
	Lise	7 (%46.7)	14 (%43.8)	
	Üniversite	3 (%20.0)	7 (%21.9)	

S. mutans (+): *S. mutans* izole edilen

S. mutans (-): *S. mutans* izole edilmeyen

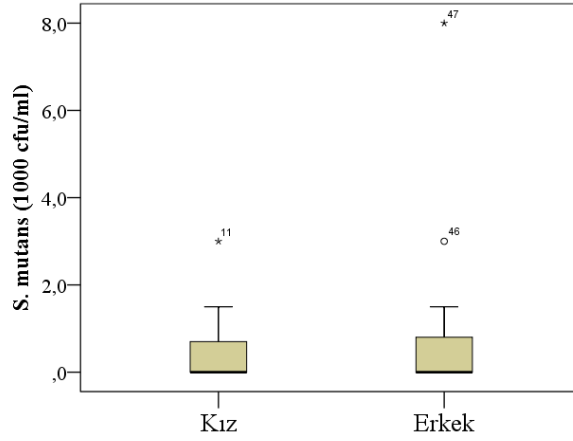
Ailelerdeki çocuk sayısı ve bebeklerden izole edilen *S. mutans* miktarı karşılaştırılmış, korelasyon görülmemiştir ($r = -0.084$, $p = 0.575$).

İlk dişleri sürdüğü dönem 21 kız bebeğin 7'sinden (%33.3), 26 erkek bebeğin 8'inden (%30.8) *S. mutans* izole edilmiştir. Kızların ortalama *S. mutans* sayısı $(0.42 \pm 0.77) \times 10^3$ cfu/ml, erkeklerin ortalama *S. mutans* sayısı $(0.67 \pm 1.66) \times 10^3$ cfu/ml'dir. Erkeklerin oral florasından daha yüksek oranda *S. mutans* izole edilmiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4.16. Cinsiyete göre *S. mutans* izole edilme oranları ve izole edilen *S. mutans* değerleri

SM sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kız	7 (33.3)	0.42 ± 0.77	0	0	3
Erkek	8 (30.8)	0.67 ± 1.66	0	0	8

$p = 0.663$, SM: *S. mutans*



Şekil 4.4. Bebeklerin cinsiyete göre *S. mutans* sayılarının grafik gösterimi

İlk dişi sürdüğünde *S. mutans* izole edilen ve izole edilmeyen bebekler; doğum şekillerine, beslenme şekillerine, geçirdikleri hastalıklara ve ilaç kullanımına göre değerlendirilmiş, bu değişkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. İlk dişleri sürdüğü dönem *S. mutans* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>S. mutans</i> (+) n:15	<i>S. mutans</i> (-) n:32	p değeri
Doğum şekli	Normal	12 (%80.0)	19 (%59.4)	0.289
	Sezaryen	3 (%20.0)	13 (%40.6)	
Beslenme şekli	Anne sütü	10 (%66.7)	18 (%56.3)	0.395
	Mama	3 (%20.0)	4 (%12.5)	
	Anne sütü +mama	2 (%13.3)	10 (%31.3)	
Gece beslenmesi	Anne sütü			
	Mama			
Bebek bakteriyel/viral enfeksiyon geçirdi mi?	Gece beslenmez			
	Evet	9 (%60.0)	18 (%56.3)	
Bebek antibiyotik kullandı mı?	Hayır	6 (%40.0)	14 (%43.8)	1.000
	Evet	9 (%60.0)	18 (%56.3)	1.000
	Hayır	6 (%40.0)	14 (%43.8)	

S. mutans (+): *S. mutans* izole edilen

S. mutans (-): *S. mutans* izole edilmeyen

İlk diş sürme döneminde bazı bebeklerde simetrik ve karşı dişlerin beraber sürdüğü görülmüştür. Ağızdaki diş sayısı ve izole edilen *S. mutans* sayısı

karşılaştırıldığında aralarında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir ($r=0.291$, $p=0.047$) (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. Diş sayılarına göre *S. mutans* izole edilme oranları ve izole edilen *S. mutans* değerleri

SM sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
1 diş	23 (48.9)	0.28 \pm 0.70	0	0	3
2 diş	20 (42.6)	0.41 \pm 0.62	0	0	1.5
4 diş	4 (8.5)	2.92 \pm 3.61	1.85	0	8

$p=0.047$, SM: *S. mutans*

İlk diş sürme döneminde *S. mutans* izole edilen bebeklerin doğum kilosunun ortalama 3257.33 ± 535.24 gr, izole edilmeyen bebeklerin ortalama 3271.56 ± 470.45 gr olduğu saptanmıştır. Doğum kiloları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

S. mutans izole edilen bebeklerin annelerinin yaşı ortalama 30.66 ± 4.90 yıl, izole edilmeyen bebeklerin annelerinin yaşı ortalama 30.03 ± 4.74 yıl olarak tespit edilmiştir. Annelerin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.19. *S. mutans* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin, doğum kiloları ve annelerinin yaşıyla karşılaştırılması

	<i>S. mutans</i> (+) n:15	<i>S. mutans</i> (-) n:32	p değeri
Doğum kilosu (gr)	3257.33 ± 535.24	3271.56 ± 470.45	0.927
Annenin yaşı (yıl)	30.66 ± 4.90	30.03 ± 4.74	0.674

S. mutans (+): *S. mutans* izole edilen

S. mutans (-): *S. mutans* izole edilmeyen

S. mutans izole edilen ve edilmeyen bebekler günlük anne sütü alma sıklıklarına göre değerlendirilmiş, anne sütünü daha sık tüketen bebeklerde daha düşük oranda *S. mutans* izolasyonu görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.20. *S. mutans* izolasyonuna göre günlük anne sütü alma sıklığı

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>S. mutans</i> (+)	6 (0 - 17)	U= 183.000	0.191
<i>S. mutans</i> (-)	8 (0 - 15)		

U: Mann Whitney U testi

İlk dişi sürme döneminde *S. mutans* izole edilen ve izole edilmeyen bebekler, emzik kullanımları ve annelerinin onları öpme alışkanlıklarına göre değerlendirilmiş, ancak bu değişkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.21).

Tablo 4.21. *S. mutans* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin anneleriyle ilişkisine göre değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>S. mutans</i> (+) n:15	<i>S. mutans</i> (-) n:32	p değeri
Bebegi ağızdan öpme alışkanlığınız var mı? (anne)	Evet	12 (%80.0)	17 (%53.1)	0.148
	Hayır	3 (%20.0)	15 (%46.9)	
Emzik kullanıyor mu? (anne)	Şekerli bir besine batırıp veriyorum	1 (%6.7)	2 (%6.3)	0.478
	Kendim tadıp veriyorum	0 (%0.0)	1 (%3.1)	
	Hiçbir şey yapmadan veriyorum	9 (%60.0)	12 (%37.5)	
	Kullanmıyor	5 (%33.3)	17 (%53.1)	

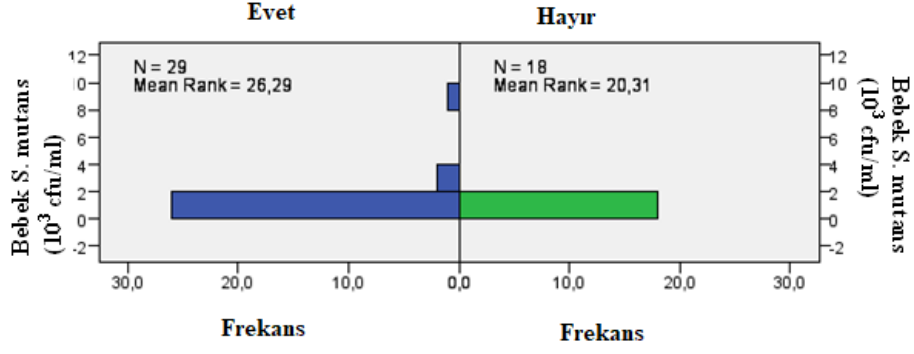
S. mutans (+): *S. mutans* izole edilen
S. mutans (-): *S. mutans* izole edilmeyen

S. mutans izole edilen 15 bebeğin 12'sinin (%80.0) annelerinin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığı olduğu tespit edilmiştir. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerden izole edilen *S. mutans* sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.22. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeğin *S. mutans* değerleri

Ağızdan öpme alışkanlığı var mı?	Ort ± S.S.	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
Evet	0.80 ± 1.63	0 (0 - 8)	U= 194.500	0.078
Hayır	0.18 ± 0.43	8 (0 - 1.5)		

U: Mann Whitney U testi

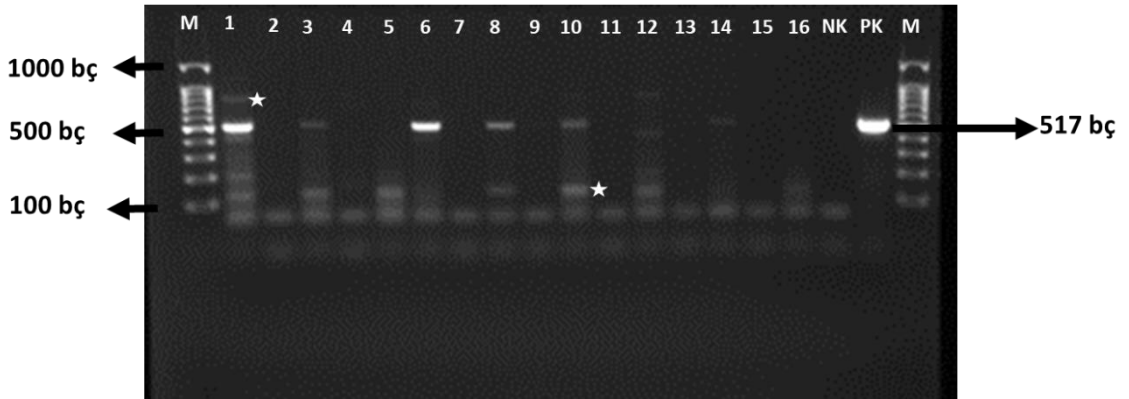


Şekil 4.5. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *S. mutans* değerlerinin frekans dağılımı

Şekil 4.5'te annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *S. mutans* değerleri görülmektedir. Ağızdan öpülen bebeklerin *S. mutans* değerleri daha yüksek aralıkta birikmiştir.

Bebeklerin ilk dişleri sürdüğü dönemde annelerinin bebeklerini kaç aydır ağızdan öptüğü hesaplandığında; ay sayısı ve bebeklerden izole edilen *S. mutans* sayısı arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0.296$, $p=0.044$).

S. mutans'ın PCR agoroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



M; 100 bç'lik DNA ladder
 1-16; hasta örnekleri
 NK; Negatif kontrol
 PK; Pozitif kontrol
 * Özgün olmayan bantlar dikkate alınmamıştır

Şekil 4.6. *S. mutans* PCR agoroz jel elektroforez görüntüsü

4.2. *Lactobacillus* Türleri İçin Bulgular

Doğumdan sonraki ilk 24 saat içerisinde bebeklerden alınan örneklerden *Lactobacillus* türleri tespit edilmemiştir. Bebekler 1. ayını doldurdıklarında alınan oral sürüntü örneklerinde 4 bebekten (%8.5), ilk dişleri sürdüğü dönem alınan örneklerde 17 (%34.0) bebekten *Lactobacillus* türleri izole edilmiştir. Bebeklerin *Lactobacillus* değerleri Tablo 4.23'te gösterilmiştir.

Tablo 4.23. Bebeklerden *Lactobacillus* izole edilme oranları ve izole edilen *Lactobacillus* değerleri

LB sayısı (10 ³ cfu/ml)	n (%)	Ort. ± S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
İlk 24 saat	0 (0.0)	0.00 ± 0.00	0	0	0
1. ay	4 (8.5)	0.08 ± 0.28	0	0	1.5
İlk dişi sürdüğü dönem	17 (34.0)	0.61 ± 1.11	0	0	5

LB: *Lactobacillus spp.*

Bebeklerden 1. ayda alınan ve ilk dişleri sürdüğü dönemde alınan örneklerin *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p<0.01).

Tablo 4.24. 1. ay ve dişi sürme dönemi arasındaki *Lactobacillus* artışı

<i>Lactobacillus spp.</i>	Z	p
1. ay- ilk dişi sürdüğü dönem	-0.329	0.001

Bebeklerden ve ebeveynlerinden izole edilen *Lactobacillus* türleri Tablo 4.25'te gösterilmiştir.

Tablo 4.25. İzole edilen *Lactobacillus* türleri

	Bebek 1. ay	Bebek ilk dişi	Anne	Baba
<i>L. fermentum</i>	1	14	40	15
<i>L. salivarius</i>	-	-	2	1
<i>L. ramnus</i>	3	3	4	2
<i>L. buchneri</i>	-	-	1	2

1. ayda *Lactobacillus* türleri izole edilen 4 bebekten 3'ünde *L. ramnus*, 1'inde *L. fermentum* görülmüştür. *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebekler;

cinsiyetlerine, doğum şekillerine, beslenme şekillerine, geçirdikleri hastalıklara, ilaç kullanımlarına, emzik kullanımlarına ve ailelerinin onları öpme alışkanlıklarına göre değerlendirilmiş, bu değişkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.26).

Tablo 4.26. 1. ayda *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi

1. ay		<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	p değeri
		(+) n:4	(-) n:43	
Cinsiyet	Kız	1 (%25.0)	20 (%46.5)	0.617
	Erkek	3 (%75.0)	23 (%53.5)	
Doğum şekli	Normal	3 (%75.0)	28 (%65.1)	1.000
	Sezaryen	1 (%25.0)	15 (%34.9)	
Beslenme şekli	Anne sütü	3 (%75.0)	28 (%65.1)	1.000
	Mama	0 (%0.0)	0 (%0.0)	
	Anne sütü +mama	1 (%25.0)	15 (%34.9)	
Bebek bakteriyel/viral enfeksiyon geçirdi mi?	Evet	0 (%0.0)	5 (%11.6)	1.000
	Hayır	4 (%100)	38 (%88.4)	
Bebek antibiyotik kullandı mı?	Evet	0 (%0.0)	5 (%11.6)	1.000
	Hayır	4 (%100)	38 (%88.4)	
Bebeği ağızdan öpme alışkanlığınız var mı? (anne)	Evet	2 (%50.0)	26 (%60.5)	1.000
	Hayır	2 (%50.0)	17 (%39.5)	
Emzik kullanıyor mu? (anne)	Şekerli bir besine batırıp veriyorum	1 (%25.0)	1 (%2.3)	0.267
	Kendim tadıp veriyorum	0 (%0.0)	4 (%9.3)	
	Hiçbir şey yapmadan veriyorum	2 (%50.0)	22 (%51.2)	
	Kullanmıyor	1 (%25.0)	16 (%37.2)	

Lactobacillus spp (+): *Lactobacillus spp.* izole edilen

Lactobacillus spp (-): *Lactobacillus spp.* izole edilmeyen

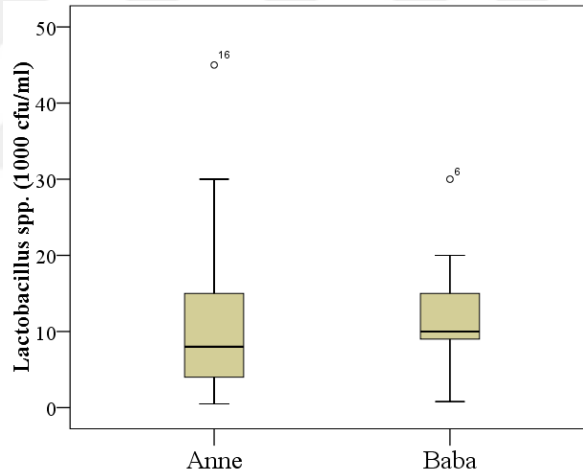
Annelerden izole edilen *Lactobacillus* sayısı ortalama $(10.26+9.66)\times 10^3$ cfu/ml, babalardan izole edilen *Lactobacillus* sayısı ortalama $(11.05\pm 6.97)\times 10^3$ cfu/ml olarak saptanmıştır. Anne ve babaların *Lactobacillus* sayıları arasında herhangi bir korelasyon

tespit edilmemiştir ($r=0.130$, $p=0.585$). Bebeklerin dişleri sürdüğü dönemde alınan örneklerdeki *Lactobacillus* sayıları, anne ve babanın *Lactobacillus* sayılarıyla karşılaştırılmış, anneyle bebek arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0.396$, $p=0.006$). Baba ve bebekten izole edilen *Lactobacillus* sayıları arasında herhangi bir korelasyon görülmemiştir ($r=0.293$, $p=0.209$). Anne ve babaların *Lactobacillus* değerleri Tablo 4.27 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.27. Anne ve babalardan *Lactobacillus* izole edilme oranları ve izole edilen *Lactobacillus* değerleri

LB sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Anne	47 (100)	10.26 \pm 9.66	8	0.5	45
Baba	20 (100)	11.05 \pm 6.97	10	0.8	30

LB: *Lactobacillus* spp.



Şekil 4.7. Anne ve babalardan izole edilen *Lactobacillus* sayılarının grafik gösterimi

Anne ve babaların DMF-T değerleri ve izole edilen *Lactobacillus* sayıları karşılaştırıldığında annelerin DMF-T değerleri ve *Lactobacillus* sayıları arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0.288$, $p=0.050$). Babaların DMF-T değerleri ve *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilememiştir ($r= -0.235$, $p=0.319$).

İlk dişleri sürdüğü dönem *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerine bakıldığında *Lactobacillus* izole edilen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir

($p < 0.05$) (Tablo 4.28). Babaların DMF-T değerleri de *Lactobacillus* izole edilen bebeklerde yüksek görülmüş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4.29). Ayrıca annelerin DMF-T değerleri ve bebeklerden izole edilen *Lactobacillus* sayısı arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r = 0.387$, $p = 0.007$). Babaların DMF-T değerleri ve bebeklerin *Lactobacillus* sayıları arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r = -0.090$, $p = 0.705$).

Tablo 4.28. Bebeklerden *Lactobacillus* izolasyonuna göre annelerin DMF-T değerleri

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>Lactobacillus spp.</i> (+)	9 (2 - 30)	U= 381.000	0.005
<i>Lactobacillus spp.</i> (-)	5.5 (0 - 28)		

U: Mann Whitney U testi

Tablo 4.29. Bebeklerden *Lactobacillus* izolasyonuna göre babaların DMF-T değerleri

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>Lactobacillus spp.</i> (+)	10 (2 - 28)	U= 51.000	0.909
<i>Lactobacillus spp.</i> (-)	8 (3 - 16)		

U: Mann Whitney U testi

İlk dişleri sürdüğü dönem *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebekler; anne ve babalarının sabit/hareketli protez kullanımı, diş fırçalama sıklığı ve eğitim düzeylerine göre değerlendirilmiş, bu değişkenlere göre anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p > 0.05$) (Tablo 4.30).

Tablo 4.30. İlk dişleri sürdüğü dönem *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin ebeveynlerinin bulgularına göre değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	p değeri
		(+)	(-)	
Annenin sabit/ hareketli protez kullanımı (n=47)	Evet	7 (%41.2)	7 (%23.3)	0.340
	Hayır	10 (%58.8)	23 (%76.7)	
Babanın sabit/ hareketli protez kullanımı (n=20)	Evet	2 (%18.2)	4 (%44.4)	0.336
	Hayır	9 (%81.8)	5 (%55.6)	
Annenin diş fırçalama sıklığı (n=47)	Günde 1	9 (%52.9)	9 (%30.0)	0.275
	Günde 2	2 (%11.8)	7 (%23.3)	
	Nadiren	6 (%35.3)	14 (%46.7)	
Babanın diş fırçalama sıklığı (n=20)	Günde 1	4 (%36.4)	2 (%22.2)	0.459
	Günde 2	0 (%0.0)	1 (%11.1)	
	Nadiren	7 (%63.6)	6 (%66.7)	
Annenin eğitim seviyesi (n=47)	İlkokul	4 (%23.5)	11 (%36.7)	0.803
	Ortaokul	4 (%23.5)	7 (%23.3)	
	Lise	6 (%35.3)	8 (%26.7)	
	Üniversite	3 (%17.6)	4 (%13.3)	
Babanın eğitim seviyesi (n=47)	İlkokul	3 (%17.6)	8 (%26.7)	0.806
	Ortaokul	2 (%11.8)	3 (%10.0)	
	Lise	9 (%52.9)	12 (%40.0)	
	Üniversite	3 (%17.6)	7 (%23.3)	

Lactobacillus spp (+): *Lactobacillus spp.* izole edilen

Lactobacillus spp (-): *Lactobacillus spp.* izole edilmeyen

Ailelerdeki çocuk sayısı ve bebeklerden izole edilen *Lactobacillus* miktarı karşılaştırılmış, korelasyon görülmemiştir ($r = -0.074$, $p = 0.619$).

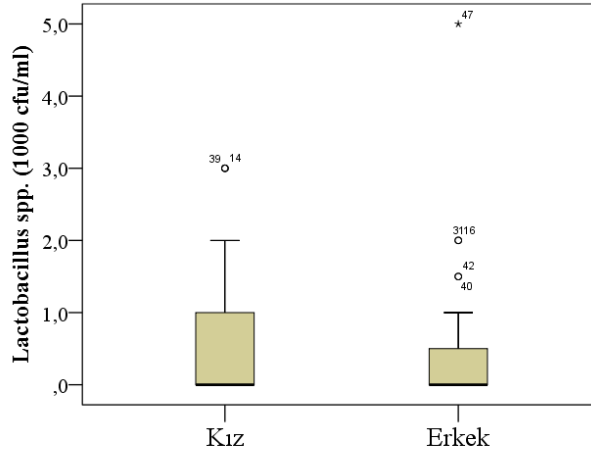
Bebeklerin ilk dişleri sürdüğünde 17 (%34.0) tanesinden *Lactobacillus* türleri izole edilmiştir. Bu 17 bebekten izole edilen *Lactobacillus* türlerinin 3 tanesinin *L. ramnus*, 14 tanesinin *L. fermentum* olduğu tespit edilmiştir.

İlk dişleri sürdüğü dönem kız bebeklerin 8'inden (%38.1), erkek bebeklerin 9'undan (%34.6) *Lactobacillus* türleri izole edilmiştir. İlk dişleri sürdüğünde kızlarda görülen *Lactobacillus* sayısı ortalama $(0.70 \pm 1.13) \times 10^3$ cfu/ml, erkeklerde görülen *Lactobacillus* sayısı ortalama $(0.55 \pm 1.11) \times 10^3$ cfu/ml'dir. Cinsiyete göre *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4.31. *Lactobacillus* izole edilen bebeklerin cinsiyete göre değerleri

LB sayısı (10 ³ cfu/ml)	n (%)	Ort. ± S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kız	8 (38.1)	0.70 ± 1.13	0	0	3
Erkek	9 (34.6)	0.55 ± 1.11	0	0	5

p=0.255, LB: *Lactobacillus* spp.



Şekil 4.8. Bebeklerin cinsiyete göre *Lactobacillus* sayılarının grafik gösterimi

İlk dişi sürdüğünde *Lactobacillus* türleri izole edilen ve edilmeyen bebekler doğum şekillerine, beslenme şekillerine, geçirdikleri hastalıklara ve antibiyotik kullanıp kullanmama durumlarına göre değerlendirilmiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 4.32).

Tablo 4.32. İlk dişleri sürdüğü dönem *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	p değeri
		(+) n:17	(-) n:30	
Doğum şekli	Normal	12 (%70.6)	19 (%63.3)	0.854
	Sezaryen	5 (%29.4)	11 (%36.7)	
Beslenme şekli	Anne sütü	9 (%52.9)	19 (%63.3)	0.783
	Mama	3 (%17.6)	4 (%13.3)	
	Anne sütü +mama	5 (%29.4)	7 (%23.3)	
Bebek bakteriyel/viral enfeksiyon geçirdi mi?	Evet	10 (%58.8)	17 (%56.7)	1.000
	Hayır	7 (%41.2)	13 (%43.3)	
Bebek antibiyotik kullandı mı?	Evet	10 (%58.8)	17 (%56.7)	1.000
	Hayır	7 (%41.2)	13 (%43.3)	

Lactobacillus spp (+): *Lactobacillus* spp. izole edilen

Lactobacillus spp (-): *Lactobacillus* spp. izole edilmeyen

İlk diş sürme döneminde bebeğin ağızında görülen diş sayısı ve izole edilen *Lactobacillus* sayısı karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir ($r=0.239$, $p=0.106$) (Tablo 4.33).

Tablo 4.33. Diş sayılarına göre *Lactobacillus* izole edilme oranları ve izole edilen *Lactobacillus* değerleri

LB sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
1 diş	23 (48.9)	0.42 \pm 0.88	0	0	3
2 diş	20 (42.6)	0.64 \pm 1.01	0	0	3
4 diş	4 (8.5)	1.62 \pm 2.28	0.75	0	5

$p=0.106$, LB: *Lactobacillus* spp.

İlk diş sürme döneminde *Lactobacillus* türleri izole edilen bebeklerin doğum kilosunun ortalama 3240.0 ± 473.74 gr, izole edilmeyen bebeklerin ise 3282.33 ± 500.46 gr olduğu saptanmıştır. Doğum kiloları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Lactobacillus türleri izole edilen bebeklerin annelerinin yaş ortalaması 30.76 ± 4.65 yıl, izole edilmeyen bebeklerin annelerinin yaş ortalaması 29.93 ± 4.86 yıl olarak tespit edilmiştir. Annelerin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.34. *Lactobacillus* izolasyonu ile bebeğin kilosu ve annelerinin yaşının karşılaştırılması

	<i>Lactobacillus</i> spp. (+) n:17	<i>Lactobacillus</i> spp.(-) n:30	p değeri
Doğum kilosu (gr)	3240.0 ± 473.74	3282.33 ± 500.46	0.778
Annenin yaşı (yıl)	30.76 ± 4.65	29.93 ± 4.86	0.570

Lactobacillus spp (+): *Lactobacillus* spp. izole edilen

Lactobacillus spp (-): *Lactobacillus* spp. izole edilmeyen

Lactobacillus izole edilen ve edilmeyen bebekler günlük anne sütü alma sıklıklarına göre değerlendirilmiş, anne sütünü daha sık tüketen bebeklerde daha düşük oranda *Lactobacillus* izolasyonu görülmüştür. Ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.35. *Lactobacillus* izolasyonuna göre günlük anne sütü alma sıklığı

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>Lactobacillus spp.</i> (+)	7 (0 - 17)	U= 235.000	0.656
<i>Lactobacillus spp.</i> (-)	7.5 (0 - 15)		

U: Mann Whitney U testi

Diş sürme dönemi *Lactobacillus* türleri görülen bebeklerin annelerinin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlıkları sorgulanmış, 15'inin (%88.2) bebeğini ağızdan öptüğü tespit edilmiştir. Annelerin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerde gözlenen *Lactobacillus* sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Emzik kullanımına göre bebeklerden izole edilen *Lactobacillus* sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.36. *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin anneleriyle ilişkisine göre değerlendirilmesi

İlk diş sürdüğü dönem		<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	p değeri
		(+) n:17	(-) n:30	
Bebeği ağızdan öpme alışkanlığı var mı? (anne)	Evet	15 (%88.2)	14 (%46.7)	0.012
	Hayır	2 (%11.8)	16 (%53.3)	
Emzik kullanıyor mu? (anne)	Şekerli bir besine batırıp veriyorum	0 (%0.0)	3 (%10.0)	0.445
	Kendim tadıp veriyorum	0 (%0.0)	1 (%3.3)	
	Hiçbir şey yapmadan veriyorum	9 (%52.9)	12 (%40.0)	
	Kullanmıyor	8 (%47.1)	14 (%46.7)	

Lactobacillus spp (+): *Lactobacillus spp.* izole edilen

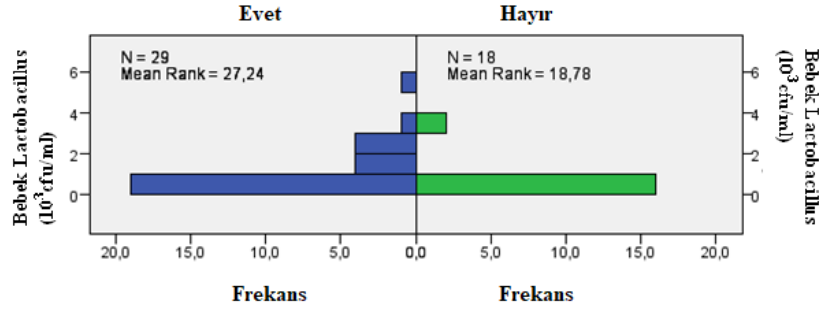
Lactobacillus spp (-): *Lactobacillus spp.* izole edilmeyen

Ağızdan öpme alışkanlığı fazla olan annelerin bebeklerinde daha yüksek *Lactobacillus* sayısı tespit edilmiştir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 4.37. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeğin *Lactobacillus* değerleri

Ağızdan öpme alışkanlığı var mı?	Ort ± S.S.	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
Evet	0.79 ± 1.18	0.3 (0 - 5)	U= 167.000	0.017
Hayır	0.33 ± 0.97	0 (0 - 3)		

U: Mann Whitney U testi



Şekil 4.9. Annelerin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *Lactobacillus* değerlerinin frekans dağılımı

Bebeklerin ilk dişleri sürdüğü dönemde annelerinin bebeklerini kaç aydır ağızdan öptüğü hesaplandığında; ay sayısı ve bebeklerden izole edilen *Lactobacillus* sayısı arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0.433$, $p=0.002$).

4.3. *Candida* Türleri İçin Bulgular

5 (%10.6) bebekten doğumdan sonra ilk 24 saatte, 7 (%14.8) bebekten 1. ayını doldurduklarında, 22 (%46.8) bebekten ilk dişleri sürdüğünde *Candida* türleri izole edilmiştir. Bebeklerden izole edilen *Candida* değerleri Tablo 4.38'de gösterilmiştir. İlk 24 saat içerisinde 5 bebekte görülen *Candida* türü *C. albicans*'tır.

Tablo 4.38. Bebeklerden *Candida* izole edilme oranları ve izole edilen *Candida* değerleri

<i>Candida</i> spp. sayısı (10 ³ cfu/ml)	n (%)	Ort. ± S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
İlk 24 saat	5 (10.6)	0.3 ± 1.51	0	0	10
1. ay	7 (14.8)	0.35 ± 1.0	0	0	5
İlk dişi sürdüğü dönem	22 (46.8)	0.7 ± 1.29	0	0.1	5

Bebeklerden ilk 24 saatte alınan örnekler ve 1. ayda alınan örnekler arasında *Candida* sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ancak 1. ayda alınan örnekler ve ilk dişi sürdüğünde alınan örnekler arasında; ilk 24 saatte alınan örnekler ve ilk dişi sürdüğünde alınan örnekler arasında *Candida* sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.39).

Tablo 4.39. Bebeklerin takiplerdeki *Candida* sayılarının karşılaştırılması

<i>Candida spp.</i> (10^3 cfu/ml)	Z	p
İlk 24 saat-1. ay	-0.830	0.407
1. ay- ilk dişi sürdüğü dönem	-2.068	0.039
İlk 24 saat- ilk dişi sürdüğü dönem	-2.924	0.003

Bebeklerden ve ebeveynlerinden izole edilen *Candida* türleri Tablo 4.40'ta gösterilmiştir.

Tablo 4.40. İzole edilen *Candida* türleri

	Bebek ilk 24 saat (n=5)	Bebek 1. ay (n=7)	Bebek ilk dişi (n=22)	Anne (n=21)	Baba (n=11)
<i>C. albicans</i>	5	7	21	19	9
<i>C. dublinensi</i>	-	-	1	1	2
<i>C. keyfr</i>	-	-	-	1	-

İlk 24 saatte alınan örneklerde, örnek alınma zamanına göre bebeklerden *Candida* izole edilme durumuna bakılmış, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Normal doğum (n=31) olan bebeklerin 4'ünde (%12.9), sezaryenle doğan (n=16) bebeklerin 1'inde (%6.25) *C. albicans* görülmüştür. Doğum şekilleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Cinsiyet, doğum şekli, beslenme şekli, sürüntü alınmadan önce anne-babaya temas edip etmemesi ve anne ve bebeğin antibiyotik kullanıp kullanmaması değişkenlerine göre *Candida* izolasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.41).

Tablo 4.41. Bebeklerden doğumdan sonraki ilk 24 saatte *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi

İlk 24 saat		<i>Candida spp.</i> (+) n:5	<i>Candida spp.</i> (-) n:42	p değeri
Cinsiyet	Kız	1 (%20.0)	20 (%47.6)	0.362
	Erkek	4 (%80.0)	22 (%52.4)	
Doğum şekli	Normal	4 (%80.0)	27 (%64.3)	0.648
	Sezaryen	1 (%20.0)	15 (%35.7)	
Beslenme şekli	Anne sütü	3 (%60.0)	24 (%57.1)	1.000
	Mama	0 (%0.0)	1 (%2.4)	
	Anne sütü +mama	2 (%40.0)	17 (%40.5)	
Örnek alınmadan önce anne babaya temas etti mi?	Evet	5 (%100.0)	41 (%97.6)	1.000
	Hayır	0 (%0.0)	1 (%2.4)	
Doğum sırasında ya da sonrasında bebeğe antibiyotik verildi mi?	Evet	0 (%0.0)	1 (%2.4)	1.000
	Hayır	5 (%100.0)	41 (%97.6)	
Anne hamilelikte antibiyotik kullandı mı?	Evet	2 (%40.0)	15 (%35.7)	1.000
	Hayır	3 (%60.0)	27 (%64.3)	

Candida spp (+): *Candida spp.* izole edilen
Candida spp (-): *Candida spp.* izole edilmeyen

1. ayda 7 bebekten *Candida* türleri izole edilmiştir. 7'sinde de görülen *Candida* türü *C. albicans*'tır. 1. ayda *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebekler; cinsiyetlerine, doğum şekillerine, beslenme şekillerine, geçirdikleri hastalıklara, ilaç kullanımlarına, emzik kullanımlarına ve ailelerinin onları öpme alışkanlıklarına göre değerlendirilmiş; bu değişkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.42).

Tablo 4.42. 1. ayda *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi

1. ay		<i>Candida spp.</i> (+) n:7	<i>Candida spp.</i> (-) n:40	p değeri
Cinsiyet	Kız	4 (%57.1)	17 (%42.5)	0.684
	Erkek	3 (%42.9)	23 (%57.5)	
Doğum şekli	Normal	5 (%71.4)	26 (%65.0)	1.000
	Sezaryen	2 (%28.6)	14 (%35.0)	
Beslenme şekli	Anne sütü	4 (%57.1)	27 (%67.5)	0.676
	Mama	0 (%0.0)	0 (%0.0)	
	Anne sütü +mama	3 (%42.9)	13 (%32.5)	
Bebek bakteriyel/viral enfeksiyon geçirdi mi?	Evet	1 (%14.3)	4 (%10.0)	0.571
	Hayır	6 (%85.7)	36 (%90.0)	
Bebek antibiyotik kullandı mı?	Evet	1 (%14.3)	4 (%10.0)	0.571
	Hayır	6 (%85.7)	36 (%90.0)	
Bebeği ağızdan öpme alışkanlığı var mı? (anne)	Evet	4 (%57.1)	24 (%60.0)	1.000
	Hayır	3 (%42.9)	16 (%40.0)	
Emzik kullanıyor mu? (anne)	Şekerli bir besine batırıp veriyorum	0 (%0.0)	2 (%5.0)	0.750
	Kendim tadıp veriyorum	0 (%0.0)	4 (%10.0)	
	Hiçbir şey yapmadan veriyorum	4 (%57.1)	20 (%50.0)	
	Kullanmıyor	3 (%42.9)	14 (%35.0)	

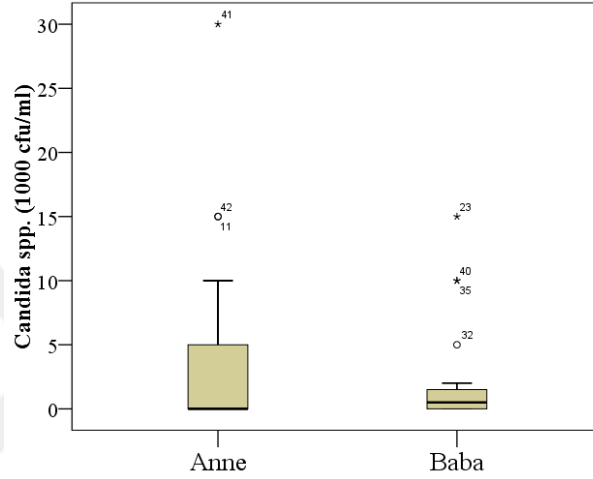
Candida spp (+): *Candida spp.* izole edilen

Candida spp (-): *Candida spp.* izole edilmeyen

Annelerden izole edilen *Candida* sayısı ortalama $(3.43 \pm 5.9) \times 10^3$ cfu/ml, babalardan izole edilen *Candida* sayısı ortalama $(2.33 \pm 4.28) \times 10^3$ cfu/ml olarak saptanmıştır. Anne ve babalardan izole edilen *Candida* sayıları arasında herhangi bir korelasyon görülmemiştir ($r = -0.230$, $p = 0.329$). Annelerde görülen *Candida* sayısı ve bebeklerin dişleri sürdüğünde görülen *Candida* sayısı arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r = 0.644$, $p < 0.001$). Babalardan alınan örneklerden izole edilen *Candida* sayısı ile, bebeklerin *Candida* sayısı arasında korelasyon tespit edilmemiştir ($r = 0.039$, $p = 0.872$). Anne ve babalardan izole edilen *Candida* değerleri Tablo 4.43 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.43. Anne ve babalardan *Candida* izole edilme oranları ve izole edilen *Candida* değerleri

<i>Candida</i> spp. sayısı (10 ³ cfu/ml)	n (%)	Ort. ± S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Anne	21 (44.68)	3.43 ± 5.9	0	0	30
Baba	11 (55.0)	2.33 ± 4.28	0.5	0	15



Şekil 4.10. Anne ve babalardan izole edilen *Candida* sayılarının grafik gösterimi

Anne ve babaların DMF-T değerleri ve izole edilen *Candida* sayıları karşılaştırıldığında annelerin DMF-T değerleri ve *Candida* sayıları arasında korelasyon görülmemiştir ($r=0.257$, $p=0.082$). Babaların DMF-T değerleri ve *Candida* sayıları arasında korelasyon görülmemiştir ($r= -0.111$, $p=0.642$).

İlk dişleri sürdüğü dönem *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerine bakıldığında *Candida* izole edilen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.44). Babaların DMF-T değerleri *Candida* izole edilen bebeklerde daha düşük görülmüş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.45). Ayrıca annelerin DMF-T değerleri ve bebeklerden izole edilen *Candida* sayısı arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0.337$, $p=0.020$). Babaların DMF-T değerleri ve bebeklerin *Candida* sayıları arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r= -0.020$, $p=0.933$).

Tablo 4.44. Bebeklerden *Candida* izolasyonuna göre annelerin DMF-T değerleri

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>Candida spp.</i> (+)	8 (2 - 30)	U= 372.500	0.037
<i>Candida spp.</i> (-)	5 (0 - 28)		

U: Mann Whitney U testi

Tablo 4.45. Bebeklerden *Candida* izolasyonuna göre babaların DMF-T değerleri

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>Candida spp.</i> (+)	9 (2 - 28)	U= 38.000	0.740
<i>Candida spp.</i> (-)	11 (2 - 15)		

U: Mann Whitney U testi

İlk dişleri sürdüğü dönem *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebekler; anne ve babalarının sabit/hareketli protez kullanımı, diş fırçalama sıklığı ve eğitim düzeylerine göre değerlendirilmiş, sadece annelerin diş fırçalama sıklığına göre *Candida* izolasyonunda anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.46).

Tablo 4.46. İlk dişleri sürdüğü dönem *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin ebeveynlerinin bulgularına göre değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>Candida spp.</i> (+)	<i>Candida spp.</i> (-)	P değeri
Anne sabit/ hareketli protez kullanımı (n=47)	Evet	7 (%31.8)	7 (%28.0)	1.000
	Hayır	15 (%68.2)	18 (%72.0)	
Baba sabit/ hareketli protez kullanımı (n=20)	Evet	5 (%35.7)	1 (%16.7)	0.613
	Hayır	9 (%64.3)	5 (%83.3)	
Annelerin diş fırçalama sıklığı (n=47)	Günde 1	9 (%40.9)	9 (%36.0)	0.048
	Günde 2	1 (%4.5)	8 (%32.0)	
	Nadiren	12 (%54.5)	8 (%32.0)	
Babaların diş fırçalama sıklığı (n=20)	Günde 1	6 (%42.9)	0 (%0.0)	0.069
	Günde 2	0 (%0.0)	1 (%16.7)	
	Nadiren	8 (%57.1)	5 (%83.3)	
Anne eğitim seviyesi (n=47)	İlkokul	5 (%22.7)	10 (%40.0)	0.260
	Ortaokul	6 (%27.3)	5 (%20.0)	
	Lise	9 (%40.9)	5 (%20.0)	
	Üniversite	2 (%9.1)	5 (%20.0)	
Baba eğitim seviyesi (n=47)	İlkokul	6 (%27.3)	5 (%20.0)	0.147
	Ortaokul	4 (%18.2)	1 (%4.0)	
	Lise	10 (%45.5)	11 (%44.0)	
	Üniversite	2 (%9.1)	8 (%32.0)	

Ailelerdeki çocuk sayısı ve bebeklerden izole edilen *Candida* miktarı karşılaştırılmış, korelasyon görülmemiştir ($r = -0.002$, $p = 0.989$).

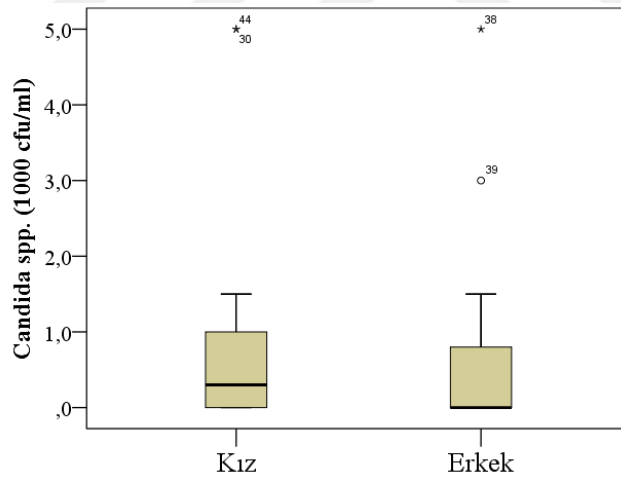
Dişleri sürdüğünde bebeklerin 22' sinde (%46.8) *Candida* türleri tespit edilmiştir. Bunlardan 21 tanesi *C. albicans*, bir tanesi *C. dublinensi*'dir.

İlk diş sürdüğünde kız bebeklerin 12'sinden (%57.1), erkek bebeklerin 10'undan (%38.5) *Candida* türleri izole edilmiştir. Kızlarda görülen *Candida* sayısı ortalama $(0.87 \pm 1.47) \times 10^3$ cfu/ml, erkeklerde görülen *Candida* sayısı ortalama $(0.56 \pm 1.13) \times 10^3$ cfu/ml'dir. Cinsiyete göre ortalama *Candida* sayıları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4.47. *Candida* izole edilen bebeklerin cinsiyete göre değerleri

<i>Candida spp.</i> sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kız	12 (57.1)	0.87 ± 1.47	0.3	0	5
Erkek	10 (38.5)	0.56 ± 1.13	0	0	5

$p = 0.979$



Şekil 4.11. Bebeklerin cinsiyete göre *Candida* sayılarının grafik gösterimi

İlk diş sürdüğü dönem *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebekler; cinsiyetlerine, doğum şekillerine, beslenme şekillerine, geçirdikleri hastalıklara ve ilaç kullanımlarına göre değerlendirilmiş, istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$) (Tablo 4.48).

Tablo 4.48. İlk dişleri sürdüğü dönemde *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin değerlendirilmesi

İlk dişleri sürdüğü dönem		<i>Candida spp.</i> (+) n:22	<i>Candida spp.</i> (-) n:25	p değeri
Doğum şekli	Normal	15 (%68.2)	16 (%64.0)	1.000
	Sezaryen	7 (%31.8)	9 (%36.0)	
Beslenme şekli	Anne sütü	12 (%54.5)	16 (%64.0)	0.769
	Mama	4 (%18.2)	3 (%12.0)	
	Anne sütü +mama	6 (%27.3)	6 (%24.0)	
Bebek bakteriyel/viral enfeksiyon geçirdi mi?	Evet	13 (%59.1)	14 (%56.0)	1.000
	Hayır	9 (%40.9)	11 (%44.0)	
Bebek antibiyotik kullandı mı?	Evet	13 (%59.1)	14 (%56.0)	1.000
	Hayır	9 (%40.9)	11 (%44.0)	

İlk diş sürme döneminde bebeğin ağızındaki diş sayısı ve izole edilen *Candida* sayısı arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür ($r=0.303$, $p=0.039$) (Tablo 4.49).

Tablo 4.49. Diş sayılarına göre *Candida* izole edilme oranları ve izole edilen *Candida* değerleri

<i>Candida spp.</i> sayısı (10^3 cfu/ml)	n (%)	Ort. \pm S.S.	Ortanca	Minimum	Maksimum
1 diş	23 (48.9)	0.50 \pm 1.12	0	0	5
2 diş	20 (42.6)	0.71 \pm 1.25	0.2	0	5
4 diş	4 (8.5)	1.77 \pm 2.15	0.8	0	5

$p=0.039$

İlk diş sürme döneminde *Candida* türleri izole edilen bebeklerin doğum kilosunun ortalama 3279.09 ± 574.09 gr, izole edilmeyen bebeklerin ortalama 3256.40 ± 405.52 gr olduğu saptanmıştır. Doğum kiloları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Candida türleri izole edilen bebeklerin annelerinin yaş ortalaması 31.04 ± 4.77 yıl, izole edilmeyen bebeklerin ortalaması 29.52 ± 4.71 yıl olarak tespit edilmiştir. Annelerin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.50. *Candida* izolasyonu ile bebeğin kilosu ve anne yaşının karşılaştırılması

	<i>Candida spp.</i> (+) n:22	<i>Candida spp.</i> (-) n:25	p değeri
Doğum kilosu (gr)	3279.09 ± 574.09	3256.40 ± 405.52	0.875
Annenin yaşı (yıl)	31.04 ± 4.77	29.52 ± 4.71	0.277

Candida spp (+): *Candida spp.* izole edilen

Candida spp (-): *Candida spp.* izole edilmeyen

Candida izole edilen ve edilmeyen bebekler günlük anne sütü alma sıklıklarına göre değerlendirilmiş, anne sütünü daha sık tüketen bebeklerde daha düşük oranda *Candida* izolasyonu görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05).

Tablo 4.51. *Candida* izolasyonuna göre günlük anne sütü alma sıklığı

	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
<i>Candida spp.</i> (+)	6.5 (0 - 17)	U= 213.500	0.188
<i>Candida spp.</i> (-)	8 (0 - 15)		

U: Mann Whitney U testi

İlk dişi sürme döneminde *Candida* izole edilen ve izole edilmeyen bebekler, emzik kullanımları ve annelerinin onları öpme alışkanlıklarına göre değerlendirilmiş, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05) (Tablo 4.52).

Tablo 4.52. *Candida* izole edilen ve edilmeyen bebeklerin anneleriyle ilişkisine göre değerlendirilmesi

İlk diş sürdüğü dönem		<i>Candida spp.</i> (+) n:22	<i>Candida spp.</i> (-) n:25	p değeri
Bebeği ağızdan öpme alışkanlığı var mı? (anne)	Evet	16 (%72.7)	13 (%52.0)	0.247
	Hayır	6 (%27.3)	12 (%48.0)	
Emzik kullanıyor mu? (anne)	Şekerli bir besine batırıp veriyorum	1 (%4.5)	2 (%8.0)	0.711
	Kendim tadıp veriyorum	0 (%0.0)	1 (%4.0)	
	Hiçbir şey yapmadan veriyorum	11 (%50.0)	10 (%40.0)	
	Kullanmıyor	10 (%45.5)	12 (%48.0)	

Candida spp (+): *Candida spp.* izole edilen

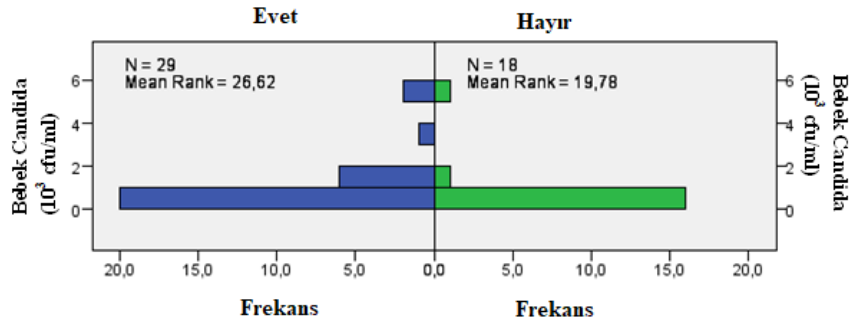
Candida spp (-): *Candida spp.* izole edilmeyen

Candida izole edilen 22 bebeğin 16'sının (%72.7) annelerinin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığı olduğu tespit edilmiştir. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerden izole edilen *Candida* sayısına bakılmış, istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.53).

Tablo 4.53. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *Candida* değerleri

Ağızdan öpme alışkanlığı var mı?	Ort ± S.S.	Ortanca (min-mak)	Test İstatistiği	p değeri
Evet	0.86 ± 1.33	0.5 (0 - 5)	U= 185.000	0.071
Hayır	0.42 ± 1.19	0 (0 - 5)		

U: Mann Whitney U testi



Şekil 4.12. Annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *Lactobacillus* değerlerinin frekans dağılımı

Şekil 4.12'de annelerin ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *Candida* değerleri görülmektedir. Ağızdan öpülen bebeklerin *Candida* değerleri daha yüksek aralıkta birikmiştir.

Bebeklerin ilk dişleri sürdüğü dönemde annelerinin bebeklerini kaç aydır ağızdan öptüğü hesaplandığında; ay sayısı ve bebeklerden izole edilen *Candida* sayısı arasında korelasyon tespit edilmemiştir ($r=0.204$, $p=0.169$).

4.4. *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* Türlerinin Değerlerinin Birbiriyle İlişkisine Ait Bulgular

İlk dişleri sürdüğü dönemde bebeklerin 15'inden (%31.9) *S. mutans*, 17'sinden (%34.0) *Lactobacillus* türleri ve 22'sinden (%46.8) *Candida* türleri izole edilmiştir. 12 bebekte *S. mutans* ve *Lactobacillus* türleri birlikte görülmüştür. *S. mutans* izole

edilen bebeklerin %80'inde *Lactobacillus* türleri, *Lactobacillus* türleri izole edilen bebeklerin %70.6'sında *S. mutans* görülmüştür (Tablo 4.54, Tablo 4.55).

Tablo 4.54. *S. mutans* izole edilen bebeklerde *Lactobacillus* türlerinin görülme oranı

	<i>S. mutans</i> (+) n:15		<i>S. mutans</i> (-) n:32	
	n	%	n	%
<i>Lactobacillus spp.</i> (+) n:17	12	80.0	5	15.6
<i>Lactobacillus spp.</i> (-) n:30	3	20.0	27	84.4

p<0.001

Tablo 4.55. *Lactobacillus* türleri izole edilen bebeklerde *S. mutans* görülme oranı

	<i>Lactobacillus spp.</i> (+) n:17		<i>Lactobacillus spp.</i> (-) n:30	
	n	%	n	%
<i>S. mutans</i> (+) n:15	12	70.6	3	10.0
<i>S. mutans</i> (-) n:32	5	29.4	27	90.0

p<0.001

13 bebekte *S. mutans* ve *Candida* türleri birlikte görülmüştür. *S. mutans* izole edilen bebeklerin %86.7'sinde *Candida* türleri, *Candida* türleri izole edilen bebeklerin %59.1'inde *S. mutans* görülmüştür (Tablo 4.56, Tablo 4.57).

Tablo 4.56. *S. mutans* izole edilen bebeklerde *Candida* türlerinin görülme oranı

	<i>S. mutans</i> (+) n:15		<i>S. mutans</i> (-) n:32	
	n	%	n	%
<i>Candida spp.</i> (+) n:22	13	86.7	9	28.1
<i>Candida spp.</i> (-) n:25	2	13.3	23	71.9

p<0.001

Tablo 4.57. *Candida* türleri izole edilen bebeklerde *S. mutans* görülme oranı

	<i>Candida spp.</i> (+) n:22		<i>Candida spp.</i> (-) n:25	
	n	%	n	%
<i>S. mutans</i> (+) n:15	13	59.1	2	8.0
<i>S. mutans</i> (-) n:32	9	40.9	23	92.0

p<0.001

12 bebekte *Lactobacillus* ve *Candida* türleri birlikte görülmüştür. *Lactobacillus* türleri izole edilen bebeklerin %70.6'sında *Candida* türleri, *Candida* türleri izole edilen bebeklerin %54.5'inde *Lactobacillus* türleri görülmüştür (Tablo 4.58, Tablo 4.59).

Tablo 4.58. *Lactobacillus* türleri izole edilen bebeklerde *Candida* türlerinin görülme oranı

	<i>Lactobacillus spp.</i> (+) n:17		<i>Lactobacillus spp.</i> (-) n:30	
	n	%	n	%
<i>Candida spp.</i> (+) n:22	12	70.6	10	33.3
<i>Candida spp.</i> (-) n:25	5	29.4	20	67.7

p=0.006

Tablo 4.59. *Lactobacillus* türleri izole edilen bebeklerde *Candida* türlerinin görülme oranı

	<i>Candida spp.</i> (+) n:22		<i>Candida spp.</i> (-) n:25	
	n	%	n	%
<i>Lactobacillus spp.</i> (+) n:17	12	54.5	5	20.0
<i>Lactobacillus spp.</i> (-) n:30	10	45.5	20	80.0

p=0.006

11 bebekte *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* türleri beraber gözlenmiştir. Bebeklerin ilk dişleri sürdüğünde izole edilen *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* sayıları arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür (p<0.01) (Tablo 4.60).

Tablo 4.60. Bebeklerden izole edilen *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* sayılarının karşılaştırılması

	<i>S. mutans</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Candida spp.</i>
<i>S. mutans</i>	-	r=0.614** p<0.001	r=0.514** p<0.001
<i>Lactobacillus spp.</i>	r=0.614** p<0.001	-	r=0.378** p=0.009
<i>Candida spp.</i>	r=0.514** p<0.001	r=0.378** p=0.009	-

*p<0.05, **p<0.01

4.5. Klonal İlişki Bulguları

Çalışmamızda bebeklerden *S. mutans* bakterisi sadece bebeklerin dişi sürdüğü dönem 15 (%31.9) tanesinden izole edilmiştir. Bebeklerden izole edilen bu *S. mutans* suşları anne ve babadan izole edilen suşlarla karşılaştırılmış, Dice benzerlik katsayısı %75'in üzerinde benzerlik gösteren suşlar birbiriyle ilişkili kabul edilmiştir. 12 (%80) bebek ve annesinden izole edilen suşlar birbiriyle ilişkili bulunmuştur. Babalar ve bebekleri için 12 suş karşılaştırılmış, 1 (%8.3) baba bebeğiyle ilişkili bulunmuştur.

Dişleri sürmeye başladığında bebeklerin 17'sinden (%34.0) *Lactobacillus* türleri izole edilmiştir. 14 bebekten izole edilen tür *L. fermentum*'dur. Bebeklerden izole edilen 13 *L. fermentum* suşu anneden izole edilenlerle karşılaştırılmış, Dice benzerlik katsayısı %90'ın üzerinde benzerlik gösteren suşlar birbiriyle ilişkili kabul edilmiştir. 10 (%76.9) bebek anneye ilişkili bulunmuştur. Babalar için 11 izolat karşılaştırılmış, 1 (%9.0) baba bebeğiyle ilişkili bulunmuştur.

Candida türleri, bebeklerin dişleri sürdüğünde alınan örneklerin 22'sinden (%46.8) izole edilmiştir. Bunlardan 21 tanesinde *C. albicans* görülmüştür. 15 bebek ve anneleri arasında klonal ilişki bakılmış, Dice benzerlik katsayısı %70'in üzerinde olan izolatlar birbirileriyle ilişkili kabul edilmiştir. Bebeklerden 13 (%86.6) tanesi anneye ilişkili bulunmuştur. Babalar için 8 izolat karşılaştırılmış, 1 (%12.5) baba bebeğiyle ilişkili bulunmuştur.

Tablo 4.61. Anne ve babayla ilişkili bulunan izolatlar

	Test edilen örnek sayısı	Anneye ilişkili	Test edilen örnek sayısı	Babayla ilişkili
<i>S. mutans</i>	15	12 (%80.0)	12	1 (%8.3)
<i>L. fermentum</i>	13	10 (%76.9)	11	1 (%9.0)
<i>C. albicans</i>	15	13 (%86.6)	8	1 (%12.5)

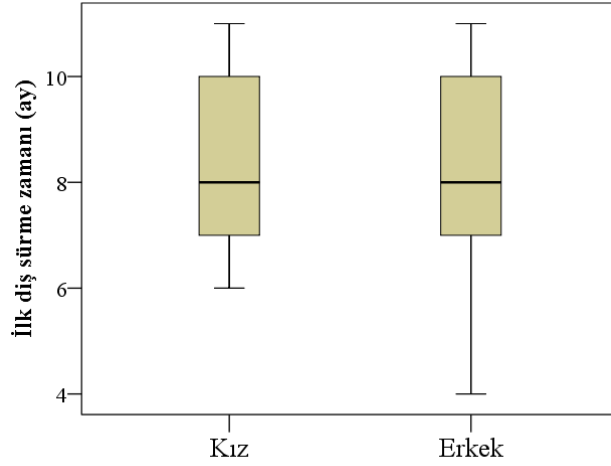
Klonal olarak ilişkili görülen suşlar; bebeklerin cinsiyetlerine, doğum şekillerine, beslenme şekillerine, ebeveynlerinin onları öpme alışkanlıklarına ve emzik kullanma durumlarına göre değerlendirilmiş, bu değişkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.62).

Tablo 4.62. Anneyle ilişkili bulunan izolatların değerlendirilmesi

	<i>S. mutans</i> (n:12)	p değeri	<i>L. fermentum</i> (n:10)	p değeri	<i>C. albicans</i> (n:13)	p değeri
Cinsiyet						
Kız	5 (%41.7)	0.569	6 (%60.0)	0.559	7 (%53.8)	1.000
Erkek	7 (%58.3)		4 (%40.0)		6 (%46.2)	
Doğum şekli						
Normal	9 (%75.0)	1.000	6 (%60.0)	0.497	9 (%69.2)	1.000
Sezaryen	3 (%25.0)		4 (%40.0)		4 (%30.8)	
Anne sütü	9 (%75.0)		6 (%60.0)		7 (%53.8)	
Beslenme şekli						
Mama	1 (%8.3)	0.074	2 (%20.0)	0.719	2 (%15.4)	0.463
Anne sütü +mama	2 (%16.7)		2 (%20.0)		4 (%30.8)	
Bebegi ağızdan öpme alışkanlığı var mı? (anne)						
Evet	10(%83.3)	0.516	9 (%90.0)	0.423	11 (%84.6)	1.000
Hayır	2 (%16.7)		1 (%10.0)		2 (%15.4)	
Şekerli bir besine batırıp veriyorum	0 (%0.0)		0 (%0.0)		0 (%0.0)	
Kendim tadıp veriyorum	0 (%0.0)	0.108	0 (%0.0)	1.000	0 (%0.0)	1.000
Hiçbir şey yapmadan veriyorum	8 (%66.7)		5 (%50.0)		8 (%61.5)	
Kullanmıyor	4 (%33.3)		5 (%50.0)		5 (%38.5)	

4.6. Diş Sürme Süreci ile İlgili Bulgular

Bebeklerin en erken 4. ayda, en geç 11. ayda ilk dişleri sürmüştür. İlk diş sürme zamanı ortalama 8.21 ± 1.71 aydır. Kızların ilk diş sürme zamanı ortalama 8.48 ± 1.5 ay, erkeklerin 8 ± 1.87 aydır. Cinsiyetlere göre anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Cinsiyetlere göre diş sürme dönemleri ortalaması Şekil 4.13'te verilmiştir.

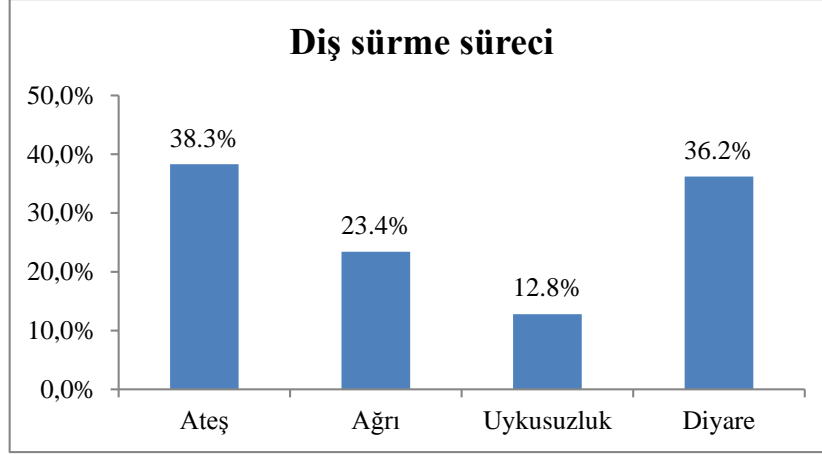


Şekil 4.13. Cinsiyetlere göre diş sürme dönemleri

Ebeveynlere bebeklerinin diş sürme sürecindeki semptomları sorulmuş ve bebeklerin %38.3'ünde ateş, %23.4'ünde ağrı/huysuzluk, %12.8'inde uykusuzluk, %36.2'sinde diyare görüldüğü belirtilmiştir (Tablo 4.63, Şekil 4.14).

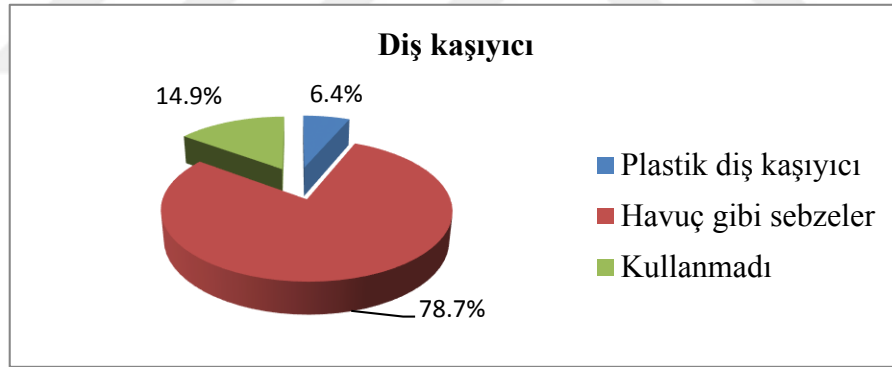
Tablo 4.63. Diş sürme sürecindeki semptomlar

Semptomlar	n	%
Ateş	18	38.3
Ağrı/huysuzluk	11	23.4
Uykusuzluk	6	12.8
Diyare	17	36.2



Şekil 4.14. Diş sürme sürecinde bebeklerde görülen semptomlar

Ailelere bebeğin diş sürme sürecinde diş kaşiyıcı kullanıp kullanmadığı sorulmuş, %78.7'si hazır diş kaşiyıcıları bebeklerinin kullanmadığını, bu yüzden havuç gibi sert gıdalar verdiklerini söylemiştir (Şekil 4.15). *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.* izole edilen bebeklerde diş kaşiyıcı kullanma oranları Tablo 4.64'te gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Bebeklerin diş kaşiyıcı kullanma oranları

Tablo 4.64. *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.* izole edilen bebeklerde diş kaşiyıcı kullanma oranları

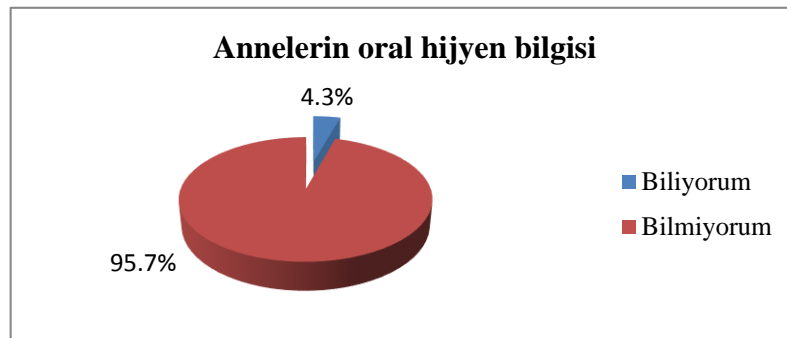
	<i>S. mutans</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Candida spp.</i>
	n (%)	n (%)	n (%)
Plastik diş kaşiyıcı kullandı	0 (0.0)	1 (5.9)	1 (18.2)
Havuç gibi sebzeleri kullandı	12 (80.0)	14 (82.4)	17 (77.3)
Kullanmadı	3 (20.0)	2 (11.8)	4 (18.2)
	p=0.407	p=0.891	p=0.767

Ailelere bebeğin diş sürme sürecinde Dentinox, Calgel türevi topikal jellerden kullanıp kullanmadığı sorulmuş; 5 tanesinin (%10.6) kullandığı, kalan 42'sinin (%89.4) kullanmadığı gözlenmiştir. Diş sürme sürecinde *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* türleri görülen bebeklerin topikal jel kullanımlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4.65).

Tablo 4.65. *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.* izole edilen bebeklerde topikal jel kullanma oranları

	<i>S. mutans</i> n (%)	<i>Lactobacillus spp.</i> n (%)	<i>Candida spp.</i> n (%)
Topikal jel kullandı	0 (0.0)	1 (5.9)	2 (9.1)
Kullanmadı	15 (100.0)	16 (94.1)	20 (90.9)
	p=0.162	p=0.640	p=1.000

Annelere bebeklerinin dişinin sürmesiyle bu dişleri öğünlerden sonra herhangi bir şekilde temizleyip temizlemedikleri sorulduğunda, sadece 2 tanesi nemli pamuklu bir bezle diş yüzeyi temizlemesi gerektiğini bildiğini ve diş sürdükten sonra temizlemeye başladığını söylemiştir.



Şekil 4.16. Annelerin oral hijyen bilgisi

5. TARTIŞMA

Bir bireyin çürük yapan mikroorganizmalarla erken tanışması, gelecekteki çürük deneyimi açısından belirleyicidir (14). Bu yüzden araştırmamızda bebeklerden doğumdan sonra ilk 24 saat içerisinde, 1. ayını doldurduğunda ve ilk dişleri sürdüğünde oral sürüntü örnekleri alınmış, diş çürüğü etkeni olan mikroorganizmalardan; *S mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* türleri kolonizasyonu açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca anne ve babadan da tükürük örnekleri alınarak, ailesel geçiş incelenmiştir. Süt dişlenmenin başında yaygın *S. mutans* varlığı, erken ve hızlı çürük oluşumunu tetiklemektedir. Erken dönemde enfekte olan çocukların, ilerleyen yaşlarda enfekte olmayanlara göre 6-8 kat daha çok çürüğe sahip oldukları belirlenmiştir (15). 2-2.5 yaşına kadar bireyin *S. mutans* ile enfekte olmaması durumunda, genellikle ileri dönemlerde düşük çürük aktivitesi görülmektedir (15, 232).

Çok küçük yaşlarda EÇÇ nedeniyle kliniğe müracaat eden hastalarda diş tedavisi için yeterli uyum sağlanamadığında tıbbi immobilizasyon ya da sedasyon/genel anestezi yöntemleri tercih edilmektedir. Bu tedaviler hasta ve ailesi için endişe verici ve devlet ekonomisi için yüksek maliyetli tedavilerdir. Bizim çalışmamızdaki amaç, diş çürüğünün etiyolojik faktörlerinden biri olan karyojenik mikrofloranın ağız içerisine na zaman, hangi şartlarda yerleştiğinin araştırılmasıdır. Böylece, çocukların ağız diş sağlığı hastalıklarının başlamadan engellenmesi amaçlanmaktadır. Literatürde bebeklerden farklı dönemlerde oral sürüntü örnekleri alınarak oral mikrofloranın değerlendirildiği, izole edilen suşların aile ile karşılaştırıldığı çalışmalar yapılmıştır (124, 125, 129-131). Ancak literatürde, bu çalışmadaki gibi ilk 24 saatten başlayarak diş sürme dönemine kadar oral florayı takip eden ve *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Candida* türlerinin görülme zamanlarını ve miktarlarını beraber değerlendiren ve bu türlerin aileden geçişini inceleyen bir çalışma ile karşılaşılmamıştır.

5.1. Materyal ve Metotların Tartışılması

Bu çalışmaya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi ve Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde doğmuş sistemik hastalığı olmayan 47 bebek ve ailesi dahil edilmiştir. Bebeklerden ilk 24 saat içerisinde örnek alınarak hastane ortamından veya ailelerinden oral flora bakteri geçişi değerlendirilmek istenmiştir. 1. ay örneklerinde dişsiz ağızda oral flora değerlendirilmiştir. Oral flora çalışmalarında, genellikle bebeklerden dişleri çıktıktan sonra belirli aylarda örnek alınarak yapılan çalışmalar

mevcuttur (131, 233, 234). Ancak bebeklerin gelişim zamanları aynı olamayacağı için bu çalışmalarda örnek alındığı ayda bebeklerin ağızdaki diş sayısının aynı olmasına imkan yoktur. Ağızda bulunan diş sayısının da oral florayı etkileyeceği düşünüldüğü için bizim çalışmamızda bu değişken en aza indirilmeye çalışılmış; ailelerle iletişimde kalınmış ve ilk dişler ağız içerisinde en az 2 mm görülmeye başladığında oral sürüntü örnekleri alınmıştır.

Toplanan örnekler laboratuvara getirildikten sonra öncelikle kültür için uygun besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. *S. mutans* çalışmalarında son yıllarda TYCSB agar kültür ortamı olarak daha fazla kullanılmaktadır (233, 235, 236). Diğer kültür ortamlarıyla karşılaştırıldığı çalışmalarda *S. mutans* için diğerlerine göre daha hassas ve daha seçici bulunmuştur (168, 171, 237). Bu yüzden çalışmamızda *S. mutans* izolasyonu için TYCSB agar besiyeri tercih edilmiştir. *Lactobacillus* türlerinin izolasyonu için daha fazla tercih edilmesi nedeniyle Rogosa agar, *Candida* türlerinin izolasyonu için Sabouraud Dekstroz agar kullanılmıştır.

PCR, oral bakterilerin tanımlanmasında son derece hassas ve etkili bir yaklaşım sağlar. Benzersiz primerler tanımlandıktan ve test edildikten sonra, çok sayıda numune analiz edilebilir. Bakterilerin varlığını tespit etmek için hala en hızlı, en basit ve en hassas yöntemdir (165). Oral flora çalışmalarında da sıklıkla kullanılmıştır (131, 191, 238). Bizim çalışmamızda da klinik örnekteki *S. mutans* varlığını doğrulamak için PCR yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda bebekler ve ebeveynlerinden izole edilen *S. mutans*, *L. fermentum* ve *C. albicans* izolatlarının klonal ilişkileri araştırılmıştır. Bu amaçla; *S. mutans* ve *L. fermentum* için Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi ve *C. albicans* için ise AP-PCR yöntemi kullanılmıştır. PFGE yöntemi bakteri tiplendirilmesi için altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem parazit mikro kromozomundan maya kromozomlarına kadar bakteri, virüs ve memelilerde dahil birçok canlı türüne ait kromozomal DNA'yı mükemmel bir şekilde ayırıştırma kabiliyetine sahiptir (214-216). Bu yöntem *S. mutans* ve *Lactobacillus* türlerini içeren oral flora çalışmalarında daha önce kullanılmıştır (224-226). *C. albicans* için de Ayan ve arkadaşları (231) tarafından daha önce bakteriler için standardize edilmiş olan, M13 primerinin kullanıldığı AP-PCR protokolü uygulanmıştır.

5.2. Bulguların Tartışılması

Çalışmamızda yenidoğan 47 bebekten doğumdan sonra ilk 24 saat içerisinde alınan oral sürüntü örneklerinde *S. mutans* ve *Lactobacillus* türleri izole edilmemiş, ancak 5 bebekte (%10.6) *C. albicans* görülmüştür. Yenidoğanlardan ilk 48 saatte oral sürüntü örneği alınan bir çalışmada, bebeklerde *S. mutans* varlığı gözlenmiştir. Bebeğin ikinci gündeki total aerobik bakteri florası annenin florasıyla, anne sütüyle beslenme ile ve evde yaşayan birey sayısı ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur (124). Başka bir çalışmada bizim çalışmamızdaki gibi doğduğu gün 62 bebekten oral sürüntü örnekleri alınmış ve bu örneklerde *S. mutans* gözlenmemiştir (236).

Durhan ve arkadaşları, dudak damak yarıklı ve sağlıklı bebekleri karşılaştırdığı çalışmada bebeklerden doğumdan sonra oral sürüntü örnekleri almıştır. Kontrol grubu olan sağlıklı grupta mutans streptokok ve *Lactobacillus* türleri tespit edilmemiş, sadece 1(%4.3) bebekte maya görülmüştür (239)

Doğumdan hemen sonra sağlıklı yenidoğanlarla yapılmış çalışmalarda *Candida* türlerinin görülme oranları; 7% (240), 8.4% (241), 10% (242) şeklindedir ve bizim çalışmamıza yakın sonuçlardır. Yenidoğanlarda gözlenen ilk oral *Candida* türlerinin doğum sırasında annenin doğum kanalından vertikal olarak geçtiği düşünülmektedir (243). Bu yüzden sezaryenle doğan bebeklere kıyasla vajinal yolla doğan bebeklerde daha yaygın *Candida* kolonizasyonu beklenmektedir. Normal doğan ve sezaryenle doğan bebeklerin *Candida* kolonizasyonlarının karşılaştırıldığı çalışmalarda prevalanslar sırayla; Taheri ve ark. (242) %17'ye %1.2, Caramalac ve ark. (244) %25'e %1.6, Al-Rusan ve ark. (161) %10'a %4 olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu oranlar %12.9'a %6.25'tir. Normal doğum olan bebeklerde diğer çalışmalardaki gibi daha yüksek oranda *Candida* türleri görülmüş, ancak doğum şekilleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bebekten *Candida* izole edilip edilmemesi değerlendirildiğinde; bebeğin cinsiyetine, beslenme şekline, örnekler alınmadan önce anne babaya temas edip etmemiş olması durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Çalışmamızdaki bebeklerden 1. aylarını doldurduklarında tekrar oral sürüntü örnekleri alınmış ve 4'ünde (%8.5) *Lactobacillus* türleri. 7'sinde (%14.8) *Candida* türleri tespit edilmiştir. Plonka ve arkadaşları 34 günlük bebeklerden oral sürüntü örneği aldıkları çalışmalarında, bebeklerin %9'unda *S. mutans* ve %24'ünde *Lactobacillus* türleri tespit etmişler. *S. mutans* varlığı anne *S. mutans* seviyesiyle ilişkili; *Lactobacillus*

varlığı anne *Lactobacillus* seviyesi ve normal doğumla ilişkili bulunmuştur (125). Bizim çalışmamızda 1. ayda *S. mutans* izole edilmemiştir. *Lactobacillus* türleri izole edilen 4 bebekten 3'ü normal doğum 1'i sezaryenle doğmuştur, ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. *Lactobacillus* izole edilen ve edilmeyen bebekler; cinsiyetlerine, doğum şekillerine, beslenme şekillerine, annelerinin yaşına, ebeveynlerinin onları ağızdan öpme alışkanlıklarına göre değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

4 haftalık 100 sağlıklı bebekten oral sürüntü örnekleri alınarak yapılan bir çalışmada, 12 bebekte (%12) *Candida* türleri görülmüştür (245). Bizim çalışmamızda 1. ayda görülen %14.8 oranı bu çalışmaya yakın bulunmuştur.

4-6 haftalık 104 bebekle yapılan bir oral flora çalışmasında, annelerin %31'inde bebeklerin %12'sinde *S. mutans* gözlenmiştir. Bebeklerden 68'inin anne sütüyle beslendiği ve anne sütüyle beslenenlerin *S. mutans* seviyesinin anlamlı olarak annenin *S. mutans* seviyesi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (130).

Ruiz-Rodriguez ark. 62 yenidoğandan 1., 15., 30., 90. ve 150. günlerde oral sürüntü örnekleri almış, sadece 150. günde 2 bebekten *S. mutans* tespit etmiştir (236). Bizim çalışmamızda da ilk gün ve 1. ayda *S. mutans* izole edilmemiştir.

Mattos-graner ve ark. 12-30 aylık Brezilya'lı çocuklarda 19. aydan önce mutans streptokok saptanmadığını belirtmişlerdir (246).

Bizim çalışmamızdaki bulgular önceki çalışmaların yanısıra *S. mutans*'ın dişlerin ortaya çıkmasından önce ağız boşluğunda kolonize olmadığını göstermektedir. Bunun nedeni *S. mutans*'ın dişler gibi sert bir yüzeye ihtiyaç duymasındadır (9). Ayrıca bebekler için annelerin ve babaların *S. mutans* seviyelerinin çok yüksek olmaması bebeğe geçişinin daha az olduğunu düşündürebilir. Berkowitz ve ark. ağızlarında 10^5 cfu/ml düzeyinde *S. mutans* bulunan annelerin çocuklarında bu bakteriye rastlanma olasılığının arttığını belirtmiştir (247). Bizim çalışmamızda annelerde *S. mutans* sayısı $(19.66+17.42) \times 10^3$ cfu/ml olarak tespit edilmiştir. Yapılan daha önceki çalışmalara benzer olarak anne *S. mutans* sayısı ve bebeğin *S. mutans* sayısı arasında pozitif korelasyon görülmüştür (14, 125, 129, 142). Annelerin *S. mutans* sayıları ve DMF-T değerleri arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Bununla birlikte anne DMF-T değerleri ve bebeklerde görülen *S. mutans* sayıları arasında da pozitif korelasyon gözlenmiştir. Annelerin yüksek *S. mutans* sayısı ve kötü ağız sağlığının çocuklar için risk faktörü olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (248-252).

3-6 yaş aralığındaki 100 çocuk ve ebeveynlerinin dahil edildiği bir çalışmada çocukların tükürük *S. mutans* sayıları ile anneleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmiş, babalarla anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (139). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bebekler ve babalar arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Bunun sebebi olarak bebeğin 1 yaşına kadar anneye daha yakın ilişkide olması gösterilebilir.

Çalışmamızda takip ettiğimiz bebeklerin diş sürme dönemleri ortalama 8.21 ± 1.71 ay'dır. Dişleri sürdüğünde bebeklerden aldığımız örneklerin 15'inden (%31.9) *S. mutans*, 17'sinden (%34.0) *Lactobacillus* türleri ve 22'sinden (%46.8) *Candida* türleri izole edilmiştir. Thakur ve ark.'nın 9. ayda bulunduğu *S. mutans* görülme oranı (%29.4) bizim çalışmamıza yakın değerler sergilemektedir (253). Karn ve ark. yaptıkları çalışmada 12. ayda bebeklerin %27'sinden mutans streptokok izole etmişlerdir (254)

Thakur ve ark. 57 bebekten 3, 6, 9 ve 12. aylarda oral sürüntü örneği alarak yaptıkları çalışmada 3. ayda bebeklerin oral kavitesinden *S. mutans* izole edilmemiştir. 6. ayda %8.3'ünde, 9. ayda %29.4'ünde, 12. ayda %40.25'inde *S. mutans* tespit edilmiştir. Doğum şekli ve bebeğin cinsiyetinin *S. mutans* izolasyonunu etkilemediği söylenirken, uzun süreli biberonla beslenmenin ve annenin bebeğin yemeğini tatmasının etkilediği bildirilmiştir (253).

Li ve ark. 156 anne-çocuk üzerinde doğum şeklinin *S. mutans* kolonizasyonu üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Sezeryanla doğan çocukların normal doğan çocuklara oranla ortalama 11.7 ay daha erken *S. mutans* ile enfekte olduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca yenidoğanın cinsiyeti, doğum ağırlığı, annenin yaşı gibi faktörlerin enfeksiyon konusunda anlamlı bir fark oluşturmadığı belirtilmiştir (129). Bizim çalışmamızda da bebeğin cinsiyeti, doğum ağırlığı, annenin yaşı bebeğin *S. mutans* kolonizasyonunu etkilememiştir.

59 bebekle (35 normal doğum, 25 sezaryen) ve anneleriyle yapılan bir çalışmada, bebeğin doğum şeklinin karyojenik ve periodontal patojenlerle enfekte olma zamanına etkisi araştırılmış, 6 aylıkken (diş çıkarmamış olmasına dikkat edilmiş) ve 12 aylıkken (en az 1 diş çıkarmış olan bebekler dahil edilmiştir) oral sürüntü örnekleri alınmış, en sık *S. mutans*, arkasından *Lactobacillus* türleri görülmüştür. Bebekler 6 aylıkken normal doğan bebeklerde sezaryenle doğanlara oranla anlamlı olarak daha yüksek sayıda *S. mutans* olduğu, 12. ayda anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Lactobacillus türleri için de 6-12 aylıkken normal doğum, sezaryen arasında anlamlı bir fark bulunmadığı belirtilmiştir (131).

Doğum şeklinin bebekteki oral *S. mutans* ve *Lactobacillus* sayılarına etkisinin incelendiği çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar görülmüştür. Bizim çalışmamızda bebeklerden oral sürüntü örneklerinin alındığı her 3 zaman aralığında da doğum şekli ile bebeklerden *S. mutans*, *Lactobacillus* izole edilmesi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Zhou ve ark. 225 çocuğu 8. aydan 32. aya kadar takip etmiş, *S. mutans* kolonizasyonu ile ilişkili faktörleri araştırmıştır. 8. ayda %3.6'sında, 14. ayda %6'sında, 32. ayda %33.5'inde *S. mutans* izole edilmiştir. Kızlarda anlamlı olarak daha sık *S. mutans* görüldüğü tespit edilmiş, bu da kızlarda daha erken diş sürmesiyle açıklanmıştır (255). Çalışmamızda oral sürüntü almak için diş sürme dönemi esas alındığından bebeklerin gelişim zamanı farklılıklarının önüne geçilmeye çalışılmış ve örneklerde cinsiyete göre anlamlı bir fark görülmemiştir. Yapılan çalışmalar da cinsiyetin *S. mutans* kolonizasyonu için etkili bir faktör olmadığını göstermektedir (129, 253, 256).

Caufield ve ark. bebeklikte antibiyotik kullanım sıklığının mutans streptokoklarının geçişini ve dolayısıyla çürük beklentisini azaltacağını öne sürmüşlerdir (9). Bizim çalışmamızda diş sürdüğünde *S. mutans* görülen 15 bebeğin 9'unun farklı zamanlarda antibiyotik kullandığı görülmüş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun sebebi olarak bebeğe antibiyotiğin verilme zamanının sürüntü alma zamanımızdan en az 30 gün önce olması ve ilacın etkisini kaybetmiş olması düşünülmüştür.

Matee ve ark. 1-2.5 yaş arası anne sütüyle beslenen 51 çocukta mutans streptokok ve *Lactobacillus* prevelansını inceledikleri çalışmada anne sütüyle uzun süre beslenmenin küçük çocuklarda dişler üzerinde mutans streptokok ve *Lactobacillus* kolonizasyonunu arttırdığını saptamıştır (257). Anne sütü ve *S. mutans* kolonizasyonu arasında pozitif ilişki görülen başka çalışmalar da vardır (130, 253). Bizim çalışmamızda *S. mutans* görülen 15 bebekten 10'u (%66.7) anne sütüyle beslenmektedir, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Annelerin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerin *S. mutans* ve *Candida* izolasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiş, ancak ağızdan öpülen bebeklerin *S. mutans* ve *Candida* değerleri öpülmeyen bebeklere göre daha

yüksek bulunmuştur. Damle ve ark.'nın yaptığı çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde anneleri tarafından ağızdan öpülen bebeklerin *S. mutans* değerleri daha yüksek bulunmuş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (238). Annelerin bebeklerini ağızdan öpme alışkanlığına göre bebeklerde gözlenen *Lactobacillus* sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızda annelerinin bebeklerini kaç aydır ağızdan öptüğü hesaplandığında; ay sayısı ve bebeklerden izole edilen *S. mutans* ve *Lactobacillus* sayısı arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Yani öpme süresi arttıkça bebeklerdeki *S. mutans* ve *Lactobacillus* miktarı da artmıştır.

Çalışmamızda, diş sürme dönemi görülen *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* türleri arasında birbirleriyle korelasyon tespit edilmiştir.

Çocuklarda mutans streptokok ve *Lactobacillus* sayımlarının yaklaşık değerini araştıran çalışmalar, *Lactobacillus*' ların nadiren tek başına bulunduğunu ve sıklıkla plak ve tükürükteki mutans streptokoklarla birlikte izole edildiğini göstermiştir (258-260). Roeters ve ark. yaptığı oral flora çalışmasında 2.5 yaşından büyük çocuklarda mutans streptokok ve *Lactobacillus* arasında pozitif korelasyon tespit etmiştir (261). Bizim çalışmamızda da aralarında pozitif korelasyon görülmüştür.

Klinke ve ark., yaptıkları in vitro çalışmada *Candida* türlerinin *S. mutans*'ın dental yüzeylere mikrobiyal adezyonunda rol oynadığını göstermiştir (262). *C. albicans*'ın mutans streptokoklarla birlikte sinerjistik bir etki gösterdiği, *C. albicans* varlığının, mutans streptokokların oral biyofilm ve çürük diş yüzeyine yapışmasını arttırdığı gösterilmiştir (263). Bizim çalışmamızda bebeklerin *S. mutans* ve *Candida* türleri arasında korelasyon görülmüştür.

Klonal İlişki Bulguları

Yapılan çalışmalarda, anneden çocuğa MS geçişinin, çocuğun dişleri sürmeye başladıktan sonra gerçekleştiği vurgulanmaktadır (9, 78, 133, 137). Bizim çalışmamızda da dişler sürdükten sonra *S. mutans* tespit edilmiştir.

Annelerden ve bebeklerinden izole edilen mutans streptokok suşlarının benzer veya aynı bakteriyosin profilleri ve aynı plazmid veya kromozomal DNA kalıpları sergilediğini gösteren klinik çalışmalar vardır (132-138).

Aile içi geçiş sıklığı, toplumlara, farklı ve kültürel uygulamalara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Amerikalı anne-çocuk çiftleriyle yapılan bir çalışmada %71 oranında birbirine benzeyen *S. mutans* genotipi saptanmıştır (142).

Hindistan'da 20 aileyle yapılmış bir çalışmada 13 anne-çocuk çiftinde ve 3 baba-çocuk çiftinde aynı DNA bant kalıpları tespit edilmiştir (140).

İsveçli 11 ailede gerçekleştirilen bir çalışmada, 5 çocuğun ailelerinden farklı; 6 çocuğun ise anneleri ile benzer *S. mutans* genotipine sahip olduğu, ancak çocuklardan hiçbirinin babaları ile benzer *S. mutans* genotipine sahip olmadığı vurgulanmıştır (13).

Türk ailelerle yapılan bir çalışmada 56 çocuk, 49 anne ve 20 baba katılmış; 25 anne-çocuk çiftinin 6'sının (%24) ve 12 baba-çocuk çiftinin 2'sinin (%16.6) sırasıyla aynı genotipleri gösterdiği tespit edilmiştir (233).

Tayland'da yapılan çalışmada *mutans streptokok* ve *Lactobacillus*'ların genotiplemesi sırasıyla 37 ve 22 anne-çocuk çiftinde yapılmış eşleşen genotiplerin oranı sırasıyla % 76 ve % 50 bulunmuştur. Bu çalışmada çocuklarda gözlenen *mutans streptokok* ve *Lactobacillus*'ların kaynağının anne olabileceği düşünülmüştür (157).

18 anne-çocuk çiftinde oral floradan elde edilen *C. albicans* suşları karşılaştırılmış ve 11'inde (%61.1) anneye birebir aynı *C. albicans*'a rastlanmıştır (164).

Çalışmamızda *S. mutans* izole edilen 15 bebekten; 12'si (%80), *L. fermentum* izole edilen 13 bebekten 10'u (%76.9), *C. albicans* görülen 15 bebekten 13'ü (%86.6) anneye ilişkili bulunmuştur. Babalarla sadece 1 bebek ilişkili bulunmuştur. Bizim çalışmamızda diğer çalışmalar gibi bebeklerin sonuçları anneye daha ilişkili bulunmuş, babalarla ilişki daha düşük oranda görülmüştür. Bunun sonucu olarak bakteri ve mayaların anneden bebeğe bulaştığı düşünülmüştür.

Literatürde annenin ağızdaki bakteri ve mayaların bebeğe geçişinin sebebinin; annenin, bebeğin mama kaşığı/emziğini bebeğine vermeden önce kendi ağızına götürmesi ya da bebeğini ağızdan öpmesi gibi davranışlarının sonucu olduğunu savunan çalışmalar bulunmaktadır (81, 82, 238, 264). Bizim çalışmamızda *S. mutans* suşları anneye ilişkili bulunan bebeklerin 10'unun (%83.3), *L. fermentum* suşları ilişkili bulunan bebeklerin 10'unun (%90), *C. albicans* suşları ilişkili bulunan bebeklerin 11'inin (%84.6) anneleri tarafından ağızdan öpüldüğü görülmüştür. Bebekleriyle ilişkili izolatlara sahip annelerin çoğunun bebeklerini ağızdan öptüğü görülmüş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Li ve ark. *S. mutans*'la enfekte olmuş 37 bebekte yapılmış genetik analizde, sezeryanla doğan çocuklardaki *S. mutans*'ların genotipik olarak, vajinal yolla doğan çocuklara göre annelerine daha benzer oldukları bulunmuştur (129). Çalışmamızda

doğum şekli ve klonal ilişkiler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bunun sebebi olarak da oral floranın doğumdan diş sürme dönemine kadar farklı etkenlere bağlı olarak değişmiş olabileceği düşünülebilir.

Diş Sürme Dönemi Bulguları

Çalışmamızdaki bebeklerin ilk diş sürme dönemi 8.21 ± 1.71 aydır. İspanya'da yapılmış çalışmada bu süre 10.96 ± 1.88 ay olarak bulunmuştur (265).

Polonya'da yapılan çalışmada erkek çocuklarının ilk diş sürme dönemlerinin ortalama 6.24 ay, kız çocuklarının ortalama 7.07 ay olduğu (266); İspanya'da erkek çocuklarında ortalama 6.82 ay, kız çocuklarında ortalama 7.6 ay olduğu (267); Nijerya'da erkek çocuklarında 7.55 ay, kızlarda ortalama 7.84 ay olduğu tespit edilmiştir (268). Bizim çalışmamızda bu oranlar erkekler için 8 ay, kızlar için 8.48 ay bulunmuştur.

Diş sürme sürecinde çocukların %38.3'ünde ateş, %23.4'ünde ağrı/huzursuzluk, %12.8'inde uykusuzluk, %36.2'sinde diyare görüldüğü ailelerle yapılan anket sonuçlarında görülmüştür. Başka bir çalışmada bu süreçte çocukların %32.4'ünde ateş, %3.7'sinde huzursuzluk. %51.8'inde diyare ve ateş beraber görülmüştür (269). Brezilya'da yapılmış bir çalışmada, bebeklerin %46'sında ateş, %39'unda ajite uyku, %35'inde diyare görüldüğü belirtilmiştir (270). Sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik sergilemektedir.

Diş sürme sürecinin başlamasıyla beraber bebekte oral flora değişmeye başlamakta ve diş sayısı arttıkça diş çürüğü için etiyolojik faktörlerin başında gelen mutans streptokok düzeyi de florada artmaktadır (271). Bizim çalışmamızda da diş sayısının çalışmayı etkilememesi için ailelerle iletişimde kalınmış ilk diş ağızda en az 2 mm sürdüğünde oral sürüntü örnekleri alınmıştır. Ancak bebeklerin %42.6'sında simetrik dişler, %8.5'inde simetrik ve karşı dişler beraber sürmüştür. Ağızda sürmüş diş sayısı arttıkça izole edilen *S. mutans* ve *Candida* sayısı artmıştır. Benzer çalışmalarda bizim sonucumuzda olduğu gibi ağızda görülen diş sayısı arttıkça mutans streptokok sayılarında artış olduğu tespit edilmiştir (9, 72, 238, 254, 272). Çalışmamızda *Candida* türleri ve *S. mutans* arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. *S. mutans* ve *Candida* arasındaki korelasyon nedeniyle, diş sayısı arttıkça *Candida* sayısının da arttığı düşünülmektedir.

Erken yaşta *S. mutans* görülen çocuklarda ileriki zamanlarda çürük görülme riski artmaktadır. Tükürük *S. mutans* seviyesi yüksek olan 77 anne ve 3-8 aylık bebekleriyle

yapılan çalışmada bebekler 3 yaşına kadar takip edilmiş, 15 aylıkken *S. mutans* taşıyan çocukların %77'sinde 3 yaşına geldiğinde çürük görülmüştür (14). Doğumdan 36 aya kadar takip edilen çocuklarla yapılan başka bir çalışmada da 30 ve 36. ayda çürük görülmesinin çocuklardan 18. ayda izole edilen *S. mutans* sayısı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (273). Bu çalışmalarda, çocukların *S. mutans* ve diğer karyojenik bakterilerle erken yaşta enfekte olmaları geciktirilebilir ya da engellenebilirse, diş çürüğünün azaltılabileceği kanısına varılmıştır. Lindquist ve ark yaptıkları çalışmada 15 anne ile çocuğu 7 yıl süreyle takip etmiş ve annelere iyi bir ağız diş sağlığı eğitimi verilmesi durumunda, çocuklara mutans streptokok bulaşma sürecinin enfektive penceresi döneminin sonrasına geciktirilebileceğini göstermiştir (80).

Bizim çalışmamızda amaç çocukların oral mikroflorasındaki değişimi ve bu değişime sebep olan genetik ve sosyal etkenleri saptamak, aileleri bu konuda bilinçlendirmek ve bebeğin doğumundan itibaren gerekli önlemleri alarak olası erken çocukluk çağı çürüklerinin önüne geçmektir.

Plonka ve ark. ortalama yaşları 42 günlük olan 325 bebeği takip etmiş, bebekleri iki gruba ayırmış, bir gruba (n=236) 6 aylık periyotlarla ev ziyaretleri yapmış, diğer gruba (n=89) 6 aylık periyotlarla telefonla ulaşıp ve oral hijyen ve beslenme alışkanlıkları konusunda bilgilendirmişlerdir. Aynı yaşlarda 40 bebeği de kontrol grubu olarak seçmişlerdir. Bebekler 24 aylık olduğunda dental klinikte ağız muayeneleri yapılmış ve oral floradaki mutans streptokok ve *Lactobacillus* değerleri ölçülmüştür. Ev ziyareti yapılan grupta telefonla ulaşılan gruba göre anlamlı olarak daha düşük sayıda MS görülmüştür. Ev ziyareti yapılan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, ev ziyareti yapılan grupta daha düşük sayıda MS görülmüş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. *Lactobacillus* sayıları bütün gruplarda benzer bulunmuştur. Gruplar diş çürüğü açısından değerlendirildiğinde ev ziyareti yapılan grupta %1.5 (n=188), telefon kontrolleri yapılan grupta %4 (n=58), kontrol grubunda %22.5 (n=40) oranlarında diş çürüğü tespit edilmiş, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada ev ziyaretlerinin telefon kontrollerine göre daha etkili olduğu, ancak hiçbir şey yapılmayan gruba göre ev ziyaretlerinin ve telefonla kontrolün her ikisinin de daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiş ve annelerle doğumdan itibaren iletişim halinde olunması gerektiğinin üzerinde durulmuştur (274). Benzer bir çalışmada ev ziyaretleri yapılan grupta diş çürüğü %4 oranında görülürken, iletişim kurulmayan

kontrol grubunda bu oran %33 olarak bulunmuştur (275). Bu çalışmalar doğumdan sonra ailelerle iletişimde olmanın önemini vurgulamıştır.

Bizim çalışmamızda annelerden sadece 2 tanesi (%4.3) nemli pamuklu bir bezle bebeğinin diş yüzeyini temizlemesi gerektiğini bildiğini ve diş sürdükten sonra temizlemeye başladığını söylemiştir. Diş sürdükten sonra yapılan görüşmelerde ailelere; *S. mutans* ve diğer karyojenik mikroorganizmaların hangi yollarla çocuğa bulaşabileceği, diş yüzeylerinin nasıl temizleneceği anlatılmış ve 6 aylık aralıklarla diş hekimine gidilmesi gerektiği söylenmiştir. Çocukların herhangi bir diş şikayeti olduğunda diş hekimine götürülmesi yerine doğumdan itibaren periyodik olarak diş hekimine götürülerek ağız-diş muayenelerinin yapılması çürüklerin ilerlemeden önüne geçilmesinde faydalı olacaktır. Ailelerin kendileri ve bebekleri için oral hijyen ve beslenme alışkanlıkları konusunda bilgilendirilmelerine ihtiyaç vardır. Bunun için aile sağlığı merkezlerinde aşı zamanı gelen bebeğin ailesine ulaşıp hatırlatıldığı gibi toplum sağlığı merkezlerinde çalışan diş hekimlerinin de belirli aralıklarla kendi bölgelerindeki ebeveynlere ulaşması düşünülebilir.

Ailelerle yapılan görüşmelerde ebeveynlerin 28'inin (%59.6) birinci ayda, 29'unun (%61.7) ilk diş sürdüğünde bebeğini ağızdan öpme alışkanlığı olduğu saptanmıştır. Ayrıca sadece 2 (%4.3) ebeveynin bebeğin ağız temizliğini nasıl gerçekleştireceğini bildiği ve yaptığı tespit edilmiştir. Bu veriler bize ailelerin ağız diş sağlığı konusunda yeterli bilgiye sahip olmadığını düşündürmüştür. İlk diş sürmesiyle beraber bebeklerin diş temizliğine başlanması ve beslenme alışkanlıklarının düzenlenmesine dair ailelerin seminerler, kamu spotlarıyla bilgilendirmesine ve bu konuda farkındalık oluşturulmasına ihtiyaç vardır. Bu konuda afişler hazırlatılıp aile sağlığı merkezlerine ve pediatri kliniklerine asılabilir ve buralarda broşürler dağıtılabilir. Aileler bebeklerini diş hekimine götürmeseler de düzenli olarak aile hekimleri ve pediatri doktorlarına götürmektedir. Bu alanlarda çalışan hekimlere ulaşılarak, aileleri diş hekimine yönlendirmeleri gerektiği konusunda yardım istenebilir.

Bu çalışma, bebeklerin karyojenik florayla çok erken yaşlarda tanıştığını ve bu bakteri ve mayaların ağırlıklı olarak anneden geldiğini somut verilerle kanıtlamıştır. Erken yaşlarda bu mikroorganizmaların ağız florasında bulunmasının çocuklarının gelecekteki ağız diş sağlığını etkilediği bilinmektedir. Bu yüzden ailelerin bu konuda bilinçlendirilmesine, koruyucu diş hekimliğinin doğumdan itibaren başlamasına dair yapılacak düzenlemelere ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Doğumdan sonraki ilk 24 saatte 47 bebeğin 5'inin (%10.6) oral florasından *C. albicans* izole edilmiştir.
2. Takip edilen 1. ayda 4 (%8.5) bebekte *Lactobacillus* türleri (3 tanesi *L. ramnus*, 1 tanesi *L. fermentum*), 7 (%14.8) bebekte *C. albicans* gözlenmiştir.
3. Bebeklerin ilk dişi sürdüğü dönemde 15 (%31.9) bebekten *S. mutans*, 17 (%34.0) bebekten *Lactobacillus spp.* (3 *L. ramnus* ve 14 *L. fermentum*), 22 (%46.8) bebekten *Candida spp.* (21 *C. albicans* ve 1 *C. dublinensi*) izole edilmiştir.
4. İlk diş ağza sürdüğü dönemde *S. mutans* izole edilen bebeklerin aynı zamanda 12'sinde (%80) *Lactobacillus spp.*, 13'ünde (%86.7) *Candida spp.* görülmüştür.
5. İlk diş ağza sürdüğü dönemde *Lactobacillus spp.* izole edilen bebeklerin aynı zamanda 12'sinde (%70.6) *Candida spp.* görülmüştür.
6. 11 bebekte *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* türleri beraber görülmüştür.
7. Bebeklerde görülen *S. mutans*, *Lactobacillus* ve *Candida* sayıları arasında korelasyon bulunmuştur.
8. Anneler ve bebeklerden izole edilen *S. mutans*, *Lactobacillus.* ve *Candida* sayıları arasında pozitif korelasyon görülmüştür.
9. *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Candida* izole edilen bebeklerin annelerinin DMF-T değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.
10. Annelerin DMF-T değerleri ve bebeklerden izole edilen *S. mutans* ve *Lactobacillus*, *Candida* sayıları arasında pozitif korelasyon görülmüştür.
11. Anne ve bebeklerde görülen *S. mutans* suşlarının %80'i, *L. fermentum* suşlarının %76.9'u, *C. albicans* suşlarının %86.6'sı birbiriyle ilişkili bulunmuştur.
12. Baba ve bebeklerde görülen *S. mutans* suşlarının %8.3'ü, *L. fermentum* suşlarının %9'u, *C. albicans* suşlarının %12.5'i birbiriyle ilişkili bulunmuştur.
13. Bebeklerin ilk diş sürme dönemleri ortalama 8.21 ± 1.71 ay'dır. Kızların ortalama 8.48 ± 1.5 ay, erkeklerin 8 ± 1.87 ay olup, cinsiyetler arasında istatistiksel fark yoktur.

14. Diş sürme sürecinde bebeklerin %38.3'ünde ateş, %23.4'ünde ağrı/huysuzluk, %12.8'inde uykusuzluk, %36.2'sinde diyare görülmüştür.
15. Bebeğinin dişlerini nasıl temizleyeceğine dair sadece 2 annenin bilgisi vardır.
16. Bebeklerin dişleri sürdüğü gibi karyojenik mikroorganizmalar ağza yerleşmeye başlamaktadır ve bebekler için bulaş kaynağı büyük oranlarda anneleridir.
17. Annelere; bebeklerine karyojenik mikroorganizmaların geçişinde önemli bir etken oldukları, bebeklerin emzik/mama kaşığına tatma, bebeği ağzından öpme gibi alışkanlıkların olumsuz olduğu konusunda farkındalık kazandırılabilir.
18. Anneler; kendi ağızlarındaki çürük, dolgulu, eksik dişlerin bebeğin ağızındaki karyojenik mikroorganizma sayısını arttırdığı konusunda bilgilendirilebilir. Bunu düzeltmek için kendi ağız sağlıklarına dikkat etmeleri gerektiği yönünde bilinçlendirilebilirler.
19. Diş hekimleri seminerler ve bildiriler düzenleyerek bebekleri daha sık ve düzenli gören pediatri doktorlarına ve aile hekimlerine ulaşabilir. Aile hekimleri ve pediatri doktorları kendilerine başvuran aileleri; bebeklerini dişleri sürmeye başladıktan sonra düzenli olarak diş hekimine götürmeleri konusunda yönlendirebilir.
20. Toplum sağlığı merkezlerinde çalışan diş hekimlerinin aile sağlığı merkezlerinde aşı zamanı gelen çocuklara ulaşıldığı gibi belirli aralıklarla kendi bölgelerindeki doğum yapan annelere ulaşması düşünülebilir.
21. Aileler kendileri ve bebekleri için oral hijyen, beslenme ve sosyal alışkanlıkları konusunda seminerler, kamu spotları, afişler, el broşürleri gibi materyallerle bilgilendirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Adair SM. The Dynamics of Change: Epidemiology and mechanisms of dental disease. In: Pinkham JR, Casamassimo, P.S., Fields, H.W., Mctigue, D.J., Nowak, A.J., editor. *Pediatric dentistry* 4thed. Missouri, Mosby Elsevier, 2005: 199-205.
2. Gürgan S, Yalcin Cakir F. Karyoloji: Lezyon, Etiyoloji, Önleme ve Kontrol. İçinde: *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*, Roberson T, Heymann O, Swift E.5. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2010: 67-134.
3. Motisuki C, Lima LM, Spolidorio DMP, Santos-Pinto L. Influence of sample type and collection method on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. counts in the oral cavity. *Arch Oral Biol* 2005, 50 (3): 341-5.
4. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005, 33 (4): 248-55.
5. Klinke T, Urban M, Lück C, Hannig C, Kuhn M, Krämer N. Changes in *Candida* spp., mutans streptococci and lactobacilli following treatment of early childhood caries: a 1-year follow-up. *Caries Res* 2014, 48 (1): 24-31.
6. Li W, Yu D, Gao S, Lin J, Chen Z, Zhao W. Role of *Candida albicans*-secreted aspartyl proteinases (Saps) in severe early childhood caries. *Int J Mol Sci* 2014, 15 (6): 10766-79.
7. Beena M, Peedikayil FC, GufranAfmed M, Chandru T, Soni K, Dhanesh N. Comparison of *Candida* species isolated from children with and without early childhood caries: A descriptive cross-sectional study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2017, 35 (4): 296.
8. Samaranayake L, Matsubara VH. Normal oral flora and the oral ecosystem. *Dental Clinics* 2017, 61 (2): 199-215.
9. Caufield P, Cutter G, Dasanayake A. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 1993, 72 (1): 37-45.

10. Köhler B, Bratthall D. Intrafamilial levels of *Streptococcus mutans* and some aspects of the bacterial transmission. *Eur J Oral Sci* 1978, 86 (1): 35-42.
11. Mattos-Graner RO, Li Y, Caufield PW, Duncan M, Smith DJ. Genotypic diversity of *mutans streptococci* in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J Clin Microbiol* 2001, 39 (6): 2313-6.
12. Van Houte J, Yanover L, Brecher S. Relationship of levels of the bacterium *Streptococcus mutans* in saliva of children and their parents. *Arch Oral Biol* 1981, 26 (5): 381-6.
13. Emanuelsson IR, Li Y, Bratthall D. Genotyping shows different strains of *mutans streptococci* between father and child and within parental pairs in Swedish families. *Oral Microbiol Immunol* 1998, 13 (5): 271-7.
14. Köhler B, Andréen I, Jonsson B. The effect of caries-preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. *Arch Oral Biol* 1984, 29 (11): 879-83.
15. Slavos S, Porter S, Kim SW. Future caries development in children with nursing bottle caries. *J Pedod* 1988, 13 (1): 1.
16. Ding T, Schloss PD. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature* 2014, 509 (7500): 357.
17. Hardie J. Oral microbiology: current concepts in the microbiology of dental caries and periodontal disease. *Br Dent J* 1992, 172 (7): 271.
18. Marsh P. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries res* 2004, 38 (3): 204-11.
19. Könönen E, Asikainen S, Saarela M, Karjalainen J, Jousimies-Somer H. The oral gram-negative anaerobic microflora in young children: longitudinal changes from edentulous to dentate mouth. *Oral Microbiol Immunol* 1994, 9 (3): 136-41.
20. Carletto FK, Cornejo LS, Giménez MG. Early acquisition of *Streptococcus mutans* for children. *Acta Odontol Latinoam* 2005, 18 (2): 69-74.

21. Dasanayake AP, Caufield PW. Prevalence of dental caries in Sri Lankan aboriginal Veddha children. *Int Dent J* 2002, 52 (6): 438-44.
22. Carle A, Olsson J, Bo A-C. Saliva-mediated binding in vitro and prevalence in vivo of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 1996, 41 (1): 35-9.
23. Van Loveren C, Buijs J, Ten Cate J. Similarity of bacteriocin activity profiles of *mutans streptococci* within the family when the children acquire the strains after the age of 5. *Caries res* 2000, 34 (6): 481-5.
24. Arıĝ Ö. *Aĝız Mikrobiyolojisi*. 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1990.
25. Thylstrup OF. *Textbook of clinical cariology*. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard, 1994.
26. K lekçi GH. Aĝız mikroorganizmaları  zerine flor r n etkisi. *İstanbul Univ Dishekim Fak Derg*. 2000, 34: 1-6.
27. Greenstein G, Lamster I. Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review. *J Periodontol* 1997, 68 (5): 421-31.
28. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986, 50 (4): 353.
29. Black G. Susceptibility and immunity to dental caries. *Dent Cosmos* 1899, 41: 826-30.
30. Miller W. Microorganisms of the Human Mouth. *Am J Med Sci* 1891, 101 (2): 159-1590.
31. Featherstone J, Rodgers B. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries res* 1981, 15 (5): 377-85.
32. Gray J. Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient caries-like lesions. *Arch Oral Biol* 1966, 11 (4): 397-IN7.
33. Arends J, Ten Cate J. Tooth enamel remineralization. *J Cryst Growth* 1981, 53 (1): 135-47.

34. Koulourides T, Cameron B. Enamel remineralization as a factor in the pathogenesis of dental caries. *J Oral Pathol* 1980, 9 (5): 255-69.
35. Koulourides T, Feagin F, Pigman W. Effect of pH, ionic strength, and cupric ions on the rehardening rate of buffersoftened human enamel. *Arch Oral Biol* 1968, 13 (3): 335-41.
36. Silverstone LM. The significance of remineralization in caries prevention. *Dent J* 1984, 50 (2): 157-67.
37. Gest H. The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni Van Leeuwenhoek, fellows of the Royal Society. *Notes Rec R Soc Lond* 2004, 58 (2): 187-201.
38. Marsh PD. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am* 1999, 43 (4): 599-614.
39. Fitzgerald R. Dental caries research in gnotobiotic animals. *Caries res* 1968, 2 (2): 139-46.
40. Keyes P. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries: Findings and implications. *Arch Oral Biol* 1960, 1 (4): 304-IN4.
41. Edgar WM. Saliva and dental health. Clinical implications of saliva: report of a consensus meeting. *Br Dent J* 1990, 169 (4): 96.
42. Loesche WJ. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *J Dent Res* 1979, 58 (12): 2404-12.
43. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994, 8 (2): 263-71.
44. Coykendall AL. Classification and identification of the viridans streptococci. *Clin Microbiol Rev* 1989, 2 (3): 315-28.
45. Tanzer J. Microbiology of dental caries. In: Martin A, Taubman, Jørgen S (eds). *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*, 1sted. Mosby-Year Book. 1992: 377-424.

46. Truong T, Menard C, Mouton C, Trahan L. Identification of mutans and other oral streptococci by random amplified polymorphic DNA analysis. *J Med Microbiol* 2000, 49 (1): 63-71.
47. Whiley R, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 1998, 13 (4): 195-216.
48. Ando T, Tsumori H, Shimamura A, Sato Y, Mukasa H. Classification of oral streptococci by two-dimensional gel electrophoresis with direct activity stain for glycosyltransferases. *Oral Microbiol Immunol* 2003, 18 (3): 171-5.
49. Sherman J, Niven Jr C, Smiley K. Streptococcus salivarius and other non-hemolytic streptococci of the human throat. *Journal of bacteriology* 1943, 45 (3): 249.
50. Whittenbury R. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *J Gen Microbiol* 1964, 35 (1): 13-26.
51. Carlsson J. A numerical taxonomic study of human oral streptococci. *Odontol Revy* 1968, 19 (2): 137.
52. Facklam RR. Physiological differentiation of viridans streptococci. *J Clin Microbiol* 1977, 5 (2): 184-201.
53. Parker M, Ball LC. Streptococci and aerococci associated with systemic infection in man. *J Med Microbiol* 1976, 9 (3): 275-302.
54. Carlsson J, Grahnen H, Jonsson G, Wikner S. Establishment of Streptococcus sanguis in the mouths of infants. *Arch Oral Biol.* 1970 15 (12): 1143-8.
55. Van Houte J, Gibbons R, Pulkkinen A. Adherence as an ecological determinant for streptococci in the human mouth. *Arch Oral Biol.* 1971 16 (10): 1131-41.
56. De Stoppelaar J, Van Houte J, Dirks OB. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries res* 1969, 3 (2): 190-9.
57. Emilson CG. Effect of chlorhexidine gel treatment on Streptococcus mutans population in human saliva and dental plaque. *Eur J Oral Sci* 1981, 89 (3): 239-46.

58. Emilson C, Krasse B, Westergren G. Effect of a fluoride-containing chlorhexidine gel on bacteria in human plaque. *Eur J Oral Sci* 1976, 84 (2): 56-62.
59. Çakır FY, Gürkan S, Attar N. Çürük mikrobiyolojisi. *H Diş Hek Fak Derg* 2010, 34 (3): 78-91.
60. Van Houte J, Green D. Relationship between the concentration of bacteria in saliva and the colonization of teeth in humans. *Infect Immun* 1974, 9 (4): 624-30.
61. Carlsson J, Grahnén H, Jonsson G, Wikner S. Early establishment of *Streptococcus salivarius* in the mouths of infants. *J Dent Res* 1970, 49 (2): 415-8.
62. Colman G, Ball LC. Identification of streptococci in a medical laboratory. *J Appl Bacteriol* 1984, 57 (1): 1-14.
63. Whiley R, Hardie J. *Streptococcus vestibularis* sp. nov. from the human oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 1988, 38 (4): 335-9.
64. Clarke JK. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Br J Exp Pathol* 1924, 5 (3): 141.
65. Edwardsson S. Characteristics of caries-inducing human streptococci resembling *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 1968, 13 (6): 637-46.
66. Guggenheim B. Streptococci of dental plaques. *Caries res* 1968, 2 (2): 147-63.
67. Coykendall A. Four types of *Streptococcus mutans* based on their genetic, antigenic and biochemical characteristics. *J Gen Microbiol* 1974, 83 (2): 327-38.
68. Freedman M, Tanzer J, Coykendall A. The use of genetic variants in the study of dental caries. Animal Models in Cariology. *Microbiol Abstr-Bacteriol* 1981, 247-69.
69. Holbrook WP, Kristinsson MJ, Gunnarsdóttir S, Briem B. Caries prevalence, *Streptococcus mutans* and sugar intake among 4-year-old urban children in Iceland. *Community Dent Oral Epidemiol* 1989, 17 (6): 292-5.

70. Perch B, Kjems E, Ravn T. Biochemical and serological properties of *Streptococcus mutans* from various human and animal sources. *APMIS* 1974, 82 (3): 357-70.
71. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Hamada S, Ooshima T. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, k, in the human oral cavity. *J Clin Microbiol* 2004, 42 (1): 198-202.
72. Berkowitz R, Jordan H, White G. The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouths of infants. *Arch Oral Biol* 1975, 20 (3): 171-4.
73. Masuda N, Tsutsumi N, Sobue S, Hamada S. Longitudinal survey of the distribution of various serotypes of *Streptococcus mutans* in infants. *J Clin Microbiol* 1979, 10 (4): 497-502.
74. Krasse B, Jordan H, Edwardsson S, Svensson I, Trelle L. The occurrence of certain "caries-inducing" streptococci in human dental plaque material: With special reference to frequency and activity of caries. *Arch Oral Biol* 1968, 13 (8): 911-8.
75. Loesche W, Rowan J, Straffon L, Loos P. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infect Immun* 1975, 11 (6): 1252-60.
76. Littleton N, Kakehashi S, Fitzgerald R. Recovery of specific "caries-inducing" streptococci from carious lesions in the teeth of children. *Arch Oral Biol* 1970, 15 (5): 461-3.
77. Loesche WJ, Walenga A, Loos P. Recovery of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* from a dental explorer after clinical examination of single human teeth. *Arch Oral Biol* 1973, 18(4): 571-5.
78. Beighton D, Hardie J, Whaley R. A scheme for the identification of viridans streptococci. *J Med Microbiol* 1991, 35 (6): 367-72.
79. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* 1980, 44 (2): 331.

80. Lindquist B, Emilson C. Colonization of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes and caries development in children to mothers harboring both species. *Caries res* 2004, 38 (2): 95-103.
81. Liu Y, Zou J, Shang R, Zhou XD. Genotypic diversity of *Streptococcus mutans* in 3-to 4-year-old Chinese nursery children suggests horizontal transmission. *Arch Oral Biol* 2007, 52 (9): 876-81.
82. Tedjosasongko U, Kozai K. Initial acquisition and transmission of *mutans streptococci* in children at day nursery. *J Dent Child* 2002, 69 (3): 284-8.
83. Coykendall AL. *Streptococcus sobrinus* nom. rev. and *Streptococcus ferus* nom. rev.: habitat of these and other *mutans streptococci*. *Int J Syst Evol Microbiol* 1983, 33 (4): 883-5.
84. Huis in 't Veld JH, van Palenstein Helderma WH, Dirks OB. *Streptococcus mutans* and dental caries in humans: a bacteriological and immunological study. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1979, 45 (1): 25-33..
85. Lindquist B, Emilson C-G. Dental Location of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Human: Harboring Both Species. *Caries res* 1991, 25 (2): 146-52.
86. Bratthall D. Demonstration of *Streptococcus mutans* strains in some selected areas of the world. *Odont Revy* 1972, 23: 401-10.
87. Alaluusua S. *Streptococcus mutans* establishment and changes in salivary IgA in young children with reference to dental caries. Longitudinal studies and studies on associated methods. *Proc Finn Dent Soc* 1983, 79: 1-55.
88. Fragkou S, Balasouli C, Tsuzukibashi O, Argyropoulou A, Menexes G, Kotsanos N, et al. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Candida albicans* in oral samples from caries-free and caries-active children. *Eur Arch Paediatr Dent* 2016, 17 (5): 367-75.

89. Saraithong P, Pattanaporn K, Chen Z, Khongkhunthian S, Laohapensang P, Chhun N, et al. Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus colonization and caries experience in 3- and 5-year-old Thai children. *Clin Oral Investig* 2015, 19 (8): 1955-64.
90. Yun-xia W, Xue-jun L. The relationship between Streptococcus sobrinus and rampant caries in children. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2013, 22 (4).
91. Coykendall AL. Proposal to elevate the subspecies of Streptococcus mutans to species status, based on their molecular composition. *Int J Syst Evol Microbiol* 1977, 27 (1): 26-30.
92. Kilian M, Thylstrup A, Fejerskov O. Predominant plaque flora of Tanzanian children exposed to high and low water fluoride concentrations. *Caries res* 1979, 13 (6): 330-43.
93. Shklair I. Biochemical characterization and distribution of Streptococcus mutans in three diverse populations. *Microbial aspect of dental caries* 1976: 201-10.
94. Hamada S. *Molecular Microbiology and Immunobiology of Streptococcus Mutans; Proceedings of an International Conference on " Cellular, Molecular, and Clinical Aspects of Streptococcus Mutans" Held in Birmingham, Alabama, USA, Elsevier Science & Technology; 1986: 234-7.*
95. Beighton D, Hayday H, Russell R, Whiley R. Streptococcus macacae sp. nov. from dental plaque of monkeys (Macaca fascicularis). *Int J Syst Evol Microbiol* 1984, 34 (3): 332-5.
96. Beighton D, Russell RR, Hayday H. The isolation and characterization of Streptococcus mutans serotype h from dental plaque of monkeys (Macaca fascicularis). *J Gen Microbiol* 1981, 124 (2): 271-9.
97. Whiley R, Russell R, Hardie J, Beighton D. Streptococcus downei sp. nov. for strains previously described as Streptococcus mutans serotype h. *Int J Syst Evol Microbiol* 1988, 38 (1): 25-9.

98. Yoo SY, Kim K-J, Lim S-H, Kim K-W, Hwang H-K, Min B-M, et al. First isolation of *Streptococcus downei* from human dental plaques. *FEMS Microbiol Lett* 2005, 249 (2): 323-6.
99. Facklam R. Characteristics of *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and blood. *Int J Syst Evol Microbiol* 1974, 24 (3): 313-9.
100. Lindquist B, Emilson C. Distribution and prevalence of mutans streptococci in the human dentition. *J Dent Res* 1990, 69 (5): 1160-6.
101. Schleifer K, Kilpper-Bälz R, Kraus J, Gehring F. Relatedness and classification of *Streptococcus mutans* and "mutans-like" streptococci. *J Dent Res* 1984, 63 (8): 1047-50.
102. Etienne J, Reverdy M, Mouren C, Fleurette J. Etude bactériologique de cent vingt-cinq endocardites infectieuses à streptocoque. *Pathol Biol* 1982, 30: 707-10.
103. Roberts RB, Krieger AG, Schiller NL, Gross KC. Viridans streptococcal endocarditis: the role of various species, including pyridoxal-dependent streptococci. *Reviews of infectious diseases* 1979, 1 (6): 955-66.
104. Berman K, Gibbons R. Iodophilic polysaccharide synthesis by human and rodent oral bacteria. *Arch Oral Biol* 1966, 11 (5): 533-42.
105. Berman K, Gibbons R, Nalbandian J. Localization of intracellular polysaccharide granules in *Streptococcus mitis*. *Arch Oral Biol* 1967, 12 (10): 1133-IN9.
106. Gibbons R, Socransky S. Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques: its relation to dental caries and microbial ecology of the oral cavity. *Arch Oral Biol* 1962, 7 (1): 73-IN13.
107. Van Houte J, Jansen H. The iodophilic polysaccharide synthesized by *Streptococcus salivarius*. *Caries res* 1968, 2 (1) :47-56.
108. Freedman M, Coykendall A. Variation in internal polysaccharide synthesis among *Streptococcus mutans* strains. *Infect Immun* 1975, 12 (3): 475-9.

109. Huis J, Dirks OB. Intracellular polysaccharide metabolism in *Streptococcus mutans*. *Caries res* 1978, 12 (5): 243-9.
110. Keyes PH. Research in dental caries. *J Am Dent Assoc* 1968; 76 (6): 1357-73.
111. Scherp HW. Dental caries: prospects for prevention. *Science* 1971, 173 (4003): 1199-205.
112. Campbell RG, Zinner DD. Effect of certain dietary sugars on hamster caries. *J Nutr* 1970, 100 (1): 11-20.
113. Frostell G, Keyes PH, Larson RH. Effect of various sugars and sugar substitutes on dental caries in hamsters and rats. *J Nutr* 1967, 93 (1): 65-76.
114. Mäkinen K. The role of sucrose and other sugars in the development of dental caries; a review. *Int Dent J* 1972, 22 (3): 363-86.
115. Robrish SA, Krichevsky MI. Acid production from glucose and sucrose by growing cultures of caries-conducive streptococci. *J Dent Res* 1972, 51 (3): 734-9.
116. Tanzer J. Studies on the fate of the glucosyl moiety of sucrose metabolized by *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 1972, 51 (2): 415-23.
117. Tanzer JM, Chassy B, Krichevsky M. Sucrose metabolism by *Streptococcus mutans*, SL-I. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1972, 261 (2): 379-87.
118. Minah G, Loesche W. Sucrose metabolism by prominent members of the flora isolated from cariogenic and non-cariogenic dental plaques. *Infect Immun* 1977, 17 (1): 55-61.
119. Minah G, Loesche W. Sucrose metabolism in resting-cell suspensions of caries-associated and non-caries-associated dental plaque. *Infect Immun* 1977, 17 (1): 43-54.
120. Donoghue HD, Tyler J. Antagonisms amongst streptococci isolated from the human oral cavity. *Arch Oral Biol* 1975, 20 (5-6): 381-IN11.

121. Daneo-Moore L, Terleckyj B, Shockman G. Analysis of growth rate in sucrose-supplemented cultures of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 1975, 12 (5): 1195-205.
122. Carlsson J. Effect of diet on early plaque formation in man. *Odont Revy* 1965, 16: 112-25.
123. Staat RH, Gawronski TH, Cressey DE, Harris RS, Folke LE. Effects of dietary sucrose levels on the quantity and microbial composition of human dental plaque. *J Dent Res* 1975, 54 (4): 872-80.
124. Rosenblatt R, Steinberg D, Mankuta D, Zini A. Acquired oral microflora of newborns during the first 48 hours of life. *J Clin Pediatr Dent* 2015, 39 (5): 442-6.
125. Plonka K, Pukallus M, Barnett A, Walsh L, Holcombe T, Seow W. Mutans streptococci and lactobacilli colonization in pre-dentate children from the neonatal period to seven months of age. *Caries res* 2012, 46 (3): 213-20.
126. Tanner A, Milgrom P, Kent Jr R, Mokeem S, Page R, Riedy C, et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. *J Dent Res* 2002, 81 (1): 53-7.
127. Berkowitz RJ. Mutans streptococci: acquisition and transmission. *Pediatr Dent* 2006, 28 (2): 106-9.
128. Wan A, Seow W, Purdie D, Bird P, Walsh L, Tudehope D. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old pre-dentate infants. *J Dent Res* 2001, 80 (12): 2060-5.
129. Li Y, Caufield P, Dasanayake A, Wiener H, Vermund S. Mode of delivery and other maternal factors influence the acquisition of *Streptococcus mutans* in infants. *J Dent Res* 2005, 84 (9): 806-11.
130. Reed SG, Cunningham JE, Latham TN, Shirer SC, Wagner CL. Maternal Oral Mutans Streptococci (MS) Status, Not Breastfeeding, Predicts Pre-dentate Infant Oral MS Status. *Breastfeed Med* 2014, 9 (9): 446-9.

131. Merglova V, Polenik P. Early colonization of the oral cavity in 6-and 12-month-old infants by cariogenic and periodontal pathogens: a case-control study. *Folia Microbiol* 2016, 61 (5): 423-9.
132. Berkowitz R, Jordan H. Similarity of bacteriocins of *Streptococcus mutans* from mother and infant. *Arch Oral Biol* 1975, 20 (11): 725-30.
133. Davey A, Rogers A. Multiple types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and their intra-family transmission. *Arch Oral Biol* 1984, 29 (6): 453-60.
134. Berkowitz R, Jones P. Mouth-to-mouth transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* between mother and child. *Arch Oral Biol* 1985, 30 (4): 377-9.
135. Caufield P, Wannemuehler Y, Hansen J. Familial clustering of the *Streptococcus mutans* cryptic plasmid strain in a dental clinic population. *Infect Immun* 1982, 38 (2): 785-7.
136. Caufield P, Childers N, Allen D, Hansen J. Distinct bacteriocin groups correlate with different groups of *Streptococcus mutans* plasmids. *Infect Immun* 1985, 48 (1): 51-6.
137. Caufield PW, Ratanapridakul K, Allen DN, Cutter GR. Plasmid-containing strains of *Streptococcus mutans* cluster within family and racial cohorts: implications for natural transmission. *Infect Immun* 1988, 56 (12): 3216-20.
138. Kulkarni G, Chan K, Sandham H. An investigation into the use of restriction endonuclease analysis for the study of transmission of *mutans streptococci*. *J Dent Res* 1989, 68 (7): 1155-61.
139. Pannu P, Chawla HS, Tewari A, Gauba K, Sujlana A, Gambhir RS. Correlation between *mutans streptococci* counts of parents and their children residing in Chandigarh, India. *J Clin Exp Dent* 2014, 6 (3): 250.

140. Katre A, Damle S. Comparison of mutans streptococcal strains of father, mother, and child in indian families using chromosomal DNA fingerprinting. *J Contemp Dent Pract* 2013, 14 (5): 911-6.
141. Köhler B, Andréen I. Mutans streptococci and caries prevalence in children after early maternal caries prevention: a follow-up at 19 years of age. *Caries res* 2012, 46 (5): 474-80.
142. Li Y, Caufield P. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent Res* 1995, 74 (2): 681-5.
143. Tenovuo J, Häkkinen P, Paunio P, Emilson C. Effects of chlorhexidine-fluoride gel treatments in mothers on the establishment of mutans streptococci in primary teeth and the development of dental caries in children. *Caries res* 1992, 26 (4): 275-80.
144. Dülgergil ÇT, Arıkan S, Doğan B. Annedeki koruyucu uygulamaların çocuk çürüklerindeki etkisi: 5 yıllık saha çalışması sonuçları. *Toplum Hekimliği Bülteni* 2006, 25: 15-21.
145. Lamont RJ, Jenkinson HF. *Oral Microbiology at a Glance*, John Wiley & Sons Press; 2010.
146. Claesson MJ, van Sinderen D, O'Toole PW. Lactobacillus phylogenomics—towards a reclassification of the genus. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008, 58 (12): 2945-54.
147. Walter J. Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. *Appl Environ Microbiol* 2008, 74 (16): 4985-96.
148. Yang R, Argimon S, Li Y, Zhou X, Caufield P. Determining the genetic diversity of lactobacilli from the oral cavity. *J Microbiol Methods* 2010, 82 (2): 163-9.
149. Carlsson J, Gothefors L. Transmission of *Lactobacillus jensenii* and *Lactobacillus acidophilus* from mother to child at time of delivery. *J Clin Microbiol* 1975, 1 (2): 124-8.

150. Holgerson PL, Vestman NR, Claesson R, Öhman C, Domellöf M, Tanner AC, et al. Oral microbial profile discriminates breastfed from formula-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013, 56 (2): 127.
151. Vestman NR, Timby N, Holgerson PL, Kressirer CA, Claesson R, Domellöf M, et al. Characterization and in vitro properties of oral lactobacilli in breastfed infants. *BMC microbiology* 2013, 13 (1): 193.
152. Loesche W, Eklund S, Earnest R, Burt B. Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay: epidemiological studies in molars shortly after eruption. *Infect Immun* 1984, 46 (3): 765-72.
153. Caufield P, Schön C, Saraithong P, Li Y, Argimón S. Oral lactobacilli and dental caries: a model for niche adaptation in humans. *J Dent Res* 2015, 94: 110-8.
154. Marchant S, Brailsford S, Twomey A, Roberts G, Beighton D. The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries res* 2001, 35 (6): 397-406.
155. Piwat S, Teanpaisan R, Thitasomakul S, Thearmentree A, Dahlen G. Lactobacillus species and genotypes associated with dental caries in Thai preschool children. *Mol Oral Microbiol* 2010, 25 (2): 157-64.
156. Tanner A, Mathney J, Kent R, Chalmers N, Hughes C, Loo C, et al. Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. *J Clin Microbiol* 2011, 49 (4): 1464-74.
157. Teanpaisan R, Chaethong W, Piwat S, Thitasomakul S. Vertical transmission of mutans streptococci and lactobacillus in Thai families. *Pediatr Dent* 2012, 34 (2): 24-9.
158. Cannon RD. FN. Fungi and Fungal Infections of the Oral Cavity. In: Lamont RJ JH, Hajishengallis GN, editor. *Oral Microbiology and Immunology*. 2 ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2014. p. 343-59.

159. Howard F. Jenkinson CAM. *Candida albicans* colonization and community development. In: Kolenbrander PE, editor. *Oral Microbial Communities: genomic inquiry and interspecies communication: American Society for Microbiology Press*, 2011: 163-77.
160. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000*. 2006, 42 (1): 80-7.
161. Al-Rusan RM, Darwazeh AM, Lataifeh IM. The relationship of *Candida* colonization of the oral and vaginal mucosae of mothers and oral mucosae of their newborns at birth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2017, 123 (4): 459-63.
162. De Carvalho FG, Silva DS, Hebling J, Spolidorio LC, Spolidorio DMP. Presence of mutans streptococci and *Candida* spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Arch Oral Biol* 2006, 51 (11): 1024-8.
163. Xiao J, Grier A, Faustoferri R, Alzoubi S, Gill A, Feng C, et al. Association between oral candida and bacteriome in children with severe ECC. *J Dent Res* 2018, 97 (13): 1468-76.
164. Xiao J, Moon Y, Li L, Rustchenko E, Wakabayashi H, Zhao X, et al. *Candida albicans* carriage in children with severe early childhood caries (S-ECC) and maternal relatedness. *PloS one* 2016, 11 (10): 0164242.
165. Leys EJ. GA, Beall C., Maiden MF. . Isolation, Classification, and Identification of Oral Microorganisms. In: Lamont RJ JH, Hajishengallis GN, editor. *Oral Microbiology and Immunology*. 2 ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2014. p. 77-96.
166. Gold OG, Jordan H, Van Houte J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 1973, 18 (11): 1357-64.
167. Hildebrandt G, Bretz W. Comparison of culture media and chairside assays for enumerating mutans streptococci. *J Appl Microbiol* 2006, 100 (6): 1339-47.

168. Schaeken M, Van der Hoeven J, Franken H. Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. *J Dent Res* 1986, 65 (6): 906-8.
169. Kimmel L, Tinanoff N. A modified mitis salivarius medium for a caries diagnostic test. *Oral Microbiol Immunol* 1991, 6 (5): 275-9.
170. Tanzer J, Börjesson A, Laskowski L, Kurasz A, Testa M. Glucose-sucrose-potassium tellurite-bacitracin agar, an alternative to mitis salivarius-bacitracin agar for enumeration of *Streptococcus mutans*. *J Clin Microbiol* 1984, 20 (4): 653-9.
171. Van Palenstein Helderman W, Ijsseldijk M, in't Veld JH. A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. *Arch Oral Biol* 1983, 28 (7): 599-603.
172. Rogosa M, Mitchell JA, Wiseman RF. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. *J Bacteriol* 1951, 62 (1): 132.
173. Corry JE, Curtis GD, Baird RM. *Handbook of culture media for food and water microbiology: Royal Society of Chemistry*, 2011 23-27.
174. Reuter G. Elective and selective media for lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 1985, 2 (1-2): 55-68.
175. De Man J, Rogosa d, Sharpe ME. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J Appl Microbiol* 1960, 23 (1): 130-5.
176. Snyder ML. A simple colorimetric method for the estimation of relative numbers of lactobacilli in the saliva. *J Dent Res* 1940, 19 (4): 349-55.
177. Shimono T. A new colorimetric caries activity test. *Shikai Tenbo* 1974, 43 (6): 829-35.
178. Nishimura M, Oda T, Kariya N, Matsumura S, Shimono T. Using a caries activity test to predict caries risk in early childhood. *J Am Dent Assoc* 2008, 139 (1): 63-71.

179. Sutadi H, Jen CH, Nishimura M, Matsumura S, Shimono T. The determination of the predictive value of caries activity test and its suitability for mass screening in Indonesia. *Ped Dent J* 1992, 2 (1): 73-81.
180. Jen CH, Nishimura M, Matsumura S, Shimono T. Comparison of mutans streptococci count method and the Cariostat test for caries risk assessment. *Pediatr Dent J* 1995, 5 (1): 31-42.
181. Rodivick OD. A longitudinal study of approximal caries in primary molars- Predictive value of Cariostat test. 1996.
182. Nishimura M, Bhuiyan MM, Matsumura S, Shimono T. Assessment of the caries activity test (Cariostat) based on the infection levels of mutans streptococci and lactobacilli in 2-to 13-year-old children's dental plaque. *ASDC J Dent Child* 1998, 65 (4): 248-51, 29.
183. Ramesh K, Kunjappan S, Ramesh M, Shankar S, Reddy S. Comparative evaluation of predictive value of three caries activity tests-snyder, lactobacillus count and cariostat in mixed dentition children with and without caries. *J Pharm Bioallied Sci* 2013, 5 (1): 63.
184. Odds F. Sabouraud ('s) agar. *J Med Vet Mycol* 1991, 29 (6): 355-9.
185. Wohlmeister D, Vianna DRB, Helfer VE, Calil LN, Buffon A, Fuentefria AM, et al. Differentiation of *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Candida krusei* by FT-IR and chemometrics by CHROMagar™ *Candida*. *J Microbiol Methods* 2017, 141: 121-5.
186. Wanjare S, Suryawanshi R, Bhadade A, Mehta P. Utility of Chromagar Medium for Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* Species Against Fluconazole and Voriconazole in Resource Constrained Settings. *Bombay Hosp J* 2015, 57 (2): 147.
187. Rimek D, Fehse B, Göpel P. Evaluation of Mueller-Hinton-agar as a simple medium for the germ tube production of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Mycoses* 2008, 51 (3): 205-8.

188. Seyer A, Yaman M, Khalil I, Biter G, Yalçın B, Kalkancı A. Çeşitli Besiyerlerinde Candida Türlerinin Morfolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg* 2009, (3-4): 69-72.
189. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990, 262 (4): 56-65.
190. McPherson M, Møller S. *Pcr*, 2nd ed. Taylor & Francis Press, 2000.
191. Siqueira Jr JF, Rôças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent* 2003, 31 (5): 333-9.
192. Arda M. *Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler)*. Ankara: Kükem Derneği Bilimsel Yayınları; 1995.
193. Schochetman G, Ou CY, Jones WK. Polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1988, 158 (6): 1154-7.
194. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988, 239 (4839): 487-91.
195. Walker J, Dougan G. DNA probes: a new role in diagnostic microbiology. *J Appl Bacteriol* 1989, 67 (3): 229-38.
196. Çetinkaya E, Ayhan K. Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Fen Ve Mühendislik Dergisi* 2012, 2 (1): 53-62.
197. Temizkan G AN. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. Nobel Tıp Kitapevi; 2004.
198. Miwa N, Nishina T, Kubo S, Atsumi M. Most probable number method combined with nested polymerase chain reaction for detection and enumeration of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in intestinal contents of cattle, pig and chicken. *J Vet Med Sci* 1997, 59 (2): 89-92.
199. Rodriguez J. Detection of animal pathogens by using the polymerase chain reaction (PCR). *Vet J* 1997, 153 (3): 287-305.

200. Persing DH. Polymerase chain reaction: trenches to benches. *J Clin Microbiol* 1991, 29 (7): 1281.
201. Wolcott MJ. Advances in nucleic acid-based detection methods. *Clin Microbiol Rev* 1992, 5 (4): 370-86.
202. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. *PCR protocols: a guide to methods and applications*: Academic Press, 2012.
203. Weising K, Nybom H, Pfenninger M, Wolff K, Meyer W. *DNA fingerprinting in plants and fungi*, CRC Press, 1994.
204. Hadidi A, Levy L, Podleskis EV. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: R. P. Singh USS, editor. *Molecular Methods in Plant Pathology*. Boca Raton: CRS Press, 1995: 167-87.
205. Yılmaz S, Devran Z. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve bitki biyoteknolojisinde yaygın uygulamaları. *Derim* 2003, 20 (1): 31-42.
206. Ulusoy Özgür İlke Atasoy, Güliz G. Polimeraz zincir reaksiyonu (pcr) ve endodontik mikrobiyoloji. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2006, 16 (2): 61-5.
207. Watson J D GM, Witkowski J, Zoller M. *Recombinant DNA*. New York, 1992 90-9.
208. Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect* 2004, 10 (3): 190-212.
209. Erlich HA, Gelfand D, Sninsky JJ. Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 1991, 252 (5013): 1643-51.
210. Tuchili LM, Kodama H, Sharma RN, Takatori I, Pandey GS, Kabılıka S. Detection of Salmonella DNA in chicken embryos and environmental samples by polymerase chain reaction. *J Vet Med Sci* 1996, 58 (9): 881-4.
211. Diallo I, MacKenzie M, Spradbrow P, Robinson W. Field isolates of fowlpox virus contaminated with reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathol* 1998, 27 (1): 60-6.

212. Clark DP. *Manipulation of Nucleic Acids. Molecular biology*. 3rd ed: Elsevier Press, 2019: 132-66.
213. Chui L, Li V. *Technical and Software Advances in Bacterial Pathogen Typing. Methods in Microbiology*, Elsevier; 2015: 289-327.
214. Gardiner K. Pulsed field gel electrophoresis. *Anal Chem* 1991, 63 (7): 658-65.
215. Basım E, Basım H. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) technique and its use in molecular biology. *Turk J Biol* 2001, 25 (4): 405-18.
216. Schwartz D, Saffran W, Welsh J, Haas R, Goldenberg M, Cantor C, editors. New techniques for purifying large DNAs and studying their properties and packaging. Cold Spring Harb Symp Quant Biol; Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1983: 45-9
217. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical microbiology*, 8th ed. Elsevier Health Sciences, 2015 105-8.
218. Türe Mustafa, İlhan A. Pulsed-Field Jel Elektroforez (PFGE) Metodu ve Akuatik Organizmalarda Kullanımı. *SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi* 2013, 9 (1): 44-54.
219. Goering RV. The molecular epidemiology of nosocomial infection: past, present and future. *Rev Med Microbiol* 2000, 11 (3): 145-52.
220. Mineyama R, Yoshino S, Fukushima K. Genotypic analysis of strains of mutans streptococci by pulsed-field gel electrophoresis. *Microbiol Res* 2004, 159 (3): 181-6.
221. Mineyama R, Yoshino S, Maeda N. DNA fingerprinting of isolates of Streptococcus mutans by pulsed-field gel electrophoresis. *Microbiol Res* 2007, 162 (3): 244-9.
222. Motegi M, Takagi Y, Yonezawa H, Hanada N, Terajima J, Watanabe H, et al. Assessment of genes associated with Streptococcus mutans biofilm morphology. *Appl Environ Microbiol* 2006, 72 (9): 6277-87.

223. O'connor E, O'riordan B, Morgan S, Whelton H, O'mullane D, Ross R, et al. A lacticin 3147 enriched food ingredient reduces *Streptococcus mutans* isolated from the human oral cavity in saliva. *J Appl Microbiol* 2006, 100 (6): 1251-60.
224. Mitchell SC, Ruby JD, Moser S, Momeni S, Smith A, Osgood R, et al. Maternal transmission of mutans streptococci in severe-early childhood caries. *Pediatr Dent* 2009, 31 (3): 193-201.
225. Gosiewski T, Brzychczy-Wloch M. The Use of PFGE method in genotyping of selected bacteria species of the *Lactobacillus* genus. *Methods Mol Biol* 2015, 1201, 225-40.
226. Dong YP, Cui SH, Yu HX, Li FQ. [Development of pulsed field gel electrophoresis and application for characterization and identification of *Lactobacillus* and *Streptococcus thermophilus*]. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]* 2011, 45 (12): 1086-9.
227. Organization WH. Oral health surveys: basic methods: World Health Organization; 2013.
228. Singla D, Sharma A, Sachdev V, Chopra R. Distribution of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque of indian pre-school children using PCR and SB-20M agar medium. *J Clin Diagn Res* 2016, 10 (11): ZC60.
229. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis* 2009, 62 (5): 372-7.
230. Bolado-Martínez E, Acedo-Félix E. Differentiation of porcine wild-type lactobacilli strains, with ERIC-PCR and PFGE band patterns included in polyphasic taxonomy. *Czech J Anim Sci* 2009, (7): 307–314.
231. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *J Hosp Infect* 2003, 54 (1): 39-45.

232. Köhler B, Andréen I, Jonsson B. The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol* 1988, 3 (1): 14-7.
233. Hameş-Kocabaş EE, Uçar F, Ersin NK, Uzel A, Alpöz AR. Colonization and vertical transmission of Streptococcus mutans in Turkish children. *Microbiol Res* 2008, 163 (2): 168-72.
234. Plonka K, Pukallus M, Barnett A, Walsh L, Holcombe T, Seow W. A longitudinal study comparing mutans streptococci and lactobacilli colonisation in dentate children aged 6 to 24 months. *Caries res* 2012, 46 (4): 385-93.
235. Jain I, Jain P. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of three different formulations of mouth rinses with multi-herbal mouth rinse. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2016, 34 (4): 315.
236. Ruiz-Rodriguez S, Lacavex-Aguilar V, Pierdant-Perez M, Mandeville P, Santos-Diaz M, Garrocho-Rangel A, et al. Colonization levels of Streptococcus mutans between mother and infant: a postnatal prospective cohort study. *J Clin Pediatr Dent* 2014, 38 (3): 197-200.
237. Wan A, Seow W, Walsh L, Bird P. Comparison of five selective media for the growth and enumeration of Streptococcus mutans. *Aust Dent J* 2002, 47 (1): 21-6.
238. Damle S, Yadav R, Garg S, Dhindsa A, Beniwal V, Loomba A, et al. Transmission of mutans streptococci in mother-child pairs. *Indian J Med Res* 2016, 144 (2): 264.
239. Durhan MA, Topcuoglu N, Kulekci G, Ozgentas E, Tanboga I. Microbial Profile and Dental Caries in Cleft Lip and Palate Babies Between 0 and 3 Years Old. *Cleft Palate Craniofac J* 2019, 56 (3): 349-56.
240. Russell C, Lay K. Natural history of Candida species and yeasts in the oral cavities of infants. *Arch Oral Biol* 1973, 18 (8): 957-62.
241. Van Maillot K, Leipold W. The risk of yeast infection, of the newborn during and after delivery. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1975, 35 (5): 360.

242. bigom Taheri J, Mortazavi H, Mohammadi S, Bakhtiari S, Namazi F, Valaei N. Evaluation of Candida isolation from vaginal mucosa of mothers and oral mucosa of neonates on the basis of delivery type. *Afr J Microbiol Res* 2011, 5 (17): 5067-70.
243. Bliss JM, Basavegowda KP, Watson WJ, Sheikh AU, Ryan RM. Vertical and horizontal transmission of Candida albicans in very low birth weight infants using DNA fingerprinting techniques. *Pediatr Infect Dis J* 2008, 27 (3): 231-5.
244. Caramalac DA, da Silva Ruiz L, de Batista GCM, Birman EG, Duarte M, Hahn R, et al. Candida isolated from vaginal mucosa of mothers and oral mucosa of neonates: occurrence and biotypes concordance. *Pediatr Infect Dis J* 2007, 26 (7): 553-7.
245. Stecksén-Blicks C, Granström E, Silfverdal SA, West C. Prevalence of oral Candida in the first year of life. *Mycoses* 2015, 58 (9): 550-6.
246. Mattos-Graner RO, Correa MSN, Latorre MdRdO, Peres RC, Mayer MP. Mutans streptococci oral colonization in 12-30-month-old Brazilian children over a one-year follow-up period. *J Public Health Dent* 2001, 61 (3): 161-7.
247. Berkowitz R, Turner J, Green P. Maternal salivary levels of Streptococcus mutans and primary oral infection of infants. *Arch Oral Biol* 1981, 26 (2): 147-9.
248. Smith R, Badner VM, Morse DE, Freeman K. Maternal risk indicators for childhood caries in an inner city population. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002, 30 (3): 176-81.
249. Ersin NK, Eronat N, Cogulu D, Uzel A, Aksit S. Association of maternal-child characteristics as a factor in early childhood caries and salivary bacterial counts. *J Dent Child* 2006, 73 (2): 105-11.
250. Shearer DM, Thomson WM, Caspi A, Moffitt TE, Broadbent JM, Poulton R. Family history and oral health: findings from the Dunedin Study. *Community Dent Oral Epidemiol* 2012, 40 (2): 105-15.

251. Dye BA, Vargas CM, Lee JJ, Magder L, Tinanoff N. Assessing the relationship between children's oral health status and that of their mothers. *J Am Dent Assoc* 2011, 142 (2): 173-83.
252. Irigoyen Camacho ME, Pérez LS, Pérez ÁG, Zepeda Zepeda MA. Relationship between severe early childhood caries, mother's oral health and mutans streptococci in a low-income group: changes from 1996 to 2007. *J Clin Pediatr Dent* 2009, 33 (3): 241-6.
253. Thakur R, Singh MG, Chaudhary S, Manuja N. Effect of mode of delivery and feeding practices on acquisition of oral Streptococcus mutans in infants. *Int J Paediatr Dent* 2012, 22 (3): 197-202.
254. Karn TA, O'Sullivan DM, Tinanoff N. Colonization of mutans streptococci in 8-to 15-month-old children. *J Public Health Dent* 1998, 58 (3): 248-9.
255. Zhou Y, Yang J, Zhi Q, Tao Y, Qiu R, Lin H. Factors associated with colonization of Streptococcus mutans in 8-to 32-month-old children: a cohort study. *Aust Dent J* 2013, 58 (4): 507-13.
256. Mitrakul K, Asvanund Y, Vongsavan K. Prevalence of five biofilm-related oral streptococci species from plaque. *J Clin Pediatr Dent* 2011, 36 (2): 161-6.
257. Matee M, Mikx F, Frencken J, Truin G, Ruiken H. Selection of a micromethod and its use in the estimation of salivary Streptococcus mutans and lactobacillus counts in relation to dental caries in Tanzanian children. *Caries res* 1985, 19 (6): 497-506.
258. Alaluusua S, Myllärniemi S, Kallio M. Streptococcus mutans infection level and caries in a group of 5-year-old children. *Caries res* 1989, 23 (3): 190-4.
259. Babaahmady K, Challacombe S, Marsh P, Newman H. Ecological study of Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus and Lactobacillus spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. *Caries res* 1998, 32 (1): 51-8.

260. Zoitopoulos L, Brailsford S, Gelbier S, Ludford R, Marchant S, Beighton D. Dental caries and caries-associated microorganisms in the saliva and plaque of 3-and 4-year-old Afro-Caribbean and Caucasian children in south London. *Arch Oral Biol* 1996, 41 (11): 1011-8.
261. Roeters F, Van der Hoeven J, Burgersdijk R, Schaeken M. Lactobacilli, mutans streptococci and dental caries: a longitudinal study in 2-year-old children up to the age of 5 years. *Caries res* 1995, 29 (4): 272-9.
262. Klinke T, Kneist S, de Soet JJ, Kuhlisch E, Mauersberger S, Förster A, et al. Acid production by oral strains of *Candida albicans* and lactobacilli. *Caries res* 2009, 43 (2): 83-91.
263. Barbieri DDSV, Vicente VA, Fraiz FC, Lavoranti OJ, Svidzinski TIE, Pinheiro RL. Analysis of the in vitro adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Braz J Microbiol* 2007, 38 (4): 624-31.
264. Aaltonen AS, Tenovuo J. Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children: a cohort study. *Pediatr Dent* 1994, 16: 110-.
265. Torres LB, Mourelle Martinez M, de Nova García J. A study on the chronology and sequence of eruption of primary teeth in Spanish children. *Eur J Paediatr Dent* 2015, 16 (4): 301-4.
266. Żądzińska E, Nieczuja-Dwojacka J, Borowska-Sturgińska B. Primary tooth emergence in Polish children: timing, sequence and the relation between morphological and dental maturity in males and females. *Anthropol Anz* 2013, 70 (1): 1-13.
267. Ramirez O, Planells P, Barberia E. Age and order of eruption of primary teeth in Spanish children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994, 22 (1): 56-9.
268. Oziegbe EO, Adekoya-Sofowora C, Esan TA, Owotade FJ. Eruption chronology of primary teeth in Nigerian children. *J Clin Pediatr Dent* 2008,32 (4): 341-5.

269. Çelebioğlu A, Yaman S. Erzurum il merkezinde 24 aylık çocuğu olan annelerin diş çıkarma dönemine ilişkin bilgileri ile bu dönemde yaptıkları uygulamalar. *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi* 2010, 2(1).
270. Cunha RF, Garcia LD, Carvalho Pugliesi DM, Murata SS. Systemic and local teething disturbances: prevalence in a clinic for infants. *J Dent Child* 2004, 71 (1): 24-6.
271. Wan A, Seow W, Purdie D, Bird P, Walsh L, Tudehope D. A longitudinal study of *Streptococcus mutans* colonization in infants after tooth eruption. *J Dent Res* 2003, 82 (7): 504-8.
272. Tankunnasombut S, Youcharoen K, Wisuttisak W, Vichayanrat S, Tiranathanagul S. Early colonization of mutans streptococci in 2-to 36-month-old Thai children. *Pediatr Dent* 2009, 31 (1): 47-51.
273. Plonka K, Pukallus M, Barnett AG, Holcombe T, Walsh L, Seow W. A longitudinal case-control study of caries development from birth to 36 months. *Caries res* 2013, 47 (2): 117-27.
274. Plonka KA, Pukallus ML, Barnett A, Holcombe TF, Walsh LJ, Seow WK. A controlled, longitudinal study of home visits compared to telephone contacts to prevent early childhood caries. *Int J Paediatr Dent* 2013, 23 (1): 23-31.
275. Kowash M, Pinfield A, Smith J, Curzon M. Dental health education: effectiveness on oral health of a long-term health education programme for mothers with young children. *Br Dent J* 2000, 188 (4): 201.

EKLER

EK 1. Özgeçmiş Formu

09.05.1991 tarihinde Edirne’de doğdum. Lise öğrenimimi 2009 yılında Sakarya Kerime Hatun Kız Lisesi’nde tamamladım. 2014 yılında İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden mezun oldum. 2014-2015 yılları arasında Özel Nisa Dent Ağız ve Diş Sağlığı Kliniği’nde görev yaptım. 2016 yılında İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.

İletişim Bilgileri

Telefon : 0505 436 35 06

Mail : erelbeyza@gmail.com

EK 2. Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bebeklik Döneminde Oral Mikroflorada Görülen <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Candida spp.</i> 'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017/105

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	MALATYA KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İnönü Üniversitesi Merkez Kampüsü, 44280, Malatya, Türkiye
	TELEFON	+90 422 341 06 60 / 1219
	FAKS	+90 422 341 00 36
	E-POSTA	inu.dhek@inonu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm DURUK		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	MALATYA		
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma	<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Saim YOĞLU
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bebeklik Döneminde Oral Mikroflorada Görülen <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Candida spp.</i> 'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017/105

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
DİĞER:	<input type="checkbox"/>						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2017/105	Tarih: 03.04.2019					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacı/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacı/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Saim YOLOĞLU						

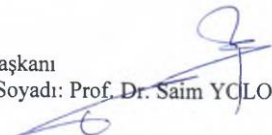
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Saim YOLOĞLU (Başkan)	Biyoistatistik	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Metin GENÇ (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İbrahim ŞAHİN	İç Hastalıkları	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sedat YILDIZ	Fizyoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Barış OTLU	Mikrobiyoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	KATILMADI
Prof. Dr. Mehmet GÜL	Histoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	KATILMADI
Prof. Dr. Cemalettin AYDIN	Genel Cerrahi	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	KATILMADI
Prof. Dr. Hakan HARPUTLUOĞLU	Onkoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yılmaz TABEL	Çocuk Sağ. ve Hast.	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Saim YOLOĞLU
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bebeklik Döneminde Oral Mikroflorada Görülen <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Candida spp.</i> 'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması								
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017/105								
Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR	Farmakoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARATAŞ (raportör)	Tıp Tarihi ve Etik	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Sedat AKBAŞ	Anesteziyoloji Reanim.	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Necla DENİZ	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	KATILMADI
Abdullah DEMİREL	Hukuk	Serbest Avukat	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	KATILMADI
Hasan KONAN	Sivil Üye	MSD Ltd. Şti.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	KATILMADI

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Saim YCLOĞLU
İmza: 

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

EK 3. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kararı



T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye İlaç ve
Tıbbi Cihaz Kurumu

HİZMETE ÖZEL

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

NORMAL

Sayı : 93189304-514.99-E.21706
Konu : Klinik Araştırma [18-AKD-17]

01.02.2018

Sayın Yrd. Doç. Dr. Gülsüm DURUK
İnönü Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Abd.
MALATYA

İlgi : Kurum evrak kayıt 30.01.2018 tarihli ve E.30910 sayılı yazınız.

Bilindiği üzere, 3359 sayılı Sağlık Hizmetleri Temel Kanunu ek 10 uncu maddesi hükmüncü herhangi bir tedavi yöntemi veya araçlarının veyahut ruhsat veya izin alınmış olsa dahi ilaç ve terkiplerinin, tıbbi ve biyolojik ürünler, bitkisel ürünler, kozmetik ürünler ve hammaddeleri ile tıbbi cihazların bilimsel araştırma amacıyla insanlar üzerinde kullanılabilmesi için Sağlık Bakanlığı veya bağlı kuruluşlarından izin alınması gerekmektedir.

Yrd. Doç. Dr. Gülsüm DURUK sorumluluğunda yapılması planlanan "Yenidoğan oral mikroflorasmdastreptococcus mutans, lactobasillus candida kolonizasyonu ve bu bakterilerin ebeveynden geçişinin PFGE yöntemiyle belirlenmesi" başlıklı araştırma bahsi geçen kanun maddesi kapsamına girmediğinden sadece ilgili etik kurul onayı doğrultusunda yürütülebilir. Gönüllülerden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınması gerekmektedir.

Yazımızın bir örneğinin ilgili etik kurula iletilmesi hususunda bilginizi ve gereğini rica ederim.

Uzm. Ecz. Süheyla TAŞ
Kurum Başkanı a.
Daire Başkanı V.

Söğütözü Mahallesi, 2176.Sokak No:5 06520 Çankaya/ANKARA
Tel: (0 312) 218 30 00- Fax : (0 312) 218 34 60 www.titck.gov.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu uyarınca elektronik olarak imzalanmıştır. Doküman <http://ebs.titck.gov.tr/Basvuru/Elmza/Kontrol> adresinden kontrol edilebilir. Güvenli elektronik imza aslı ile aynıdır. Dokümanın doğrulama kodu : ak1US3k0SHY3ak1UZW56Z1AxZ1Ax

EK 4. Malatya İl Sağlık Müdürlüğü Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 16/05/2018-E.15353



T.C.
MALATYA VALİLİĞİ
İl Sağlık Müdürlüğü



Sayı : 92852811-771
Konu : Tez Çalışması

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE (Personel Daire Başkanlığı)

İlgi : 28/02/2018 tarihli ve 92852811-11014 sayılı yazınız.

İlgi sayılı yazınız ile, Üniversiteniz Diş Hekimliği Fakültesinde görevli Yrd. Doç. Dr. Gülsüm DURUK danışmanlığında, Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Ana Bilim Dalı Araştırma Görevlisi Zehra Beyza EREL tarafından; Müdürlüğümüze bağlı Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, "Yenidoğan Oral Mikrobiyasında Streptococcus Mutans, Laktobasillus, Candida Kolonizasyonu ve Bu Bakterilerin Ebeveynlerden Geçişinin PFGE Yöntemiyle Belirlenmesi" konulu tez çalışması yapılması talebiniz, Müdürlüğümüzce uygun görülmüştür.

Söz konusu tez çalışmasının, 09.05.2018 - 30.12.2018 tarihleri arasında, Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi yenidoğan servisinde, ekte göndermekte olduğumuz protokol hükümleri doğrultusunda yapılması hususunda,

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

e-İmzalıdır,
Doç. Dr. Recep BENTLİ
İl Sağlık Müdürü

EK:
Protokol

14 Mayıs 2018
Nesrin ÖNDER
V.H.K.I.

Malatya Kamu Hastaneleri Birliği
Faks No:4223245601

e-Posta:nesrin.kara@saqlik.gov.tr İnt Adresi: Malatya İl Sağlık Müdürlüğü Kanuni
Hastaneleri Başkanlığı Eğitim Birimi N. KARA kkt44.egitim@saqlik.gov.tr

Evrakın elektronik imzalı suretine <http://e-belge.saglik.gov.tr> adresinden e73923b4-00bd-4e51-8e3e-d7602892c8a7 kudu ile erişebilirsiniz.
Bu belge 5070 sayılı elektronik imza kanununa göre güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Bilgi için:Nesrin KARA
Unvan:EBE

Telefon No:4223245603 (1047)

EK 5. Etik Kurul Çalışma Merkezi Ekleme Kararı

MALATYA
KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURUL KARARI

Sayı: 2017/105

06.02.2019

Konu: Çalışma Merkezi Ekleme.

Sayın;

Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm DURUK
İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm DURUK'un yürütücüsü olduğu ve Kurulumuzdan 2017/105 protokol nosuyla onay alan "**Yenidoğan Oral Mikroflorasında Streptococcus Mutans, Lactobasillus, Candida Kanalizasyonu ve Bu Bakterilerin Ebeveynden Geçişinin Pfgc Yöntemiyle Belirlenmesi**" başlıklı çalışmasının çalışma merkezi olan İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesinde yeterli gönüllü sayısına ulaşamadığından geriye kalan hasta gönüllülerin Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesinde tamamlanmasını; Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunun Klinik Araştırmalar hakkındaki yönetmeliğine uygun olduğuna; oy birliğiyle karar verilmiştir.

Gereğini bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof. Dr. Saim YOLOĞLU
Etik Kurul Başkanı

Not: Eleştiriler ve öneriler Etik Kurul üyelerine aittir.

EK 6. Hasta Bilgilendirme ve Onam Formu

ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Araştırma projesinin adı:

Bebeklik Döneminde Oral Mikroflorada görülen *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.* 'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması

Araştırmanın yürütüleceği kuruluş:

İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

Sorumlu Araştırmacılar:

Dr.Öğr.Üyesi Gülsüm DURUK

Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL

Araştırmayı hazırlayan kuruluş: Bu araştırma İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı'nda görevli olan Dr.Öğr.Üyesi Gülsüm DURUK ve Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL tarafından hazırlanmıştır. Ayrıca bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

Amaç: Erken çocukluk çağı çürüğü (EÇÇ) kompleks biyofilm mikroorganizmaları ve karbonhidrattan zengin diyet, tükürük akışı ve içeriği, ağız bakımı yanı sıra, ailelerin sosyoekonomik seviyeleri ve eğitim düzeylerinden de etkilenen multifaktöryel bir hastalıktır. Günümüzde daha sık görülmekte ve aileler çocukları diş hekimine getirdiklerinde çok geç olmaktadır. Daimi dişler gelene kadar ağızda fonksiyonel ve estetik açıdan kalması gereken süt dişleri çok erken yaşlarda kaybedilmekte, bu durum hastada beslenme, konuşma bozukluklarına yol açmaktadır. EÇÇ'nin önemli etkenlerinden olan karyojenik mikroorganizmalar (diş çürüğüne neden olan bakteriler) çok erken yaşlarda ağız ortamında yerini almaktadır. Bu yüzden çocuklar doğumdan itibaren diş sürme dönemine kadar takip edilecek, karyojenik mikroflora görülme zamanı tespit edilerek bu kadar erken görülme sebepleri araştırılacaktır.

Bu araştırmanın amacı, bebeklerden doğumdan sonra düzenli olarak oral sürüntü örnekleri (kulak pamuğuyla bebeğin yanağından, dilinden, sürdüğü zaman dişinden), ailelerden de tükürük örnekleri olarak ağızda diş çürüğü yapan bakterilerin ne zaman görülmeye başladığını ve ailesel geçiş olup olmadığını değerlendirmektir

Bu araştırma, insan üzerindeki araştırmalarda, insan haklarını ve sağlığını korumak amacı ile Dünya Tıp Birliğince ilan edilmiş olan Helsinki Deklarasyonunun son şekline uygun olarak hazırlanmış ve Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayını almıştır.

Bu araştırma,

- İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi ve Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde doğmuş bebeklerle yapılmaktadır.
- Bebeklerin herhangi bir sistemik hastalığı olmamalıdır.

- Bebeğinizden ve sizden alınan örneklerde çürük yapan mikroorganizmalardan olan S. mutans, Lactobacillus spp ve Candida spp. araştırılacak ve bebeklerde ne zaman görüldükleri, ailelerinden geçiş olup olmadığı tespit edilmeye çalışılacaktır.

Araştırmada Kullanılacak Yöntem:

1. Bebeğiniz doğduktan sonra ilk 24 saat içerisinde ağızdan eküvyon çubuk (kulak pamuğu) yardımıyla örnek alınacaktır.
2. Bebeğinizin sağlık durumu ile ilgili size sorularak kayıtları tutulacak ve takiplerde görüşebilmek için iletişim bilgileriniz alınacaktır.
3. Bebeğiniz bir aylık olduğunda sizinle iletişime geçilecek ve tekrar görüşülerek bebeğinizin ağızdan tekrar örnek alınacaktır.
4. Bebeğinizin ilk dişleri sürdüğü dönemde son kez görüşülecek, bebeğinizin ağızdan, dişlerinden sürüntü örneği alınacaktır.
5. Son görüşmede anne ve babanın oral muayenesi yapılarak sonrasında steril toplama kaplarına tükürük örneği vermeleri istenecektir.

Araştırmaya katılmakla meydana gelebilecek yan etkiler ve olumsuzluklar:

Çocuğunuzdan alınacak sürüntü örneklerinden, sizden ve eşinizden alınacak tükürük örneklerinden hiçbir zarar beklenmemektedir.

Araştırma sürecinde dikkat edilmesi gereken konular:

Bebeğinizin takip sürecinde ağız içerisinde beklemediğimiz bir durum (pamukçuk, ilk üç ay diş çıkarması gibi) olduğunda size verilen iletişim numarasından Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL'e ulaşmanız gerekmektedir. Müdahale edilmesi gereken bir durum varsa İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde gerekli işlemler yapılacaktır.

Dişleri ağız içinde görülmeye başladığında aynı şekilde Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL'e ulaşarak bilgi vermeniz gerekmektedir.

Araştırmadan beklenen faydalar:

Bebeğin doğumundan itibaren takip edilerek çürük yapan mikroorganizmalarla karşılaşma zamanının ve bu mikroorganizmaların ailesel geçişinin bilinmesi önemlidir. Bu şekilde diş hekimleri çocukların ağız diş sağlığı için ne zaman, hangi önlemleri alabileceğini belirleyebilir ve dişler çürümeden koruyucu önlemler çok daha erken yaşlarda alınmış olur.

Gizlilik: Araştırmaya katılan bireylerin isimleri gizli tutulacak ve kendi rızası olmadan açıklanmayacaktır.

Bu araştırmaya siz, eşiniz ve bebeğiniz katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL tarafından bebeğiniz muayene edilecek ve bilgileriniz kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığımız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve çalışma kapsamı dışında kalmanız İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir. Herhangi bir durumda iletişime geçebileceğiniz iletişim bilgileri aşağıda verilmiştir.

Dr.Öğr.Üyesi Gülsüm DURUK

Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL

Telefon: 0 422 341 11 00 (6200)

Adres: İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

Battalgazi, Malatya



ONAM FORMU

Proje adı:

Bebeklik Döneminde Oral Mikroflorada görülen *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.*'nin Kolonizasyonunun ve Ebeveynden Bebeğe Geçişinin Araştırılması

Sayın Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL tarafından İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda adı geçen proje için tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra bu araştırmaya "katılımcı" olarak ben, eşim ve çocuğum davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsak hekim ile aramda kalması gereken bana ve aile üyelerime ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimizin özenle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı Araştırma Projesi Bilgilendirme yazısını okudum ve anladım. Sorularına Arş.Gör.Dt. Zehra Beyza EREL tarafından beni tatmin eden cevaplar verildi. Adı geçen projeye kendi rızam ile hiçbir baskı altında kalmadan katılmayı kabul ediyorum. Araştırma için çocuğumun araştırmada kullanılacak bilgilerinin hekim tarafından kaydedilip, bilimsel amaçlı kullanılmasına izin veriyorum. İstedğim anda çalışmadan çıkabileceğimi ve bunun normal tedavi sürecini etkilemeyeceğini biliyorum.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

EK 7. Anket Formu

Adı soyadı:

Cinsiyeti:

Doğum şekli:

Bebegin doğum kilosu:

Doğum tarihi / / Saat:

Sürüntü alma zamanı:

Sürüntü alınmadan önce anne/babayla temas etti mi? : Evet Hayır

Doğum sırasında ya da sonrasında antibiyotik kullanıldı mı? Evet Hayır

Annenin hamilelikte geçirdiği ateşli hastalık var mı?

Anne hamilelikte antibiyotik kullandı mı?

Annenin yaşı:

Telefon numarası :

	1. ay kontrol	İlk diş sürmesi kontrol
Tarih ve saat bilgileri		
Anne babanın bebeği ağızdan öpme alışkanlığı var mı? Ne zamandır var?		
Beslenme şekli		
Anne sütü alma sıklığı		
Bebeye emzik verilmeden önce aileden biri emziği kendi ağzına götürüyor mu? Emziği tatlandırıyor mu?		
Bakteriyel ya da viral enfeksiyon geçirdi mi?		
Antibiyotik kullandı mı?		

Diş çıkarma zamanı:

Diş çıkarırken görülen semptomlar:

Diş kaşıyıcı kullandı mı? Calgel, Dentinox gibi jeller kullandı mı?:

Bebeginizin dişleri sürdükten sonra dişlerini temizlediniz mi, nasıl temizlediniz?

EK 8. Ebeveynlerin Muayene ve Anket Formu

Adı soyadı:

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Ağızdaki diş sayısı (T): _____

Dolgulu diş sayısı (F): _____

DMF-T: _____

Kaybedilmiş diş sayısı (M): _____

Çürük diş sayısı (D): _____

Protez kullanıyor mu?

Sabit Hareketli protez Hayır

Günlük diş fırçalama sıklığı:

Günde 1 Günde 2 Fırçalamaz

Eğitim seviyesi:

Mesleği: