

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**YENİDOĞANLARIN VE ANNELERİNİN ORAL
MİKROFLORALARININ İNCELENMESİ VE
BİRBİRLERİYLE OLAN ETKİLEŞİMLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Cansu AY

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ

2019-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

YENİDOĞANLARIN VE ANNELERİNİN ORAL
MİKROFLORALARININ İNCELENMESİ VE
BİRBİRLERİYLE OLAN ETKİLEŞİMLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Cansu AY

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TDH-2018-3247 proje numarası ile desteklenmiştir.

2019-ANTALYA

ONAY SAYFASI

Cansu AY tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından ~~oy birliği/oy çokluğu~~ ile Pedodonti Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir. 13/06/2019

İmza

Üye : Prof. Dr. Aysun AVŞAR
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ
(Akdeniz Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Özge GÜNGÖR
(Akdeniz Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi)

Bu tez, 15/05/2019 tarih ve 20/81 sayılı Yönetim Kurulu kararıyla belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi

Kurum Yöneticisi

Prof. Dr. Alper KUZUARCI
Dekan

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Aday
Dr. Cansu AY
İmza

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ
İmza

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin hazırlanmasında bana her konuda yardımcı olan, sonsuz bilgi birikimi ve deneyimlerini benimle her daim paylaşan, sevgisini, desteğini, hoşgörüsünü her zaman yanımda hissettiğim, öğrencisi olmaktan dolayı kendimi şanslı hissettiğim, çok değerli tez danışman hocam Hüseyin KARAYILMAZ'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca kendilerinden çok şey öğrendiğim, her konuda bilgi birikimlerini, tecrübelerini ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen çok kıymetli hocalarım Doç. Dr. Özge GÜNGÖR ve Dr. Öğr. Üyesi Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ'ye,

Tezimin hazırlanmasında emeği geçen saygıdeğer hocam, yenidoğan ve çocuk sağlığı uzmanı Prof. Dr. Mustafa AKÇAKUŞ'a

Saygıdeğer jüri hocam Prof. Dr. Aysun AVŞAR'a,

Tezimin önemli bir kısmı olan yenidoğan hastalarına ulaşmamı sağlayan ve beni her daim güler yüzüyle karşılayan çok değerli Hasibe KARAYILMAZ ve Fatma ÇALIŞKAN'a,

Tez çalışmama maddi destek sağlayan, AÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Tezimin mikrobiyolojik değerlendirmelerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Krosgen Biyoteknoloji Moleküler Genetik Ar-Ge Laboratuvarı'nın tüm çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, mezun olan ve eğitimi devam eden çok değerli, sevgili asistan arkadaşlarım ve tüm Pedodonti Anabilim Dalı personeline,

Tüm hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan çekinmeden her anımda yanımda olan canım aileme tüm kalbimle sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı, yenidoğanların ve annelerinin oral mikroflorlarının, *S. mutans* ve laktobasil varlığı açısından değerlendirilmesi ve birbirleriyle olan etkileşimlerinin incelenmesidir.

Yöntem: Çalışmamıza, doğumu üzerinden 48 saatten fazla geçmemiş olan, 60 yenidoğan ve annesinden tükürük örneği alınarak başlanmıştır. Çalışmamızın 6. ay takipleri, kayıp 20 hasta nedeniyle, 40 hasta ile yapılmıştır. 40 anne-bebek çiftinden, 6. ayda tekrar tükürük örneği alınarak, anne ve bebeklerin her iki aşamadaki *S. mutans* ve laktobasil miktarları belirlenmiştir. Tükürükteki *S. mutans* ve laktobasil miktarlarını belirlemek için qRT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Birinci aşama ve ikinci aşamada elde edilen *S. mutans* ve laktobasil miktarları anne ve bebekler arasında karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bebeğin doğum şekli, doğum zamanı vb. bebeğe ait faktörler ve annenin oral hijyen alışkanlıkları, DMFT indeksi vb. gibi anneye ait faktörlerin bebek *S. mutans* ve laktobasil miktarları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Bulgular: Bebek ve annelerin her iki aşamada toplanan tükürük örneklerinden elde edilen *S. mutans* ve laktobasil sayıları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bebeklerin ikinci aşamada toplanan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayılarının, birinci aşamadakilere göre anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bebeklerin, altıncı ay kontrollerinde yapılan muayenelerinde, 16 bebekte sürmüş diş olduğu görülmüştür. Yapılan değerlendirmelerde sürmüş diş varlığıyla *S. mutans* ve laktobasil sayısındaki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Annelerin sosyodemografik özellikleri ile bebeklerin *S. mutans* sayıları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca, bebeklerin doğum şekli, doğum ağırlığı gibi bulgularının da *S. mutans* ve laktobasillerin oral kolonizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Sonuç: Çürük yapıcı bakteriler olan *S. mutans* ve laktobasillerin, bebeklerde çok erken dönemde kolonize olmaları mümkündür. Çocuk diş hekimliğinde koruyucu uygulamalar kapsamındaki ağız sağlığı ve oral hijyen eğitimleri, annelerin hamilelik dönemi itibarıyla başlamalıdır. Ayrıca çocuklarda, ilk çocuk diş hekimi muayenesi, ilk diş sürmesini takiben başlamalı ve düzenli kontroller ile takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: yenidoğan, *s. mutans*, laktobasil, real-time PCR

ABSTRACT

Objective: The aim of our study was to evaluate the oral microflora of newborns and their mothers in terms of the presence of *S. mutans* and lactobacilli and to investigate their interactions with each other.

Method: Our study was started by taking the saliva sample from 60 babies and their mothers who did not exceed 48 hours from birth. The 6th month follow up period 20 patients were excluded from the study. The saliva samples were taken from 40 mothers and their babies again at 6th month and they were determined the amount of *S. mutans* and lactobacilli in both stages of this study. qRT-PCR method was used to determine the amount of *S. mutans* and lactobacilli in saliva. *S. mutans* and lactobacilli levels obtained in the first stage and in the second stage were compared between mothers and babies. In addition, factors such as delivery method, birth time etc. and maternal oral hygiene habits, DMFT index, etc. were evaluated for the effects of infants on *S. mutans* and lactobacilli levels.

Results: A significant difference was found between the numbers of *S. mutans* and lactobacilli obtained from saliva samples collected in both stages of infants and mothers ($p < 0.05$). It was detected that the number of *S. mutans* and lactobacilli in the saliva samples collected in the second stage of infants increased significantly compared to those in the first stage ($p < 0.05$). In the intraoral examination of the babies during the sixth month follow-up, it was observed that 16 of the infants had erupted tooth. There was a statistically significant relationship between the presence of tooth and the increase in *S. mutans* and lactobacilli in the evaluations. There was no significant relationship between sociodemographic characteristics of mothers and *S. mutans* of infants ($p > 0,05$). Furthermore, no significant relationship was found between the baby's factors such as delivery type, birth weight etc., and oral colonization of *S. mutans* and lactobacilli.

Conclusion: *S. mutans* and lactobacilli, which cause caries lesion, can colonize very early period in infants. Oral health and oral hygiene trainings within the scope of protective practices in pediatric dentistry should start as of mothers' pregnancy. In addition, for children, the first child dentist examination, should start following the first tooth emerge and should be followed with regular controls.

Key words: newborn, *s. mutans*, laktobasil, real-time PCR

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Çürüğü	3
2.2. Enfektivite Penceresi	5
2.3. Erken Çocukluk Çağı Çürüğü (EÇÇ)	6
2.4. Yenidoğan Ağız Florası	6
2.5. EÇÇ Risk Faktörleri	7
2.5.1. Diyet	8
2.5.2. Çevresel Faktörler	9
2.5.3. Mikrobiyolojik Faktörler	9
2.6. Oral Streptokoklar	10
2.6.1. Mutans Grubu Streptokoklar	11
2.6.1.1. Streptokokkus Mutans	12
2.7. Laktobasiller	12
2.8. Oral Mikroorganizmaların Bebeğe Geçişi	13
2.9. Oral Mikrobiyom Karakterizasyonunda Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler	14
2.9.1. Geleneksel Kültür Ortamında Bakteri Tanımlama Yöntemi	15
2.9.2. Moleküler Bazlı Bakteri Tanımlama Yöntemleri	16
2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	18
2.10.1. Konvansiyonel PCR	21
2.10.2. “Arbitrarily Primed” PCR (Rastgele başlatıcılı PCR/AP-PCR)	21
2.10.3. Gerçek Zamanlı PCR (“Real Time” PCR / qRT-PCR)	22
2.10.3.1 “SYBR Green I” Boyaları	24
2.11. Yenidoğan ile ilgili bazı tanımlar	26

3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Etik Kurul Onayı ve Gerekli Resmi İzinler	27
3.2. Örneklem Seçimi	27
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	27
3.4. Birinci Bölüm: Anne ve Bebeklerin Başlangıç Ağız İçi Muayenelerinin Yapılması, Örneklerin Toplanması ve Saklanması	28
3.5. Laboratuvar İşlemleri	29
3.5.1. Örneklerden DNA İzolatlarının Elde Edilmesi	30
3.5.2. Elde Edilen DNA İzolatlarının Real-Time PCR İşlemine Tabi Tutulması	30
3.6. İkinci Bölüm: Altıncı Ay Kontrol Örneklerinin Toplanması, Saklanması ve Çalışmanın Sonlandırılması	36
3.7. Sonuçların İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1. Birinci Bölüm: Çalışma Başlangıcında 60 Anne ve Bebekten Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi	39
4.1.1. Çalışmaya Katılan Annelerin Sosyodemografik Özelliklerinin ve DMFT'lerinin Değerlendirilmesi	39
4.1.1.1. Annelerin Tükürük Örneklerinden Elde Edilen S. mutans ve Laktobasil DNA kopyası Miktarlarının Değerlendirilmesi	41
4.1.2. Çalışmaya Dahil Edilen Bebeklerin Genel Bulgularının Değerlendirilmesi	43
4.1.2.1. Bebeklerin Tükürük Örneklerinden Elde Edilen S. mutans ve Laktobasil DNA kopyası Miktarlarının Bebeklerin Genel Bulgularına Göre Değerlendirilmesi	44
4.1.2.2. Bebeklerin S. mutans ve Laktobasil Miktarlarının Annelerinin Sosyodemografik ve DMFT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi	47
4.2. İkinci Bölüm: Altıncı Ay Kontrolleri Yapılan 40 Anne ve Bebekten Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi	47
4.2.1. Anne ve Bebeklerin Sosyodemografik Özellikleri ve Doğuma Ait Bulguların Tekrar Değerlendirilmesi	47

4.2.2. Kırk Anne ve Bebekten Birinci Bölümde Toplanan Tükürük Örneklerindeki S. mutans ve Laktobasil Sayılarının Tekrar Değerlendirilmesi	48
4.2.3. Anne ve Bebeklerinin Altıncı Ay Kontrollerine Ait Bulgularının Değerlendirilmesi	51
4.2.4. Anne ve Bebeklerin Altıncı Ayda Alınan Tükürük Örneklerindeki S. mutans ve Laktobasil Sayılarının Anneye Ait Faktörlere Göre Değerlendirilmesi	54
4.2.5. Bebeklerin Altıncı Ayda Alınan Tükürük Örneklerindeki S. mutans ve Laktobasil Sayılarının Bebeklere Ait Faktörlere Göre Değerlendirilmesi	56
4.2.6. Birinci ve İkinci Bölümde Anne ve Bebeklerden Elde Edilen Bulguların Karşılaştırılması	58
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
KAYNAKLAR	73
EKLER	80
EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi	80
EK-2 Akdeniz Üniversitesi Hastane Başmüdürlüğü İzin Belgesi	81
ÖZGEÇMİŞ	83

SİMGELER ve KISALTMALAR

A	Adenin
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AP-PCR	Rastgele Başlatıcılı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
bp	Baz çifti
C	Sitozin
Ca ⁺²	Kalsiyum iyonu
cDNA	Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit
C _q	Eşik döngü sayısı
C _t	Eşik döngü sayısı
DDA	Düşük Doğum Ağırlıklı
dk	Dakika
DMFT	Daimi dişler için çürüklü, dolgulu, kayıp diş sayısı
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
dsDNA	Double stranded (çift zincirli) deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
E	Reaksiyonun verimliliği
EÇÇ	Erken çocukluk çağı çürüğü
EPS	Ekstrasellüler polisakkarit
FDI	Fédération Dentaire Internationale
FISH	Floresan in situ hibridizasyon tekniği
G	Guanin
gr	Gram
M	Molarite
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mL	Mililitre
MS	Mutans Streptokoklar
nm	Nanometre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	Power of Hydrogen
PO ₄ ⁻⁴	Fosfat iyonu
qRT-PCR	Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

r^2	Belirlilik katsayısı
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal Ribonükleik asit
S.	Streptokokkus
T	Timin
α	Alfa
β	Beta
μl	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	Derece Santigrat



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Çürük oluşum modeli	3
Şekil 2.2. Çok faktörlü çürük oluşum şeması	4
Şekil 2.3. EÇÇ risk faktörleri	8
Şekil 2.4. Mikrobiyolojik araştırma metotlarındaki gelişim	15
Şekil 2.5a. “SYBR Green I” boyası	24
Şekil 2.5b. “SYBR Green I” bilgisayar verisi	25
Şekil 3.1. Örnek toplama çubuğu ve saklama tüpleri “eSwab, Copan, Italy”	29
Şekil 3.2. Örneklerin dik konumda muhafaza edilmesi	29
Şekil 3.3. Bakteri İzolasyon Kiti (Bacterial DNA Isolation Kit AMBRD Laboratories, İstanbul)	30
Şekil 3.4a. PCR cihazı “LightCycler Nano Real-Time” (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)	31
Şekil 3.4b. Çalışmada kullanılan 8 şeritli PCR tüpleri “LightCycler 8-Tube Strips (clear)” (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)	31
Şekil 3.5. “SensiFAST Probe No-ROX Kit (Bioline, England)	32
Şekil 3.6. Tüplerin cihaz içindeki görüntüsü	33
Şekil 3.7a. S. mutans için oluşturulan standart eğri ve değerler	34
Şekil 3.7b. Laktobasil türleri için oluşturulan standart eğri ve değerler	34
Şekil 3.8a. S. mutans için sonuç ekran görüntüsü	35
Şekil 3.8b. Laktobasil türleri için sonuç ekran görüntüsü	35
Şekil 3.9. Çalışmamızın ikinci bölümünde çalışma dışı kalan toplam 20 anne ve bebek çiftinin dağılımı	36
Şekil 3.10. Bebeğe 6. ay kontrol muayenesi ve tükürük örneği alımı	38
Şekil 4.1. Annelerin yaş gruplarına göre dağılımları	40
Şekil 4.2. Annelerin eğitim durumlarına göre dağılımları	40
Şekil 4.3. Annelerin diş fırçalama sıklıklarına göre dağılımları	40
Şekil 4.4. Annelerin DMFT aralıklarına göre dağılımları	41
Şekil 4.5. Yenidoğanların doğum şekline göre dağılımı	43
Şekil 4.6. Yenidoğanların örnek alınma zamanına göre dağılımı	44

Şekil 4.7. S. mutans ve Laktobasil tespit edilen ve edilemeyen bebeklerin sayısı	45
Şekil 4.8. Kontrol aşamasında dahil edilen annelerin oral hijyen sıklıklarındaki değişim	51
Şekil 4.9. Bebeklerin sürmüş diş varlığına göre dağılımları	52
Şekil 4.10. Bebeklerin oral hijyen uygulanma sıklıklarına göre dağılımı	52
Şekil 4.11. Bebeklerin biberon, emzik kullanımı ve şekerli gıda tüketimine göre dağılımı	53



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Oral Streptokoklar ve alt türlerinden bazıları	11
Tablo 2.2. Mutans Streptokok türleri ve orijinleri	11
Tablo 3.1. Çalışmaya dahil edilen bebeklerin gruplara göre dağılımı	27
Tablo 3.2. Real Time PCR içeriği	33
Tablo 3.3. qRT-PCR aşamaları, sıcaklık dereceleri ve süreleri	36
Tablo 4.1. Anne ve bebek <i>S. mutans</i> ve laktobasil miktarlarının anne ile ilgili faktörlere göre dağılımı	42
Tablo 4.2. Bebek <i>S. mutans</i> ve laktobasil miktarlarının gruplara göre dağılımı	46
Tablo 4.3. Altıncı ay kontrolleri yapılan 40 anne ve bebekteki <i>S. mutans</i> ve laktobasil miktarlarının anne ile ilgili gruplara göre dağılımı	49
Tablo 4.4. Altıncı ay kontrolleri yapılabilen 40 bebeğin ilk ve 6. Ay <i>S. mutans</i> ve laktobasil miktarlarının bebeklere ait doğum anındaki bulgulara göre değerlendirilmesi	50
Tablo 4.5. Anne ve bebeğin tükürük örneklerindeki <i>S. Mutans</i> ve laktobasil sayılarının annelerin altıncı ay verilerine göre dağılımı	55
Tablo 4.6. Bebeklerin altıncı ay verilerine göre, tükürüklerindeki <i>S. mutans</i> ve laktobasil sayılarının dağılımı	57
Tablo 4.7. Birinci ve ikinci bölümde elde edilen <i>S. mutans</i> ve laktobasil miktarlarının karşılaştırılması	58

1. GİRİŞ

Diş çürükleri insanlarda sıklıkla gözlenen bakteriyel bir enfeksiyondur.⁽¹⁾ Gelişmiş ülkelerde son yıllarda, çürük prevalansında ve insidansında bir azalma olduğu gözlenmektedir. Ancak, geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde ise, çürük insidansında bir artış olduğu ve buna bağlı olarak da diş çürüğünün hala önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu görülmektedir.⁽²⁾ Diş çürüğünün oluşumunda, fermente olabilen karbonhidratlar, karyojenik mikroorganizmalar, diş yüzeyi ve zaman faktörlerinin bir araya gelişi sorumlu tutulmaktadır.^(3, 4) Diş hekimliği ve genetik mikrobiyoloji alanındaki ilerlemeler bu hastalığın başlamadan önlenmesine yönelik çalışmaları da beraberinde getirmiştir.⁽⁵⁻⁷⁾

Erken çocukluk çürüğünün (EÇÇ) başlıca risk faktörleri; düşük sosyoekonomik statü, düşük doğum ağırlığı (DDA), göçmen veya azınlık olma durumu ve anneden bebeğe mikropların aktarımıdır.⁽⁸⁾ Bebeğin EÇÇ riskinin şekillenmesinde anne anahtar rol oynamaktadır. Çünkü karyojenik bakterilerin çocuğa ilk geçiş yolu maternaldir (anne kaynaklıdır).⁽⁹⁾

Streptokokkus Mutans (*S. mutans*) ve laktobasiller diş çürüğünün başlaması ve ilerlemesinden başlıca sorumlu olan bakterilerdir.⁽¹⁾ Süt dişlerinin sürme dönemiyle örtüşen ilk 2 yıllık dönemdeki enfektivite penceresi, küçük çocukların *S. mutans*'a çoğunlukla yakalandıkları dönemdir.⁽¹⁰⁾ Yenidoğanlarda diş sürene kadar bu bakterilere rastlanmadığı düşünülse de, gelişmekte olan mikrobiyoloji ve genetik bilimi sayesinde, 3 aylık bir bebekte de *S. mutans* varlığı saptanabildiği bildirilmektedir.⁽⁶⁾

Çürük yapıcı bakterilerin, bebeğe geçişinden birinci sorumlu kişinin anneleri olduğu düşünülmektedir. Tükürüğünde fazla miktarda *S. mutans* bulunan annelerin bebeklerine *S. mutans* geçişinin kolay olduğu öne sürülmektedir. Birincil bakıcılar olarak kabul edilen anneden, bebeğine bakteriyel aktarım olması vertikal geçiş olarak adlandırılmaktadır.^(10, 11) Bazı araştırmacılar *S. mutans* ve laktobasil türlerinin geçişinden yalnızca annelerin sorumlu olmadığını ve çocuğun yakın çevresinde bulunan diğer kişilerden de bakteri aktarımının olabileceğini öne sürmüşlerdir. Anne dışında, baba, kardeşler, okula giden çocuklar için öğretmen, sınıf arkadaşları gibi pek

çok kişinin de bakteri geçişini etkilediği bildirilmiştir. Anneden başka, yakın çevredeki insanlardan bebeğe bakteri geçişi horizontal geçiş olarak adlandırılmıştır.^(8, 11)

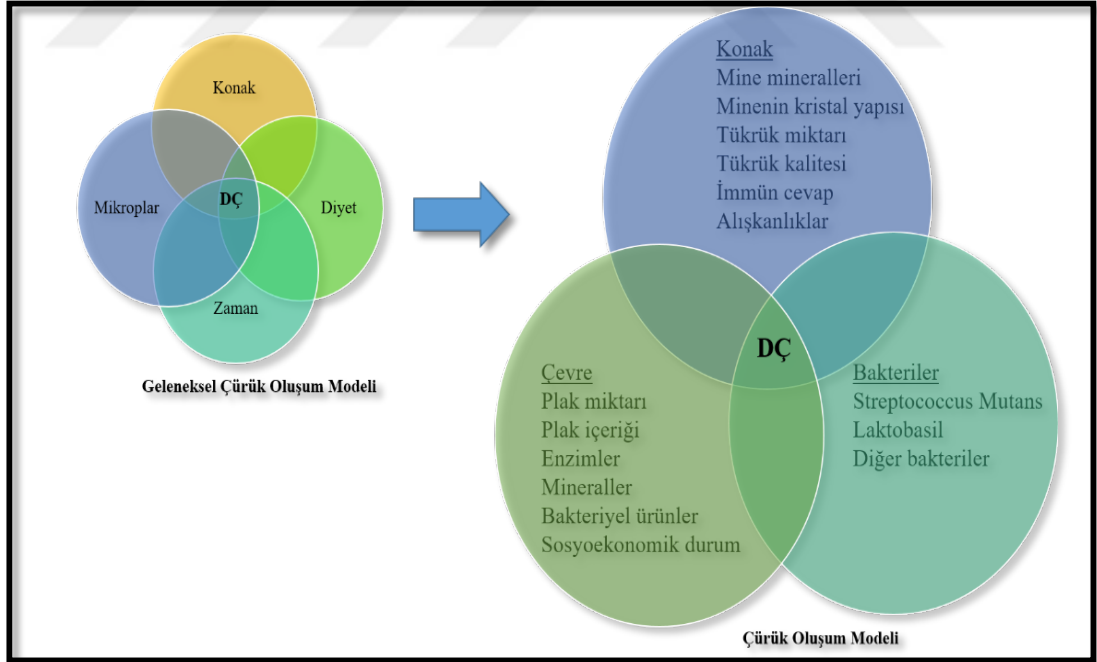
Oral patojenlerin varlığını test etmek için günümüzde kullanılan iki temel teknik bakteriyel kültür ve deoksiribonükleik asit (DNA) hibridizasyonudur. Bakteriyel kültür sisteminin bizim için en büyük dezavantajı, küçük miktarlarda toplayabildiğimiz örneklerde, spesifik bir mikroorganizmayı tespit etmede yetersiz kalmasıdır. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için genetik mikrobiyoloji araştırmalarına ağırlık verilmeye başlanmıştır.⁽¹²⁾

Çalışmamızın amacı, yenidoğanların ve annelerinin oral mikrofloralarının, *S. mutans* ve laktobasil varlığı açısından değerlendirilmesi ve birbirleriyle olan etkileşimlerinin incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Çürüğü

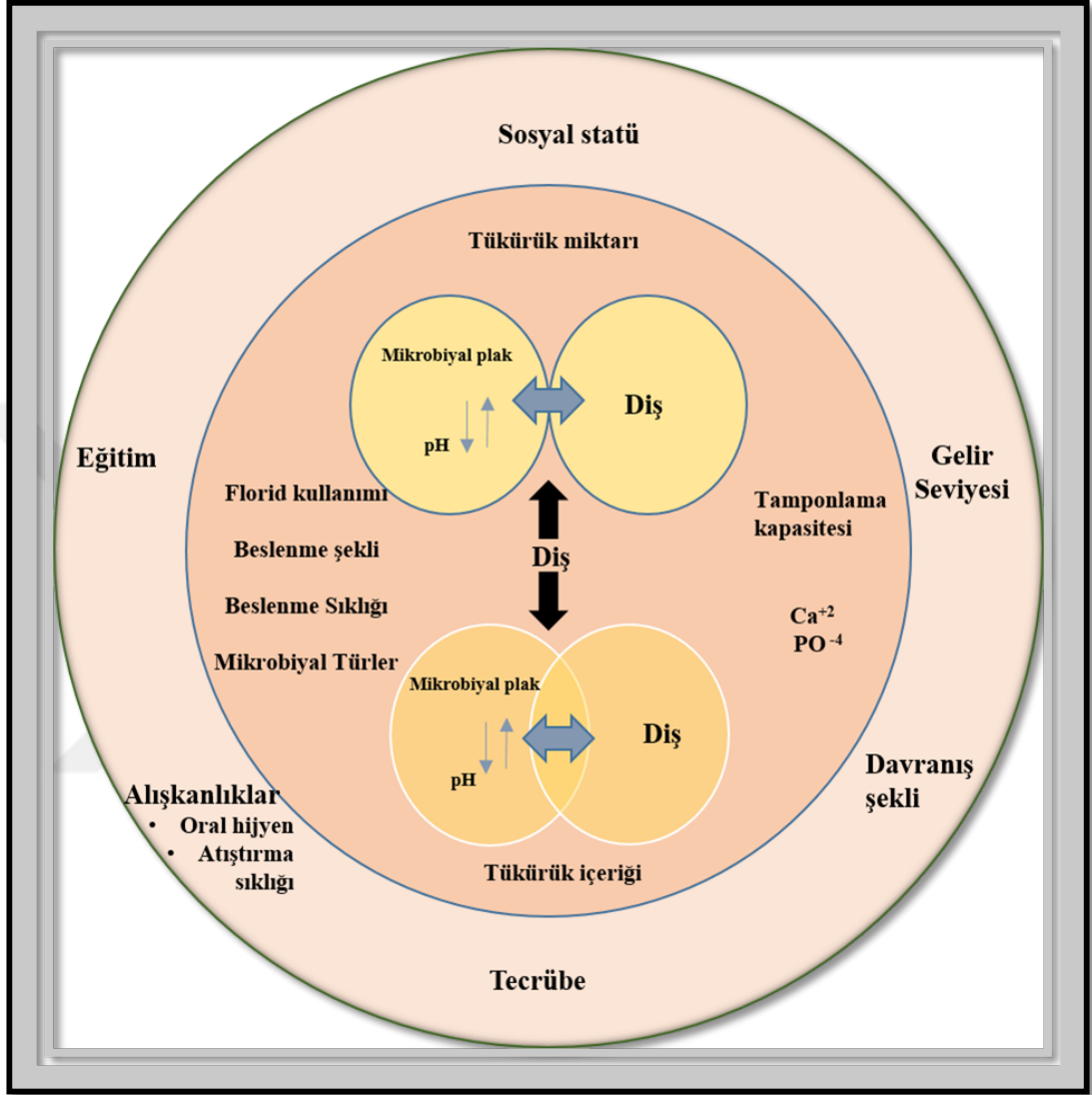
Diş çürüğü, tüm popülasyonlarda var olup, insanlık tarihi kadar eski bir geçmişe sahiptir. Diş çürüklerinin oluşumuyla ilgili geçmişten günümüze pek çok teori geliştirilmiştir. Güncel teoriye göre diş çürüğü dinamik bir süreçtir ve diş yüzeyini kaplayan mikrobiyal biyofilmde, herhangi bir zaman diliminde, karyojenik bakterilerin metabolik aktiviteleri sonucu meydana gelen kimyasal bir çözünmedir. Bu dinamik süreçte, dental plak (bakteri), diyet (karbonhidrat) ve konak (diş) bir arada bulunmaktadır.^(1, 13) Plak ve diyet faktörleri, hasarın görülebilmesi için birbirleriyle etkileşimde olmalıdır ve konak faktörü de bu etkileşimin platformunu oluşturur. Konak ve diyetle alınan karbonhidratın plaktaki karyojenik mikroplarla etkileşimi ne kadar uzun olursa, oluşan asitin diş üzerindeki yıkıcı etkisi de o denli zararlı olur. Dört ana faktörden oluşan geleneksel diş çürüğü oluşumu modeli ve çok sayıdaki alt faktörlerin de dahil edilmesiyle oluşturulan diş çürüğü oluşumu modeli şekil 2.1 de gösterilmiştir.⁽¹⁴⁾



Şekil 2.1 Çürük oluşum modeli⁽¹⁴⁾

Kişilerin çürük riski, risk faktörlerinin değişkenliğine bağlı olarak zaman içerisinde değişebilmektedir. Tükürük yapısı, sahip olunan karyojenik bakteri miktarı, diş eti çekilmesi, bağışıklık sistemi bileşenleri gibi fizyolojik, biyolojik ve genetik pek çok

faktör, bireyler arasında ve aynı bireyde zamanla farklılık gösterebilmektedir. Bu da diş çürüğü oluşumunun basit bileşenlerle açıklanamayacağını göstermiş ve tüm bu faktörlerin eklendiği yeni bir şema tasarlanmıştır (Şekil 2.2).⁽¹⁵⁾



Şekil 2.2 Çok faktörlü çürük oluşum şeması

Diş çürüğü dünya genelinde özellikle geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde, bir halk sağlığı problemi olmayı hala sürdürmektedir. Tüm bu faktörler, doğumdan itibaren çürük oluşumu için risk faktörü oluşturmaktadır. Çürük oluşumu ve ilerlemesinden başlıca sorumlu bakteriler olan *S. mutans* ve laktobasillerin, kolonizasyonu ne kadar erken yaşta olursa, bireyin risk faktörü de o kadar yüksek olmaktadır. Yapılan araştırmalar *S. mutans*'in vertikal ve horizontal geçiş göstererek dişsiz bir bebeğin ağızında da kolonize olabildiğini göstermiştir.^(10, 11)

2.2. Enfektivite Penceresi

Çocuklarda dental biyofilm gelişimi ve olgunlaşmasının tam zamanı tespit edilemediği gibi, *S. mutans*'ın da ilk kolonizasyon zamanı tam olarak belirlenememiştir. Pek çok çalışma, süt dişlerinin ağızda görülmeye başladığı zaman olan 6 ay ile sürmelerini tamamladıkları 3 yaş aralığındaki herhangi bir zaman diliminde, *S. mutans* kolonizasyonunun gerçekleşebileceğini öne sürmektedir.^(6, 9, 16) *S. mutans* kolonizasyonu açısından en kritik zamanın 26. ay olduğu saptanmıştır. Ancak bu zamanın bireyler arası değişiklik gösterebileceği düşünülerek yapılan hesaplamalarla 19-31. aylar arası için “birinci enfektivite penceresi dönemi” tanımı yapılmıştır.⁽¹⁰⁾

Yenidoğanların, *S. mutans*'ın tutunup kolonize olabileceği diş benzeri, sert ve düz yüzeylere sahip olmamaları nedeniyle, dişler sürene kadarki dönemde bu bakteriler tarafından zarara uğramadıkları düşünülmektedir.⁽¹⁰⁾ Ancak *S. mutans*'ın 10 aylıktan daha genç, hatta dişsiz dönemdeki bebeklerde de bulunduğu bildirilmiş olup, bu sonuçlara göre enfektivite penceresinin daha geniş bir dönemi kapsadığı öne sürülmüştür.⁽¹⁷⁾ Ağızda yeni görülmeye başlanan dişler, bu bakteriler için temiz alanlar barındırmaktadır. Diş yüzeyi gibi bütünlüğünü koruyan (pul pul dökülme ve sürekli yenilenme özelliği sergilemeyen) temiz alanların, *S. mutans*'ın oral florada yapışması ve erken kolonize olması için başka bakterilerle yarışma zorunluluğunu ortadan kaldırdığı ve böylece oral florada daha fazla kolonize olmasının kolaylaştığı bildirilmiştir.⁽¹⁰⁾ Buna ek olarak, bazı yayınlarda, *S. mutans* maruziyetinin ne kadar erken yaşta olursa, diş çürüğü riskinin de doğru orantılı olarak arttığı öne sürülmüştür.^(16, 18)

Son süt dişinin çıktığı ve ilk daimi dişin sürdüğü dönemi temsil eden 2 ile 6 yaş arası çocuklarda, diş sürmesi bakımından ağız içi hareketlilik göreceli olarak dengede olduğu için, *S. mutans* ile enfekte olma duyarlılığı yatay bir seyir gösterir. İlk enfektivite penceresi döneminden kaçmayı başaran çocukların, daimi azı dişleri sürüncüye kadar, *S. mutans* kolonizasyonuna maruz kalmayacağını öne süren yazarlar mevcuttur.⁽¹⁰⁾ Bu durum beraberinde “ikinci enfektivite penceresi” dönemi tanımını getirmiştir. İlk daimi dişin ağızda görülmeye başladığı dönem ile ikinci daimi büyük azı dişlerinin sürmesini tamamladığı dönem arasını temsil eden 6 ile 12 yaş arası için yazarlar “ikinci enfektivite penceresi” tanımı yapılmıştır.^(10, 19)

2.3. Erken Çocukluk Çağı Çürüğü (EÇÇ)

Yaşça daha büyük çocuklarla kıyaslandıklarında, 12-30 ay aralığındaki çocuklar farklı çürük modeline sahiptirler. Bu dönemde süt dişleri, sürmelerini takiben hızla çürümeye başlarlar ve genellikle çürük riski düşük olan maksiller süt kesici dişlerinin bukkal bölgelerinde çürükler görülmektedir. Bu tip çürükler, öncelikle biberon çürüğü (“nursing caries”, “night bottle mouth”) olarak isimlendirilmiştir.⁽²⁰⁾ Ancak kullanılan bu terimler, küçük çocuklarda çürük oluşumunun sadece tek nedeninin uygunsuz biberon kullanımı olduğunu düşündürmüş ve yapılan araştırmalarla daha kompleks bir etiyolojiye sahip olduğu anlaşılan, okul öncesi çocuklar ve bebeklerde görülen bu çürükler için EÇÇ terimi daha uygun görülmüştür.^(8, 20) EÇÇ, 6 yaşından küçük olan bir çocukta, birden fazla sayıda başlangıç veya ileri aşamada çürük varlığı, herhangi bir süt dışında dolgu mevcudiyeti, çürüğe bağlı süt dişi kaybı görülmesi olarak tanımlanmaktadır. Fakat güncel tanımlamaya göre ise küçük çocuklarda görülen tüm çürük tipleri için EÇÇ terimi kullanılmaktadır.^(17, 20)

EÇÇ, bebekler ve küçük çocuklar arasında görülen ve bir sağlık kurumuna başvurulmasına sebep olan en yaygın sağlık problemidir. Bu yaştaki çocukların diş çekimi veya restoratif tedavileri için sıklıkla genel anestezi uygulanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.⁽¹⁷⁾ Yapılan tedavilere rağmen, EÇÇ hikayesi bulunan çocukların süt ve daimi dişlerinde çürük görülme riski de oldukça yüksektir.⁽²¹⁾ EÇÇ’li çocuklardan izole edilen *S. mutans* ve laktobasiller, hastalığın başlangıç ve ilerlemesinden birinci derecede sorumlu bakteriler olarak belirtilmiştir. Genel görüş ise, bu bakterilerin bebeklerin oral florasına geçişinden birinci derecede sorumlu olan faktörün, anneden veya birincil bakıcıdan aktarım olduğu yönündedir.^(1, 21)

2.4. Yenidoğan Ağız Florası

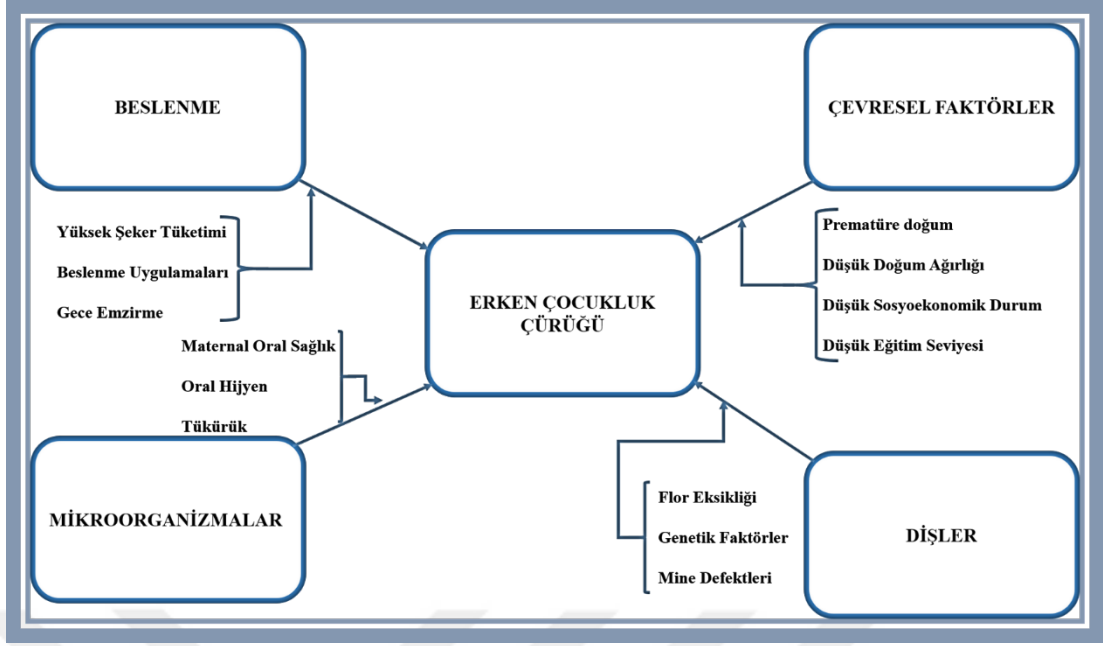
Oral kavitenin doğası yaşla birlikte sürekli bir değişim halindedir ve buna bağlı olarak mikrobiyal florası da değişim göstermektedir. Bir bebeğin yaşamının ilk iki ayında, bakteriyel kolonizasyon yalnızca mukozal yüzeylerde meydana gelmektedir. Süt dişlerinin sürmesini takiben ortaya çıkan diş sert dokuları da mikroorganizmaların kolonizasyonuna maruz kalmaktadır. Süt ve daimi dişlerin çıkması, diş çekimleri, çürük kavitesi varlığı, dolgular, protez ve bazen dişsizlik gibi değişimler oral mikrobiyal flora ekosistemini etkileyebilmektedirler.⁽²²⁾

Doğum anına kadarki sürede steril olduğu kabul edilen yenidoğan oral kavitesi, doğum kanalından geçerken ilk kez normal bir flora ile karşılaşmakta ve doğumdan kısa bir süre sonra anneden geçtiği düşünülen mikrobiyal türler kolonize olmaktadır.^(6, 22) Yenidoğan tükürüğünde baskın olan mikroorganizma türleri arasında, Streptokoklar, Veillonella, Neisseria, Rothia, Haemophilus, Gemella, Granulicatella, Leptotrichia ve Fusobacterium bulunmaktadır.⁽²²⁾ Yenidoğanların oral kavitesinde bulunan mikroorganizmalar, büyük çoğunlukla, streptokok ailesine ait olan *S. salivarius* ve *S. mitis* türlerini içermektedir. İlk diş sürmesini takiben ise *S. sanguis* izole edilmiştir.⁽²³⁾

Yaşamın ilk 2 yılında, oral laktobasillerin çok az sayıda ve sadece geçici olarak kolonize olduğu görülmüştür.⁽²⁴⁾ Yapılan güncel bir çalışmada yenidoğan döneminde laktobasillerin bulunduğu ve 7 aylıkken alınan örneklerde de varlığını sürdürdüğü görülmüştür. Ayrıca laktobasil türlerinin dil ve dişeti mukozasına, diğer bölgelere kıyasla daha iyi tutunduğu bildirilmiştir.⁽²⁵⁾

2.5. EÇÇ Risk Faktörleri

Ağzında dişi olan herkes, doğumdan ölüme kadar, çürük gelişim riski ile karşı karşıyadır. Çünkü çürük yapıcı bakterilerin yoğun olarak bulunduğu dental biyofilmdeki metabolizma, dişlerin doğal bir parçasıdır.⁽¹³⁾ Batı ülkelerindeki çocuklarda diş çürüğü prevalansı azalmış olsa da, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.^(8, 20) EÇÇ ile ilgili pek çok risk faktörü bulunmaktadır. Ana risk faktörlerini; beslenme alışkanlıkları, çevresel etkenler ve karyojenik mikroorganizmaların varlığı oluşturmaktadır.⁽²⁰⁾ Düşük miktarda tükürük akışı, genetik yatkınlık, florid uygulama yetersizliği, düşük sosyoekonomik durum, azınlık statüsü, DDA ve anneden bebeğe mikropların transferi gibi birçok faktör de riski arttırmaktadır.^(8, 13, 20) Şekil 2.3'te EÇÇ risk faktörleri şematize edilmiştir.⁽⁸⁾



Şekil 2.3 EÇÇ Risk Faktörleri

2.5.1. Diyet

Çocuklarda beslenme şekli ve içeriği EÇÇ gelişimi için önemli risk faktörlerinden biridir. Çocuğun yüksek miktarda ve artmış sıklıkta fermente edilebilen karbonhidrat içerikli yiyecekler ve içecekler tüketmesi, çürük riskini de arttırmaktadır. Şekerli yiyecekler, *S. mutans* ve laktobasiller tarafından kolaylıkla organik aside metabolize edilip, tükürük pH'ını düşürerek, mine ve dentinde demineralizasyona neden olurlar.^(8, 18, 20)

Yenidoğan dönemindeki beslenme alışkanlıkları da EÇÇ riskini önemli ölçüde etkilemektedir. Bebeklerin uyku zamanı ve uyku sırasındaki beslenme şekli ve içeriği çürük gelişimini yüksek oranda tetiklemektedir. Gece anne sütü emerek uyuyan çocukta, uyku sırasında tükürük miktarının da azalmasıyla, alınan anne sütünün karyojenik potansiyeli artabilmektedir.^(8, 20) Anne sütü veya inek sütü kullanımı arasında da çürük riskini tetiklemesi bakımından farklar bulunmaktadır. Anne sütü, inek sütüne kıyasla, daha yüksek miktarda karbonhidrat barındırmaktadır ve bu da daha karyojenik olmasına neden olmaktadır.⁽²⁶⁾ Bebeğin beslenmesi sırasında biberon kullanımı ise laktoz maruziyetini özellikle arttırmaktadır.

Tatlandırıcı (bal, pekmez, şeker, bisküvi vb.) içerikli inek sütü bulunan biberonla besleme, atıştırma öğün sıklığının fazlalığı, anne ya da bakıcının (özellikle çürük

oranı yüksek ise) yiyecekleri bebekle paylaşması gibi yenidoğan besleme şekilleri erken *S. mutans* kolonizasyonunu tetiklediği bildirilmektedir.^(8, 26)

2.5.2. Çevresel Faktörler

EÇÇ riski, çocuklarda erken yaşta *S. mutans* kolonizasyonu ile artsa da, alınacak önlemlerle (iyi ağız hijyeni ve karyojenik olmayan beslenme, düzenli kontroller vb.) çürük oluşumunun önüne geçilebilir.⁽²⁷⁾ Düşük sosyoekonomik durum, oral hijyen ve beslenme alışkanlıklarını etkileyebilmektedir. EÇÇ için bir diğer risk faktörü de, çocuğun oral hijyen alışkanlıkları üzerinde doğrudan etkili olan, çocuğa bakan kişinin sosyoekonomik durumu, etnik kökeni ve eğitim seviyesidir.⁽⁸⁾ Ailenin sosyoekonomik durumu da çocuğun sağlık hizmetlerinden yararlanabilmesiyle doğrudan ilişkilidir.^(13, 20)

Tükürük, diş çürüğü oluşumunda koruyucu bir savunma sistemi rolüne sahiptir. Tükürük, içeriğindeki antimikrobiyal ajanlar, tamponlama kapasitesi, akış hızı ve oral mukozayı yıkama özelliği sayesinde çürük oluşumunu önemli ölçüde azaltmaktadır. Tükürüğün akış hızının düşük olması da EÇÇ gelişmesi için ortam yaratmaktadır.

Ayrıca, erken doğum ve DDA, doğum öncesi annenin, doğum sonrası ise bebeğin yetersiz beslenmesi ve doğum öncesi/sonrası geçirilmiş hastalık gibi etkenler, minede gelişimsel anomalilere neden olmakta, bakteri tutulumunu kolaylaştırmakta ve EÇÇ riskini arttırmaktadır.⁽⁸⁾ Buna ek olarak, ailedeki çocuk sayısı, annenin çalışma durumu, boşanmış ebeveynlerin varlığı, çocuğun cinsiyeti, ilaç kullanımı, diş hekimini ilk ziyaret etme yaşı gibi daha pek çok faktör EÇÇ ile ilişkili risk faktörleri arasında sayılmaktadır.⁽²⁷⁾

2.5.3. Mikrobiyolojik Faktörler

Çocuklarda çürük gelişimine neden olan mikroorganizmaların kolonizasyonu, çocuğun yakın çevresinde bulunan insanlardan tükürük transferiyle ilişkilidir.⁽²²⁾ Mikroorganizmaların oral kavitede karyojenik özellikler sergilemesi ise, sert diş yüzeyinde yaşama ve büyüme, çoğalma, sükröz alımını takiben monosakkaritleri hızlıca aside dönüştürebilme, düşük pH koşullarında yaşayabilme, diş yüzeyine yapışmayı kolaylaştıran ekstrasellüler polisakkarit (EPS) sentezi ve intrasellüler polisakkarit sentezi yapabilme yeteneklerine bağlıdır.^(15, 22) Diş çürüğü başlangıcında tükürük asiditesinin düşmesi etken faktörken, diş çürüğünün ilerlemesi tükürük

asiditesini daha da arttırmaktadır. Bu asidojenik ve asidürik özellikteki bakterilerden kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalar *S. mutans* ve laktobasillerin pH 4 olduğunda dahi yaşayabildiklerini ve çoğalabildiklerini göstermiştir.^(14, 28)

S. mutans ve *S. sobrinus* diş çürüğünün başlangıcından sorumlu başlıca bakterilerdir. Laktobasil ise diş çürüğünün ilerlemesinde etken olan en önemli bakteridir.^(8, 22) Çürüklü ve çürüksüz çocuklarda yapılan bir çalışmada, *S. mutans* ile çürük arasında güçlü bir ilişki saptanırken, *S. sobrinus* ile ilgili anlamlı bir fark bulunamamıştır.⁽¹⁸⁾ Aktinomiçes türleri çürük başlangıcı ile, Bifidobakterium türleri ise hastalığın ilerlemesiyle ilişkili bulunmuştur.⁽²¹⁾ Aynı zamanda *Kandida albicans*'ın da diş çürüğü patogeneğinde aktif rol aldığı düşünülmektedir.⁽⁸⁾

2.6. Oral Streptokoklar

Oral streptokoklar, oro-farenkste yaşayan, değişken özelliklere sahip çeşitli organizmaların oluşturduğu bir gruptur. Pek çok araştırmacı oral streptokoklar için "viridans streptokoklar" genel adını kullanmıştır. Ancak, bu adlandırma bütün türlerin kökenini tam olarak temsil etmemektedir; çünkü bazıları gastrointestinal, vajinal vb. yerlerden kaynaklanmaktadır.⁽²⁹⁾ Yeni tiplendirme teknikleri, özellikle moleküler biyolojiye dayalı olanlar, bu grubun kökeninin ve taksonomisinin (sınıflandırmasının) karmaşık yapısını ortaya koymuştur. Gelişen moleküler biyoloji teknikleri ile birlikte pek çok tür tanımlanmaya devam etmekte, buna bağlı olarak da oral streptokokların isimlendirilmesi sürekli değişmektedir. Tipik olarak kan agarı üzerinde α -hemoliz gösterirler, ancak bazı suşlar non-hemolitik ve β -hemolitik olduğu için, bu sabit bir özellik değildir.⁽³⁰⁾ Streptokoklar 16S ribonükleik asit (RNA) sekanslarına göre 6 ana filogenetik kümeye bölünmüş olup, bunlar, pyojenik, anginosus, mitis, mutans, bovis ve salivarius gruplarıdır. Belirtilen 6 ana gruptan *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguis* ve *S. mutans* grupları ağızda bulunan başlıca streptokok türleridir.⁽³¹⁾ Bu dört grup da pek çok alt tür içermektedir. Oral streptokok türleri ve içerdikleri alt türlerden bazıları tablo 2.1'de özetlenmiştir.^(30, 31)

Tablo 2.1 Oral Streptokoklar ve Alt Türlerinden Bazıları

Filogenetik Grup	Türler
Mitis Grubu	S. Mitis S. Oralis S. Gordonii S. Sanguis S. Crista
Mutans Grubu	S. Mutans S. Rattus
Anginosus Grubu	S. Anginosus S. İntermedius S. Constellatus S. Milleri

2.6.1. Mutans Grubu Streptokoklar

Mutans grubu streptokoklar, plakta bulunan, mannitol ve sorbitolü fermente edebilen, sükrözdan ekstrasellüler glukan üreten ve hayvanlar üzerinde karyojenik özellik gösteren bakterilerdir. Clarke tarafından, 1924'te çürük lezyonlarından izole edilmiş ve gram boyamada oval görünümde olmasından kaynaklı streptokokların mutasyona uğramış bir formu olduğu düşünülerek *S. mutans* adı verilmiştir.⁽³²⁾

Mutans streptokoklar (MS) genellikle α -hemolitik veya non-hemolitiklerdir. MS farklı kaynaklardan toplandığında, önemli serolojik ve genetik heterojenite göstermiştir. Bu da farklı genetik çalışmalara yol açmış ve hücre duvarındaki karbonhidratların antijenik spesifitelerine (özgüllüklerine) göre 7 farklı tür ve bu türlere ait 8 farklı serotip tanımlanmıştır.^(30, 32, 33) Bu alt türlerden *S. mutans* ve *S. sobrinus* insandan, özellikle oral kaviteden en çok izole edilen türlerdir. *S. cricetus* ve *S. ratti* ise insandan nadiren izole edilmektedir.^(7, 29) MS türlerinden bazıları orijin aldıkları kaynaklarla birlikte Tablo 2.2'de gösterilmiştir.⁽²⁹⁾

Tablo 2.2 Mutans Streptokok Türleri ve Orijinleri

Mutans Grubu	Orijinleri
<i>S. mutans</i>	İnsan
<i>S. Sobrinus</i>	İnsan, fare
<i>S. Cricetus</i>	Fare, insan
<i>S. Downei</i>	Maymun
<i>S. Ferus</i>	Fare
<i>S. Macaccae</i>	Maymun
<i>S. Ratti</i>	Fare, insan
<i>S. Hyovaginalis</i>	Domuz

2.6.1.1. Streptokokkus Mutans

S. mutans gram-pozitif, katalaz negatif, hareketsiz ve zincirler halinde gruplanmış küresel bakterilerdir. Hızlı bir şekilde laktik asit üretirler. Yaşam alanları genellikle dental yüzeyler olmasına rağmen, kalp kapakçıkları ve büyük damarlardaki ateromatöz plaklarda da tespit edilmektedirler. MS grubundaki bakteriler içinde, oral kavitede en baskın olan türdür.⁽⁷⁾ *S. mutans* virulans faktörleri, bakterinin asidogenezis, asidürik, asidofil özelliklerde olması; EPS, glukan bağlayıcı proteinleri, adezinler, duvarla ilişkili protein A ve bakteriosin sentezi yapabilmesiyle karakterizedir.^(7, 32)

En önemli virulans faktörü, EPS sentezidir, çünkü sükroz hücre içine girmeden önce bile bir kısmı ekzoenzimler (glukoziltransferaz ve fruktoziltransferaz) tarafından glukan veya fruktanlara dönüştürülür. Bu monosakkaritler de biyofilm içine dağılır ya da *S. mutanslar* tarafından kullanılabilir.^(7, 22, 32) Glukan üretimi, plak kütesini artırır, derin kaviteelerde pH'ın düşmesini hızlandırır, *S. mutans*'ın dişler üzerinde kolonize olmasını kolaylaştırır ve plak geçirgenliğini değiştirerek karyojeniteyi artırır. *S. mutans*'ları diğer bakterilerden ayıran bir özellik de benzer substratları polisakkaritlere dönüştürmek için 3 farklı enzime sahip olmasıdır.^(1, 7)

2.7. Laktobasiller

Laktobasiller gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, çubuk şeklinde bakterilerdir. Homofermenter ve heterofermenter özellik sergileyebilmektedirler. Homofermenter olan türler glukoz fermentasyonu sonucu laktik asit üretirler; heterofermenterler ise son ürün olarak laktik asit, asetat, etanol ve karbondioksit üretebilmektedirler.^(30, 34) Laktobasillerin sınıflandırması oldukça zordur, çünkü farklı pek çok gram + basil aynı isim altında gruplandırılmıştır. Ancak genetik dizi verileri karşılaştırılarak yapılan bir araştırmada filogenetik olarak 3 farklı grup olduğu sonucuna varılmıştır. Bunlar *Laktobasillus delbrueckii*, *Laktobasillus casei* ve *Leuconostoc paramesenteroides* gruplarıdır.^(34, 35)

Laktobasiller insanda oral kavite, gastrointestinal sistem ve kadınların genital bölgesinde bulunur. İntestinal floranın homeostazisinin sağlanmasında önemli bir role sahip olduğunun anlaşılması sonucu, laktobasil içerikli yiyecekler sağlık alanında popüler olmuştur. Genital sistemde, vajinal floranın ana bileşenlerinden biri olan laktobasil, bu bölgede düşük pH dengesini sağlamaktadır.⁽³⁰⁾ Oral kavitede tükürük,

dil yüzeyi ve gingival bölgede daha çok rastlanmaktadır. Diş yüzeyine yapışma yeteneği iyi değildir ve mikrobiyal dental plakta az sayıda bulunur. Doğrudan diş yüzeyine tutunma özelliği yetersiz olsa da, farklı hücre kültürlerine tutunma mekanizmaları vardır.^(25, 34)

Laktobasil hücre yüzeyinde, kristal yapıda, “S tabakası” denilen, protein bir tabaka mevcuttur ve bu yüzey bakteriye hidrofobiklik kazandırır. Laktobasiller yüzey hidrofobikliğini çevresel değişikliklere göre adapte edebilirler. Bununla birlikte bu tabakanın hücre yapışmasında herhangi bir etkisi yoktur.⁽³⁴⁾ Oral laktobasillerin en iyi bilinen karyojenik özelliği, asit üretim kapasiteleri ile asidik ortamda hayatta kalabilme ve büyüebilme yetenekleridir.^(1, 30, 34) Diş çürüğünün başlangıç aşamasında az sayıda veya hiç bulunmazlarken, ilerlemiş çürüklerde dentin dokusunda oldukça fazla sayıda oldukları bilinmektedir.^(1, 21)

2.8. Oral Mikroorganizmaların Bebeğe Geçişi

Fetüsün dişsiz oral kavitesi steril iken, ilk kolonizasyon doğum esnasında, doğum kanalından geçişi süresince gerçekleşmektedir. Bebekte, doğum esnasında ve annesi tarafından beslendiği ilk günlerinde oral kavitede belirli mikroorganizmalar kolonize olur ve dişsiz bebekte kolonizasyonun olabileceği yerler yalnızca mukozal yüzeylerdir.⁽²²⁾

İnsan vücudunu kolonize eden ilk bakterilerin önemli bir kısmı maternal kökenlidir. Yenidoğanın doğum şekli, maruz kaldığı ilk mikroorganizma türünü etkileyebilir. Doğumdan hemen sonra yenidoğanın farklı bölgelerinde (oral, nasofarengeal, deri ve bağırsak florası vb.) oldukça benzer bakteriyel türler gözlenmiştir. Normal yolla doğan bebeklerde genellikle annenin vajinal florasıyla benzer bakteri topluluğu gözlenirken, sezaryen ile doğanlarda annenin deri florasıyla benzer bakteriyel kolonizasyon izlenmiştir.⁽³⁶⁾

Diş çürüğü, bakteriyel kaynaklı olduğundan enfeksiyöz bir hastalık olarak tanımlanmıştır ve hastalığın bulaşma yolları araştırılmıştır. Genellikle horizontal geçiş gösteren, bakteri kaynaklı diğer hastalıklarla karşılaştırıldığında, diş çürüğünden sorumlu bakteriler, endojen bakterilerle birlikte, çoğunlukla anneden bebeğe, yani vertikal geçiş göstermektedir.^(16, 25, 37) Diş çürüğünden birincil sorumlu bakteri olan *S. mutans*'ın anneden bebeğe vertikal geçişi moleküler çalışmalarla gösterilmiştir.^{(11, 16,}

³⁸⁾ *S. mutans* geçişinde tükürük transferinin önemi büyüktür. Anne ya da birincil bakıcının bebekle yakın temasta olması, dudaktan öpme, ek gıda verilirken önce tadına ve ısısına bakıp aynı kaşıkla bebeğe verilmesi gibi alışkanlıklar bu transferi kolaylaştırmaktadır. Ayrıca annenin oral hijyeninin kötü olması ve bebeğin ağzının beslenme sonrası temizliğine özen gösterilmemesi de karyojenik bakteri geçişini hızlandırmaktadır.^(16, 39) Yapılan bir çalışmada yüksek maternal laktobasil seviyesi olan ve normal doğumla dünyaya gelen bebeklerin laktobasil seviyelerinin de yüksek olması, vertikal geçişin önemini hatırlatmaktadır.⁽²⁵⁾

Beslenme şekli de yenidoğanlarda oral bakteriyel kolonizasyonu etkilemektedir. Bir çalışmada anne sütüyle beslenen bebeklerde, mama ile beslenenlere oranla daha yüksek oranda laktobasil kolonizasyonu olduğu gözlenmiştir.⁽⁴⁰⁾

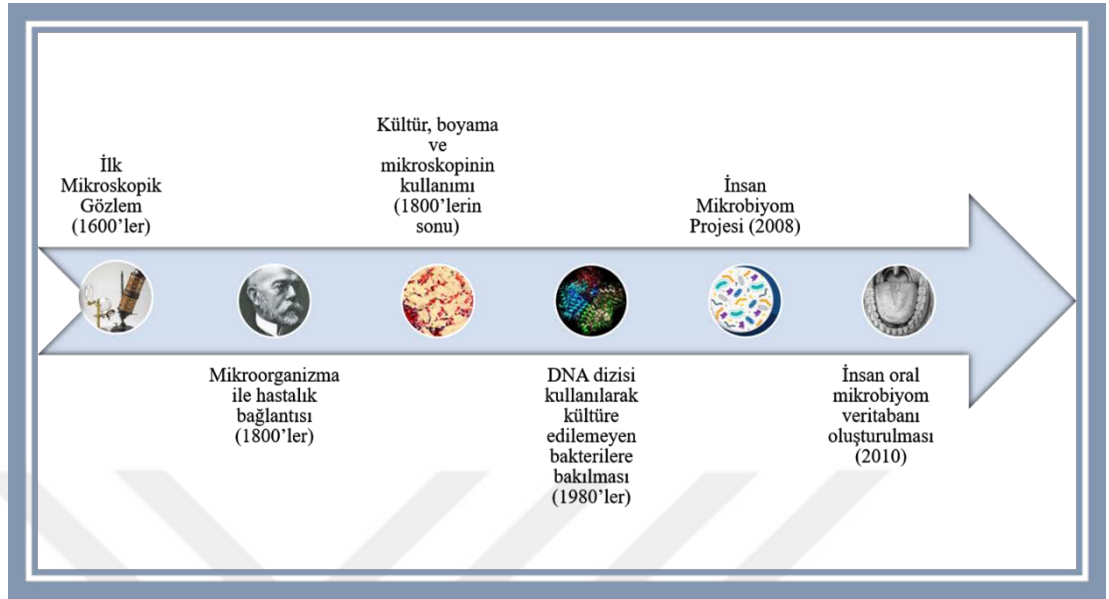
Mikroorganizmaların geçişi yalnızca vertikal yolla olmamaktadır. Kardeşler ve yakın temasta bulunan diğer aile bireyleri, bebek bakıcıları ya da okul çağındaki çocuklar için sınıf arkadaşları gibi yollarla horizontal geçiş de görülebilmektedir.^(20, 36) Yaşla birlikte çocuklarda bakteriyel yüklenme artarken, mikrobiyal çeşitlilik azalmaktadır. İlk kolonize olan türler, doğum şekli, bireysel ilişkiler, yaşanılan çevre vb. gibi pek çok etkenden etkilenmektedir. Bununla birlikte başlangıç kolonizasyonu, yetişkinlik döneminde daha kompleks ve stabil olacak olan ekosistemin oluşumunda oldukça etkilidir. Dolayısıyla, erken mikrobiyal kolonizasyon, yetişkinlik dönemindeki oral kaviteyi oldukça etkilemekte ve patojenik ya da koruyucu mikroorganizmaların erken dönem kaynağını oluşturmaktadır.⁽³⁶⁾

2.9. Oral Mikrobiyom Karakterizasyonunda Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler

Oral flora kompozisyonunun belirlenmesi amaçlı mikroskobik yöntemler, kültürel analizler, enzimatik, immunoserolojik ve genetik pek çok yöntem kullanılmaktadır.⁽⁴¹⁾

⁴²⁾ Bakterilerin tespiti ve tanımlanmasında kullanılan mikrobiyolojik yöntemler zamanla gelişmektedir. Mikrobiyolojik metotların senelere göre gelişimi şekil 2.4'te şematize edilmiştir.⁽⁴¹⁾ Bir bakteri türü içindeki diğer alt türleri belirlemek için de mikrobiyolojik tanı yöntemleri kullanılır. Bu yöntemlerin bir kısmı bakterinin fenotipine bakarak tespitte bulunurken, bir kısmı ise doğrudan genetik içeriğine bakarak sonuç verir. Pek çok farklı yöntemden hangisinin seçileceğine karar verilirken bakılacak örnek miktarı, bakterinin özellikleri ve kullanım amacı göz önünde

bulundurulmalıdır. Çünkü farklı tiplendirme sistemleri ile birbirinden farklı sonuçlar elde edilebilir.⁽⁴³⁾



Şekil 2.4 Mikrobiyolojik araştırma metodlarındaki gelişim

2.9.1. Geleneksel Kültür Ortamında Bakteri Tanımlama Yöntemi

Oral flora ve diş çürüğü mikrobiyal patogenezi ile ilgili geçmiş araştırmaların büyük kısmında bakteri kültür yöntemi kullanılmıştır ve altın standart olarak nitelendirilmiştir.^(21, 44) Bu yöntemde bakılacak örnekler katı, yarı katı veya likit kültür ortamlarında, aerobik, mikroaerofilik veya anaerobik koşullarda çoğaltılır. Daha sonra koloni morfolojisi ve boyanma özelliklerine göre tanımlanırlar. Hareketlilik, kapsül veya fimbria varlığına bakılan ek testler de bakteri türünü belirlemede yardımcı olur. Kesin tanımlama, karbonhidrat fermentasyonu ya da diğer makromolekülleri katabolize edebilme kabiliyetine göre yapılır. Kültür metodu ile mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları da belirlenebilmektedir. Ayrıca bir organizmanın virulans özellikleri ve ekspresyon paternlerinin anlaşılması da mikroorganizmanın invitro şartlarda başarılı bir şekilde izole edilebilmesiyle mümkündür.⁽⁴⁴⁾

Birçok oral bakteri yavaş büyür ve bunun için kompleks büyüme ortamı, spesifik atmosferik özellikler ve uzun inkübasyon süresi gerektirir. Oral bakterilerin büyük çoğunluğu anaerob olup, oksijenden korunarak örnek toplanması, taşınması ve inkübe edilmesi için büyük titizlik ister.^(41, 45) Anaerobik kültüre etme metodunun gelişmesiyle birlikte birçok farklı oral bakteri daha tanımlanmıştır. Ayrıca bu sayede klinik olarak önemi olan Streptokokkus, Aktinobasillus, Aktinomiçes, Porphyromonas ve

Treponema türleri gibi bakterilerle çalışılabilmiş ve önemli fenotipik özellikleri öğrenilmiştir.^(44, 46) Ancak diş çürüğü gibi hastalıkların araştırılmasında kültür yöntemi, bakteri varlığı ve sayısının belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır.

Dental plakta *S. mutans* varlığı ya da sayısını belirlemek için kullanılan, geleneksel bir metot olan kültür yönteminde, bakılacak örneğin dondurup bekletilmeden, mümkün olduğunca hızlı bir şekilde analiz edilmeye başlanması gerekmektedir. Buna ek olarak kültür metodunun, *S. mutans* enfeksiyonunun değerlendirilmesinde doğruluk ve tutarlılığı etkileyen belirli kısıtlamaları mevcuttur. Birden fazla örnekte mikrobiyal araştırma yapılacağı zaman örnekler dondurularak saklanır ve taşınır. Bu durum kültür tekniğiyle kantitatif değerlendirme yaparken, gerekli canlı bakteri sayısının etkilenmesine neden olabilmektedir. Tüm bunlara ek olarak, kültür ajanlarının saklanması, örnek saflığının korunarak, kontaminasyonun önlenmesi açısından da oldukça zorlu bir süreçtir. Ayrıca kültür yöntemi, uzun mikrobiyolojik işlem süresi ve düşük sensitivite gibi başka dezavantajlara da sahiptir. Tüm bu kısıtlamalar, geleneksel kültür yöntemlerinin, risk altındaki bireylerde çürük duyarlılığı ile ilişkili *S. mutans* varlığı ve sayısını ölçerek doğru mikrobiyal bir değerlendirme için kullanımını zorlaştırmaktadır. Ayrıca, oral enfeksiyonların büyük bir kısmı, seçici, yavaş büyüyen veya ekilemeyen çok sayıda bakteri türünden kaynaklandığı için, oral bölgeden alınan örnekte, sebep olan bütün bakterilerin tespit edilememesi de muhtemeldir.^(7, 44)

Moleküler tekniklerle yapılan çalışmalarda kültür ekimi ile yapılan araştırmalar ile çoğu bakteri tiplendirmesinin yapılamadığı anlaşılmıştır, çünkü doğada var olan organizmaların %1'inden daha azı ekilebilir türdedir. Oral bakterilerin ise yaklaşık %50'sinin ekilebilir olduğu düşünülmektedir.^(21, 45)

2.9.2. Moleküler Bazlı Bakteri Tanımlama Yöntemleri

Ağız boşluğu, periodontal cepler, dil dorsumu, dişler ve diğer mukozal yüzeyler gibi çeşitli bölgelere yerleşmiş ve insan mikrobiyomunun büyük bir parçası olan yüzlerce bakteri türünü barındırmaktadır. Yedi yüzden fazla türe ait en az 6 milyar bakteri ve diğer mikroorganizmalar bu bölgede kolonize olmaktadır. Bu büyük mikrobiyomun parçasını oluşturan bakterilerin pek çoğu moleküler biyolojinin gelişimiyle birlikte tespit edilmeye başlanmış ve tanımlanabilmişlerdir.⁽⁴⁴⁾ Hastalıktan sorumlu bakteri türlerinin de doğru bir şekilde tanımlanması, hastalığın tedavi edilebilmesi ve koruyucu yöntemlerin geliştirilebilmesi açısından büyük önem arz etmektedir.

Moleküler teknikler genel olarak hücresel makromoleküller ile çalışılan yöntemleri içermektedir. Araştırılmak istenen olguya göre moleküler yöntemler 3 ana başlıkta toplanmış ve aşağıda örnek metotlar ile birlikte bu sınıflama sıralanmıştır.⁽⁴⁷⁾

1. Oral bakterilerin tespiti ve tanımlamasında kullanılan moleküler yöntemler:
 - A. Polimeraz Zincir Reaksiyonu [Polymerase Chain Reaction (PCR)] temeline dayanan yöntemler
 - a. Konvansiyonel PCR
 - b. Gerçek Zamanlı PCR [Real Time PCR (qRT-PCR)]
 - B. Hibridizasyon temeline dayanan yöntemler
 - a. Türe özgü oligonükleotit problemler
 - b. Tüm genom dama tahtası DNA-DNA hibridizasyonu
 - c. Ters yakalamalı oligonükleotit hibridizasyonu (reverse-capture oligonükleotit hibridizasyonu)
 - d. DNA çip yöntemleri
 - e. Floresan in situ hibridizasyon tekniği
2. Ağız boşluğundaki bakteriyel topluluk çeşitliliğine bakmak için kullanılan yöntemler:
 - A. 16S rRNA gen klonlaması ve diziliminin yapılması
 - B. Denatüre jel elektroforezi
 - C. Terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi
3. Bakteriyel toplulukta tür içi veya türler arası genetik farklılığı belirlemede kullanılan yöntemler:
 - A. DNA çip kullanımına dayalı genomik profil belirleme
 - B. Jel elektroforezi kullanımına dayalı DNA parmak izi belirleme yöntemleri

Mikrobiyal analizlerde kullanılan güncel moleküler metotların bazıları doğrudan örneklerden izole edilen nükleik asit üzerinde çalışmaktadır. DNA çipleri ve dama tahtası, DNA-DNA hibridizasyon tekniği nükleik asitlerle çalışan yöntemlere örnek olarak verilebilir. Ancak moleküler yöntemlerin çalışma prensibine bakıldığında birçoğunun PCR uygulamasını da işlem basamaklarında barındırdığı görülmüştür. Örneğin denatüre edici jel elektroforezi, sıcaklık gradyan jel elektroforezi, terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi, rastgele başlatıcılı PCR [Arbitrarily Primed PCR

(AP-PCR)] gibi daha pek çok uygulama PCR temeline dayanmaktadır. Güncel oral mikrobiyoloji çalışmalarında da PCR kullanımı artmaktadır.^(46, 47)

2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, DNA dizilerinin parçalarının izole edilebilmesini takiben moleküler klonlama uygulamalarının gelişimiyle birlikte Karry Mullis tarafından keşfedilmiş ve moleküler biyoloji araştırmalarında büyük yankı uyandırmıştır. PCR işlemi kısaca, hedef DNA parçasının karşıt iplikleriyle hibritleşen ve istenilen bölgesini çevreleyen iki oligonükleotid primerin kullanımıyla, istenen DNA dizilerinin in vitro koşullarda spesifik enzimatik işlemlerle çoğaltılması şeklinde özetlenmiştir. Metot, tekrarlayan denatürasyon, hibridizasyon ve polimeraz uzatma işlemlerini kapsamaktadır.⁽⁴⁸⁾

Hedef DNA'nın "denaturasyonu", primerlerin bu DNA parçasıyla "birleşip tekrar ayrılması" ve bu primerlerin DNA polimeraz ile "uzatılması" işlemlerini içeren tekrarlayan bir döngü serisi, spesifik fragmanın üssel birikimine neden olur. Bu spesifik fragman, kullanılan primerlerin 5'(beş üssü) uçlarının pozisyonu ile belirlenmektedir. Bir döngüde kopyalanan primer, bir sonraki aşamada şablon olarak kullanılabilirdiğinden hedef DNA kopyalarının sayısı her döngüde yaklaşık iki katına çıkmaktadır. Böylece çokça tekrarlayan PCR periyodu sonunda kopya sayısının yaklaşık milyon kat arttığı gözlenmiştir. Bu sayede küçük miktardaki ve saf olmayan örneklerle bile çalışılabilmeye başlanmıştır.^(48, 49)

PCR'ın gerçekleşebilmesi için gerekli ana bileşenler şu şekilde özetlenebilir:

1. Çoğaltılacak olan kalıp DNA
2. Yüksek ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi
3. Sentezde kullanılacak primerler
4. Sentezde kullanılacak deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP)
5. DNA polimerazın çalışması için gerekli tamponlar ve MgCl₂

PCR ile çoğaltma tekniği, hedef DNA örneğini içeren karışımın tekrarlanan termal döngüye sokulmasından oluşur. Bunun için otomatik termal döngü cihazları mevcuttur, bu sayede teknik hassas ve kolay bir şekilde uygulanabilmektedir. PCR'ın birinci basamağı olan ve tek zincirli hedef DNA'nın elde edilmesini sağlayan denatürasyon işlemi, yaklaşık 94 °C'de gerçekleşmektedir. Daha sonra sıcaklık yaklaşık 50-60 °C'ye düşürülerek primerlerin spesifik bağlanma bölgelerine yapışması

gerçekleşir ve yeni DNA zincirinin sentezi başlamış olur. Yaklaşık 72 °C’de, termostabil bir DNA polimeraz enzimi boştaki dNTP’leri, primerin 3’ ucuna, hedef DNA dizilimine uygun olacak şekilde ekler. Bu işlem primerin uzamasına ve ilk başta şablon olarak kullanılan hedef DNA zincirinin tamamlanmasına sebep olur. Sentezlenen her yeni DNA zinciri, bir sonraki döngüde yeni bir şablon olarak hareket edebileceğinden, hedef dizinin çoğaltılması katlanarak devam eder.⁽⁴⁷⁾

PCR’in pek çok kullanım alanı bulunmaktadır. Bunlardan bazıları:

- Enfeksiyöz hastalıkların moleküler tanısı,
- Nükleik asit amplifikasyonu,
- Dizi analizleri ve allelik dizi varyasyonlarının gösterilerek doku transplantasyonu için gerekli doku tipinin belirlenmesi,
- AIDS, fragile X sendromu, kistik fibrozis vb. DNA temeline dayalı hastalıkların temel moleküler tanısı,
- Antimikrobiyal ilaç direnç geninin belirlenmesi,
- Adli tıp vakalarında genetik tiplendirme,
- Moleküler epidemiyoloji çalışmaları,
- Canlı türlerinin genotipik sınıflandırması ve türler arasındaki polimorfizmin belirlenmesi,
- Tarımda, tohum yapısının belirlenmesi gibi çok çeşitli alanları kapsamaktadır.^(47, 50, 51)

Moleküler araştırma teknolojileri geliştikçe pek çok yeni uygulama çıksa da, birçoğunun temeli PCR’a dayalıdır. Ayrıca geleneksel kültür yöntemleriyle kıyaslandığında da PCR’ın belirgin avantajları mevcuttur. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

- ✓ Yüksek analitik duyarlılık
- ✓ Yüksek klinik duyarlılık
- ✓ Daha güvenilir klinik test imkanı sunması
- ✓ Mikrolitre (mL) veya nanogram düzeyinde çok az miktardaki örneklerle çalışılabilmesi
- ✓ Sonuç elde etmek için daha az zaman gerektirmesi
- ✓ Çok çeşitli alanda kullanılabilir olması

✓ Tekniğin, yeterli bilgi birikimi varlığında, kolay uygulanabilir olması

PCR'in tüm bu avantajlarının yanında bazı sınırlamaları da mevcuttur. Bunlar, aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

- ✗ Kendi son ürünüyle çapraz kontaminasyona bağlı yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedir. Ancak otomatik örnek ayrıştırma tekniklerinin gelişimiyle bu sorun büyük ölçüde giderilmiştir.
- ✗ Örneklem hatalarına bağlı olarak veya testin inhibisyonu sonucu yalancı negatif sonuç elde edilebilmektedir.
- ✗ Oral kaviteden elde edilen örnekler gibi heterojenöz bakteriyel numunelerde, hatalı amplifikasyonlar olabilmektedir.
- ✗ Bakılacak numunelerin, DNA polimeraz enzim aktivitesini bozan kan kaynaklı hem proteini içermesi, hatalara neden olabilmektedir.
- ✗ Reaksiyonun standardizasyon aşaması oldukça önemli ve zordur.
- ✗ Testlerin sürdürülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi aşamaları, yüksek bilgi, tecrübe ve titizlik istemektedir.
- ✗ Pahalı bir uygulamadır.^(7, 47, 51, 52)

Yıllar içerisinde gelişen teknolojiyle birlikte PCR temeline dayanan birçok alternatif yöntem geliştirilmiştir. Bakılacak örnek türü, miktarı, alınmak istenen sonuç vb. değişkenlere göre geliştirilmiş PCR yöntemlerinden bazıları şu şekilde sıralanabilir:

- Konvansiyonel PCR
- Multipleks PCR
- “Hot-Strat” PCR
- “Reverse Transcriptase” PCR
- “Nested” PCR
- “Broad Range” PCR
- “Arbitrarily Primed” PCR (AP-PCR)
- “Real Time” PCR

Konvansiyonel PCR, AP-PCR ve qRT-PCR, oral bakterilerin tespit edilmesi, tanımlanması, miktarının belirlenmesi ve bulaşıcılığının araştırılması gibi çeşitli konularda yapılan araştırmalarda genellikle kullanılan PCR çeşitleridir.^(31, 47)

2.10.1. Konvansiyonel PCR

Moleküler temelli oral bakteriyel epidemiyolojide, tek bir türün tespiti amacıyla en sık kullanılan PCR yöntemidir. Uygulama sade, duyarlı ve diğer PCR tiplerine kıyasla daha düşük maliyetlidir. Konvansiyonel PCR ile yapılan ağız içi bakterilerin araştırılmasında, genellikle 16S rRNA'yı hedef alan türe özgü oligonükleotid primerler kullanılmıştır. Buna ek olarak, oral bakterilere özgü olan lökotoksin geni, fimbrillin geni ve oral streptokoklara özgü glukoziltransferaz enzimine ait genler gibi spesifik genler de konvansiyonel PCR ile amplifiye edilebilmiştir.⁽⁴⁷⁾

İdeal reaksiyon koşulları için PCR başlangıç optimizasyonuna büyük özen gösterilmelidir. Özellikle primerlerin yapışması için gerekli hibridizasyon sıcaklığı, kullanılacak tampon, enzim ve primer konsantrasyonlarının çok dikkatli bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Konvansiyonel PCR'da optimizasyon aşaması 3 ile 6 ay arasında sürebilmektedir.⁽⁵³⁾ Bu teknikte bir reaksiyonda tek bir gen için araştırma yapılabilmektedir. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için, aynı reaksiyonda çok sayıda genetik bölgenin çalışılabildiği Multipleks PCR geliştirilmiştir.⁽⁴⁷⁾

2.10.2. “Arbitrarily Primed” PCR (Rastgele başlatıcılı PCR/AP-PCR)

Rastgele amplifiye edilmiş polimorfik DNA olarak da adlandırılabilen, AP-PCR yöntemi günümüzdeki en basit DNA temelli alt tiplendirme yöntemi olarak bilinmektedir. Bu yöntem, düşük sıklık koşullarına sahip bir ortamda genomik DNA'yı amplifiye etmek için rastgele seçilmiş, genellikle 10-15 bazlık kısa primerler kullanır. Bu nedenle çoğaltılacak DNA bilgilerinin önceden yazılmasını gerektirmez. Primerlerin yapışma koşulları için katı kurallara sahip olmayan bir tekniktir. Böylece kolay uygulama avantajı sağlar. Reaksiyon sonunda üretilen farklı uzunluktaki son ürünler jel elektroforezi kullanılarak büyütülür ve ayrıştırılır. Sonuçta, türe özgü spesifik olan “parmak izi deseni” denilen bantlar oluşur.

AP-PCR kullanımı kolaydır ve genomik analiz için evrensel olarak kullanılan bir primer seti mevcuttur. Diş hekimliği alanında periodontitis ve çürük ile ilişkili bakterilerin araştırılmasında kolay ve iyi bir teknik olarak nitelendirilmiştir. Oral bakteri türlerinin kendi içindeki değişik suşları ve bu alt türlerin kendi içindeki çeşitli alt tiplerinin ayrılmasında kullanılmaktadır. Bu avantajlarının yanında tekrarlanabilirlik açısından dezavantaj teşkil eder. Standart protokoller uygulandığında, intraoperatif olarak iyi bir şekilde yeniden üretilebilirliği iyidir.

Ancak farklı laboratuvarlarda yapılan aynı çalışmada veya aynı koşullarda iki ayrı deney yapıldığında farklı elektroforetik bant görüntüsü verebilmektedir. PCR amplifikasyonu için var olan kuralların katı olmaması, buna bağlı olarak da farklı çalışma ortamlarından kolayca etkilenmesi, farklı bant biçimlerinin görülmesinin muhtemel sebebi olarak bildirilmiştir.^(47, 52)

2.10.3. Gerçek Zamanlı PCR (“Real Time” PCR / qRT-PCR)

qRT-PCR, geleneksel PCR metotlarına her bir amplifikasyon döngüsünden sonra reaksiyon ürünlerinin birikiminin saptanması ve reaksiyonla eş zamanlı izlenebilmesi özelliğinin eklenmesi ile geliştirilen bir yöntemdir. İzleme, çeşitli floresan boyaların kullanılmasıyla gerçekleşir. İşlemin temeli, floresan rezonans enerji aktarımının şematik olarak gösterilmesi esasına dayanır. qRT-PCR’da amplifikasyon ve tespit etme işlemleri aynı reaksiyon tüpü içerisinde, dışarıdan gelebilecek kontamine edici faktörlerden tamamen izole şekilde yapılmaktadır. Böylece kontaminasyon sonucu yalancı pozitiflik veya negatiflik oluşma olasılığı en aza indirilmiş olur.^(47, 54)

qRT-PCR uygulamalarının bazıları, erime eğrileri oluşturmak için kullanılabilirler. Erime eğrileri, amplikon veya floresan problemlerin, hedef DNA parçasından ayrıldığı sıcaklığı temsil ederler. Türe özgü gen dizileri, oligonükleotit uzunluğu ve guanin-sitozin içeriğinden etkilenen farklı erime sıcaklıklarına sahiptir. Erime eğrileri, 1 baz çifti kadar küçük gen dizi değişimlerinin varlığını tespit etmek ve örnekleri karşılaştırmak için kullanılabilir. Mikrobiyolojik araştırmalarda qRT-PCR kullanılarak bu özellikleri sayesinde, çok hızlı bir şekilde, aynı anda mikroorganizmaların varlığı, miktarı ve antibiyotik direnç genleri belirlenebilmektedir. Kısaca belirtecek olursak, qRT-PCR, spesifik nükleik asit dizilerinin mevcudiyetini ve miktarını saptamanın yanı sıra dizi değişimlerinin var olup olmadığını belirleme özelliğine de sahiptir.^(52, 54)

Çalışılacak örnek türüne göre optimize edilme aşaması zordur. Bu aşama atlatıldıktan sonra tek bir kopyaya kadar saptama yapılabilmektedir. Ancak bir adet olan kopyanın reaksiyona gireceğinin garantisi olmadığı ve yalancı negatif sonuç olasılığını %0.01’in altında tutabilmek için her reaksiyonda yaklaşık 10 adet bakılacak örneğin mevcut olması gerektiği bildirilmiştir. Yani başlangıç ürünü ne kadar düşükse, testin kesinliğinin de düşük olduğu belirtilmektedir. Bir diğer dezavantajı da pahalı bir sistem olmasıdır. Fakat bir kez optimize edildiğinde ve yeterli tecrübe edinildiğinde,

hızlı ve daha kesin sonuçlar elde edilmesi açısından değerlendirildiğinde, geleneksel yöntemlerden daha uygun olduğu görülmüştür.^(52,55) Bu dezavantajların yanında, qRT-PCR'in bazı avantajları aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

- ✓ Ürünün varlığının tespitinin yanı sıra kantitatif sonuç da sağlamaktadır.
- ✓ Örneklerin kontaminasyon riski oldukça düşüktür.
- ✓ Çok az miktardaki örneklerle çalışılabilmektedir.
- ✓ Isı döngüsü ve buna bağlı olarak da işlem süresi daha hızlıdır.
- ✓ Sonuçlar işlem esnasında takip edilebilir, işlemin sonlanmasının beklenmesine gerek yoktur.
- ✓ Genetik bölge varlığıyla ilgilendiğinden canlı bakteri gerektirmez, uzun süre saklanmış örneklerden kolayca kalitatif ve kantitatif sonuçlar elde edilmesini sağlayabilmektedir.
- ✓ Duyarlılığı ve güvenilirliği yüksektir.^(7, 47, 52, 54, 55)

Bir örnekteki gen ekspresyonu ve buna bağlı başlangıç miktarını tayin etmek için öncelikle qRT-PCR'da kullanılacak cDNA'yı elde etmek önemlidir. Bunun için örneklerden DNA izolasyonu yapılmaktadır. Reaksiyona sokulan izolatlar çoğaldıkça floresan boyalar oluşan çift iplikli DNA parçalarına yapışarak floresansa neden olurlar. Bir yazılım kullanılarak amplifikasyon eğrileri çizilir ve burada floresansın eşik seviyeye ulaştığı döngü sayısı (C_t) belirlenir. C_t değeri, bakılan örnekteki orijinal nükleik asit dizisi miktarı ile ters orantılıdır.⁽⁵⁵⁾

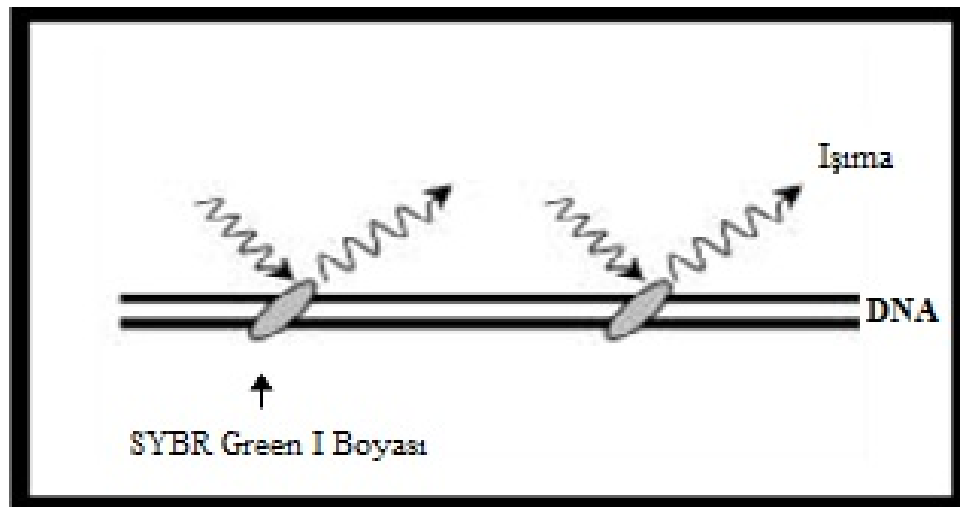
qRT-PCR ile yapılan çalışmalarda, hatalı sonuçlar elde edilmesini önlemek amacıyla kontrol reaksiyonları gerçekleştirilir. İçerisinde test edilecek genetik materyal hariç, reaksiyonda kullanılan diğer tüm malzemelerin bulunduğu tüp, reaksiyona sokularak negatif kontrol yapılır. Böylece olası bir kontaminasyon varlığı değerlendirilir. Sonuç negatif çıkarsa kontaminasyonun olmadığı ve yapılan testte elde edilen pozitif sonuçların güvenilir olduğu belirtilmiştir.^(7, 50)

qRT-PCR'da önemli role sahip bileşenlerden biri de kullanılan floresan boyalardır. Reaksiyonun özgüllüğünü ve doğruluğunu arttırmak için floresan etkili oligonükleotid problemler de kullanılmıştır.⁽⁵⁴⁾ qRT-PCR'ın başlangıç çalışmalarında ilk kullanılan floresan boya etidyum bromid olmuştur. Çift sarmal yapısındaki DNA'ya özgü olan bu boya, sarmalın arasına girerek işlev görmektedir.⁽⁵²⁾ qRT-PCR için ortaya çıkmış

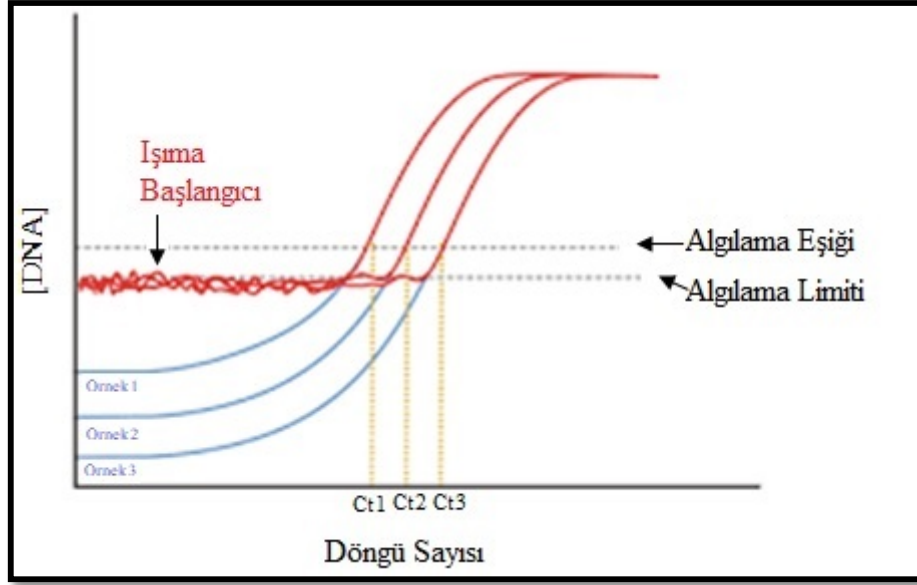
ilk oligonükleotid prob tabanlı olan ve floresan etkiye sahip “TaqMan” problemleri de kullanılan bir diğer boyadır. Diğer boyalara göre daha spesifik sonuçlar alınmasını sağladıkları ancak daha pahalı olduğu ve erime eğrisi analizini daha zor kıldığı bildirilmiştir.^(47, 54) Günümüzde “SYBR Green I” boyalarının, qRT-PCR uygulamalarında daha yaygın kullanıma sahip olduğu belirtilmiştir.⁽⁵²⁾

2.10.3.1 “SYBR Green I” Boyaları

“SYBR Green I”, qRT-PCR için kullanılmak üzere, piyasada satışa sunulmuş ve hala yaygın olarak kullanılan ilk boyadır. “SYBR Green I”, özellikle çift zincirli DNA’nın küçük oluklarına (dsDNA) bağlanan ve bu şekilde ışımaya neden olan bir tür siyanin boyasıdır (Şekil 2.5a). “SYBR Green I”in yaydığı ışığın dalga boyu yaklaşık 480 nm’dir. Bağlandıktan sonraki boyanın yaydığı floresan sinyali, bağlanmamış, serbest haldeki “SYBR Green I” boyasından yaklaşık 1000 kat daha fazladır. qRT-PCR’da kullanımı da bu mantık çerçevesinde olmaktadır. Bu yöntemle göre her bir PCR döngüsünde DNA’nın çift zincir yapısı açılır. Bu esnada “SYBR Green I” boyası DNA’ya bağlanamadığı için düşük bir ışımaya verir. Döngünün devamında primerler bağlanarak, bağlandığı DNA’nın karşıt zincirini uzatmaya başladığında çift zincirli DNA oluşmaya başlar. Böylece “SYBR Green I”in bağlanacağı çift zincir yapısı oluşmuş olur. Reaksiyonun ilk aşamasında düşük olan ışımaya, döngü sayısı arttıkça ve istenen çift zincirli DNA örnek sayısı katlandıkça orantılı olarak artış gösterir. “SYBR Green I” boyası ile yapılan çalışmalarda bilgisayar ekranına yansıtılacak görüntü Şekil 2.5b’de gösterilmiştir.^(54, 56)



Şekil 2.5.a. “SYBR Green I” boyası



Şekil 2.5.b. "SYBR Green I" bilgisayar verisi

Şekil 2.5b’de mavi ile gösterilen yer PCR döngüsünün başladığı yerdir. Burada istenen DNA bölgesi çoğalmaya başlamış ve bu çoğalan bölgelere “SYBR Green I” boyası bağlanmıştır. Çoğalan DNA bölgesi ve buna bağlı olarak ışıma yapan “SYBR Green I” boyası az olduğu için cihazın algılama sınırları dışında kalır. qRT-PCR cihazı Şekil 2.5b’de mavi ile gösterilen yeri bir sonuç olarak veremez. Cihazın algıladığı ve buna bağlı olarak sonuç vermeye başladığı yer, Şekil 2.5b’de kırmızı görüntünün ilk başladığı yerdir. Buradan sonra her bir döngüde olması gereken 2 kat artışın qRT-PCR cihazı tarafından algılandığı ilk yere, cihaz C_t değeri atar. Atanan bu C_t değeri, çalışılan örnekteki 2 kat artışı, cihazın “SYBR Green I” yardımı ile algıladığı ilk PCR döngü sayısıdır. Bundan sonra ışıma eksponansiyel olarak artar ve Şekil 2.5b’deki görüntü oluşur. En son olarak cihazın en üst ışıma algılama kapasitesine gelindiğinde, PCR içeriklerinden (dNTP, primer veya bağlanacak “SYBR Green I”) biri bittiğinde ışıma sabit hale geçer.^(52, 54, 56)

Etidyum bromidin aksine, “SYBR Green I” ile yapılan araştırmalarda, reaksiyon koşulları altında araya boya ilave edilmesinin bir önemi olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca bağlanma afinitesi, etidyum bromidinkinden 100 kat daha fazla olduğu bilinmektedir.⁽⁵⁶⁾ “SYBR Green I” hali hazırda optimize edilmiş bir PCR reaksiyonuna kolayca eklenen bir boyadır. Bu da diğer boyalara göre daha kolay kullanımı olduğu ve göreceli olarak daha ucuz maliyetli olduğu sonucunu vermektedir. “SYBR Green I” ile yapılan deneylerde ek bir tasarım ve üretim maliyeti gerektirmemektedir. Var

olan avantajlarının yanında spesifik olmayan doğası ve bazı ölçümlerde erime eğrileri, jel elektroforezi gibi ek uygulamalar gerektirebilmesi dezavantajı olarak bildirilmiştir.⁽⁵⁴⁾

2.11. Yenidoğan ile İlgili Bazı Tanımlar

Doğum ağırlığı, yenidoğanın doğum sonrası 1 saat içinde elde edilen gram (gr) cinsinden ölçülen ağırlığı olarak tanımlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre doğum zamanına bakılmaksızın 2500 gramın altında doğan tüm bebekler DDA olarak sınıflandırılmaktadır. Zamanında doğan bebekler için ortalama vücut ağırlığı 2500-4000 gr arasında olduğu belirtilmiştir.⁽⁵⁷⁾

Doğum zamanı, annenin son adet tarihinin ilk gününden bebeğin doğduğu güne kadarki geçen süre olarak hesaplanmaktadır. Bu hesaplama göre term, preterm ve postterm bebek sınıflaması yapılmıştır. Term, 38. haftadan bir gün almış ve 42. haftayı tamamlamış; preterm, 37 tamamlanmamış haftadan önce (36.hafta + 6.gün) doğan; postterm bebek ise 42 tamamlanmış haftadan sonra doğan bebekler için kullanılmaktadır. Kapsadıkları haftalara göre sınıflama aşağıda sıralanmıştır.^(57, 58)

- Term Bebek: 38. hafta-42. hafta arası doğan bebekler
- Preterm Bebek: 36. hafta + 6. gün ve öncesi doğan bebekler
- Postterm Bebek: 42. Hafta ve sonrası doğan bebekler

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Etik Kurul Onayı ve Gerekli Resmi İzinler

Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun, 01.11.2017 tarih ve 655 numaralı kararı ile etik açıdan onaylanmıştır (Ek 1). Çalışma ile ilgili gerekli izinler ise Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü, Üniversite Hastanesi Başmüdürlüğü'nden alınmıştır (Ek 2).

3.2. Örneklem Seçimi

Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Neonatoloji Bilim Dalı'na bağlı, Yenidoğan Servisi'nde, doğumun üzerinden 48 saatten fazla geçmemiş olan bebekler ve annelerinin çalışmaya dahil edilmesi planlanmıştır. Anneler, çalışmanın detayları hakkında ve 6. ayda yapılacak olan kontrol seansı hakkında yazılı ve sözlü olarak bilgilendirilmiş olup, çalışmaya katılmaya gönüllü olanlardan imzalı bilgilendirme ve onam formları alınarak çalışmaya dahil edilmişlerdir. Herhangi bir sistemik hastalığı veya ilaç kullanım hikayesi bulunan anneler ve doğumun hemen akabinde sistemik bir hastalık şüphesi olan yenidoğanlar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya 60 anne ve bebek çiftiyle başlanmıştır.

3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya dahil edilen bebekler doğum şekillerine göre 2 ayrı grupta değerlendirilmişlerdir. Başlangıçta çalışmamıza dahil edilen bebeklerin doğum şekline ve cinsiyete göre dağılımı Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Çalışmaya dahil edilen bebeklerin gruplara göre dağılımı

GRUP	KIZ	Erkek	Toplam
Grup 1 (Normal Doğum)	12	16	28
Grup 2 (Sezaryen Doğum)	12	20	32

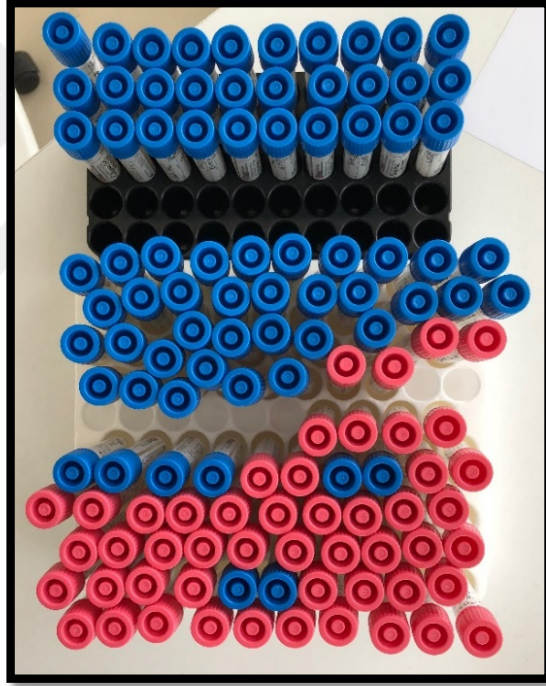
3.4. Birinci Bölüm: Anne ve bebeklerin başlangıç ağız içi muayenelerin yapılması, örneklerin toplanması ve saklanması

Çalışmanın ilk aşamasında, doğumunun üzerinden 48 saatten daha fazla geçmemiş olan bebeklerden tükürük örneği alımı Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Neonatoloji Bilim Dalı'na bağlı, Yenidoğan Servisi'nde gerçekleştirilirken, annelerden tükürük örneği alımı ve ağız içi muayenesi, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na bağlı doğum sonrası servis odalarında gerçekleştirildi. Çalışma kapsamında annelere ve bebeklerine ait genel bilgileri ve bebeğin doğum bilgilerini içeren bir form dolduruldu. Bu form kapsamında, anneye ve bebeğe ait genel sistemik anamnez bilgisi; anneye ait iletişim bilgileri, annenin sigara kullanımı, eğitim durumu, mesleği, oral hijyen ve genel hijyen alışkanlık sıklığı; bebeğe ait doğum zamanı, doğum şekli, doğum kilosu, kaçınıcı çocuk olduğu, örnek alımının doğumdan sonra kaçınıcı saatte alındığı bilgileri sorgulandı ve kayıt altına alındı. Ağız içi muayenesi yapılan annelerin var olan çürük (D), dolgulu dişler (F) ve çekilmiş dişler (M) kaydedildi. Tüm annelere, kendileri ve bebekleri için ağız bakımı ve önemi hakkında oral hijyen eğitimi verildi.

Tükürük örneği toplanmasında likit bazlı, çok amaçlı toplama ve taşıma özelliği olan ve hazır bir şekilde satışı olan toplama çubukları (eSwab, Copan, Italy) (**Şekil 3.1**) kullanıldı. Anne ve bebeklerin ağız içi muayeneleri ve tükürük örneği alımları, tek bir kişi (C.A.) tarafından gerçekleştirildi. Toplama çubuğu, yaklaşık 60 saniyelik süre boyunca, bebeğin ve annenin, yanak mukozası, diş eti, sert ve yumuşak damak mukozası, dil yüzeyi, mandibular kretin tüm lingual yüzü boyunca ve son olarak retromolar bölgesine nazikçe sürülerek tükürük birikintisi toplandı. Toplanan örneğin, başka bir şeyle kontamine olmamasına özen göstererek ve kullanılan toplama çubuklarının kullanım talimatlarına göre kapaklı tüplere yerleştirilerek en kısa sürede soğuk ortama taşındı. Örnekler, qRT-PCR yapılmak üzere laboratuvara götürülene kadar -20 °C'de, dik konumda saklandı (**Şekil 3.2**). Örneklerin laboratuvara götürülmesi buz aküleriyle desteklenmiş soğuk tutma özelliği olan bir çanta ile gerçekleştirildi.



Şekil 3.1. Örnek toplama çubuğu ve saklama tüpleri “eSwab, Copan, Italy”



Şekil 3.2 Örneklerin dik konumda muhafaza edilmesi

3.5. Laboratuvar İşlemleri

Laboratuvar işlemleri, kontaminasyon riskinin olmadığı ve rutin PCR uygulamalarının yapıldığı bir Moleküler Genetik Ar-Ge Laboratuvarı'nda (KrosGen Biyoteknoloji Araştırma Geliştirme San. ve Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) gerçekleştirildi. Örnekler sırasıyla, DNA izolatlarının eldesi ve qRT-PCR işlemine tabi tutuldular.

3.5.1. Örneklerden DNA izolatlarının elde edilmesi

Toplanan tükürük örneklerinden DNA izolatlarının eldesi için, 50 reaksiyonluk, hazır halde bulunan bakteri DNA izolasyon kiti kullanıldı (Bacterial DNA Isolation Kit AMBRD Laboratories, İstanbul) (Şekil 3.3). Her bir örnek için örnek toplama tüpleri içinden alınan 200 µl'lik örnek alımıyla başlandı. DNA izolatlarının eldesi için gerekli son hacim 100 µl olarak belirlendi. Ara uygulamalarda, kullanılan hazır kitin kullanım kılavuzunda belirtilen protokole sağdık kalındı ve 30-45 dk arasında DNA izolasyonu tamamlandı.



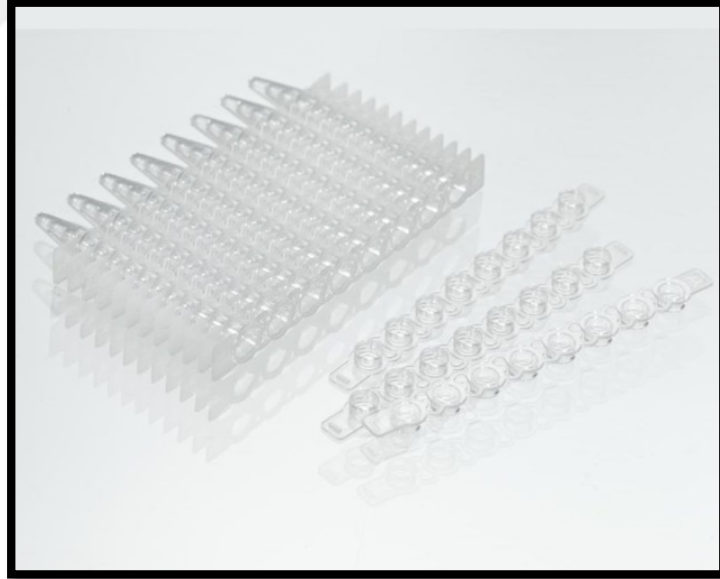
Şekil 3.3 Bakteri izolasyon kiti (Bacterial DNA Isolation Kit AMBRD Laboratories, İstanbul)

3.5.2. Elde Edilen DNA İzolatlarının qRT-PCR İşlemine Tabi Tutulması

Elde edilen DNA izolatlarının qRT-PCR işlemine tabi tutulması için “LightCycler Nano Real-Time” PCR Sistemi (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) ve 8’li şerit halinde bulunan “LightCycler 8-Tube Strips (clear)” (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) kullanıldı. Kullanılan tüpler ve PCR cihazının fotoğrafları aşağıda gösterilmektedir (Şekil 3.4a ve Şekil 3.4b).



Şekil 3.4a PCR cihazı “LightCycler Nano Real-Time” (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)



Şekil 3.4b Çalışmada kullanılan 8 şeritli PCR tüpleri “LightCycler 8-Tube Strips (clear)” (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)

S. mutans ve laktobasillerin varlığının tespiti ve sayılarının belirlenmesi için çoğaltılmak üzere primerler kullanıldı. Primerlerin dizaynı için gen data bankasından yararlanıldı (The National Center for Biotechnology Information).⁽⁵⁹⁾ Kullanılan primerler ve çoğaltılacak gen bölgeleri şu şekildedir:

- *S. mutans* için Glukoziltransferaz-I genindeki 168 bp'lik bölgeyi çoğaltmak için:

“Forward” 5' TGGTGCTCAATCAATTAACGGT 3'

“Reverse” 5' AGTGGTGTATGGCGTCACTT 3'

- Laktobasil türleri için 16S ribozomal RNA genindeki 195 bp'lik bölgeyi çoğaltmak için:

“Forward” 5' TCGCATCGCATAACCGCT 3'

“Reverse” 5' ATTCACTTGCAGGCAATACT 3' primerleri kullanılmıştır.

qRT-PCR işleminin ana unsurlarından olan “SYBR Green I” boyası için, içeriği hazır şekilde sunulan “SensiFAST Probe No-ROX Kit (Bioline, England) (Şekil 3.5) kullanıldı.



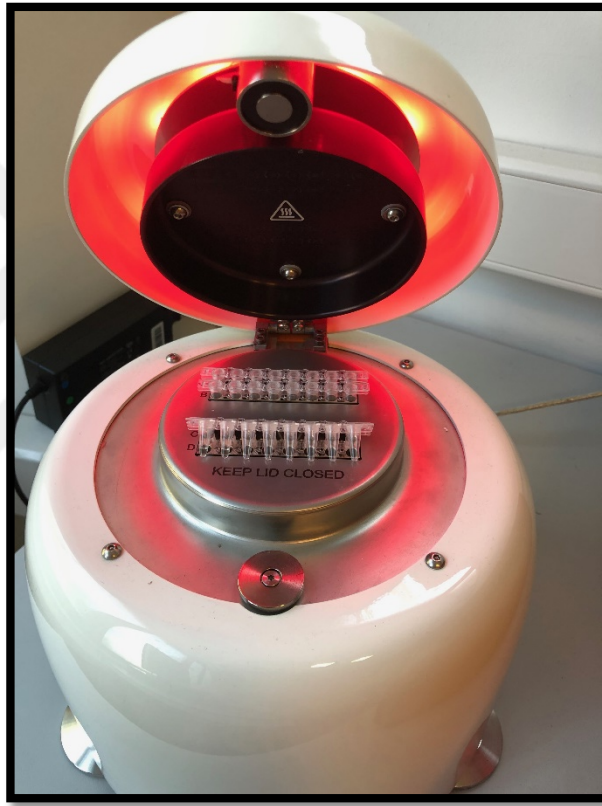
Şekil 3.5 “SensiFAST Probe No-ROX Kit (Bioline, England)

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda, 3 sikluslu yöntem ile reaksiyonlar gerçekleştirildi. qRT-PCR için hazırlanan tüplerin içeriği Tablo 3.2’de verilmektedir. Olası bir kontaminasyon riskinin kontrolü amaçlı, içerisinde genetik materyal hariç, tüm karışımı bulunduran tüp ile negatif kontrol yapıldı.

Tablo 3.2. Real Time PCR içeriği

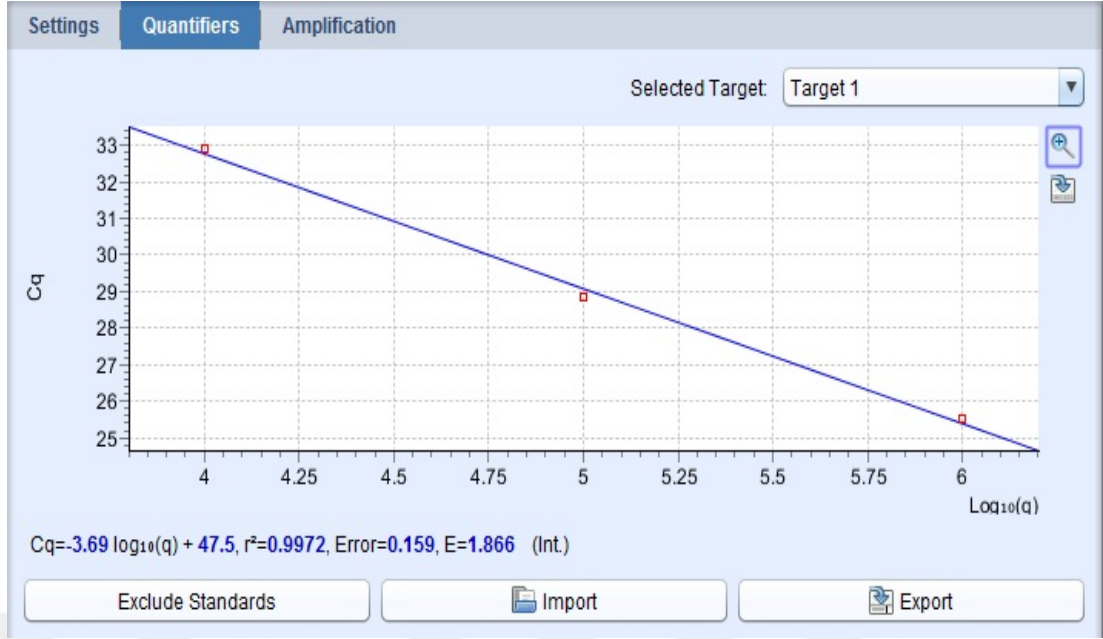
İçerik	Miktar (µl)	Molarite(M)
SYBR Green Master Mix 2X	10	-
Primer Forward	1	500
Primer Reverse	1	500
Su	3	-
Örnek	5	-

Daha sonra tüm karışımı içeren tüpler qRT-PCR cihazına yerleştirildi. Tüplerin PCR cihazına yerleştirilmiş haldeki fotoğrafı Şekil 3.6’da gösterilmektedir.



Şekil 3.6 Tüplerin cihaz içindeki görüntüsü

Bakteri miktarının doğru bir şekilde belirlenebilmesi için PCR işlemine geçilmeden önce ‘Standart Eğri’ oluşturuldu. Hesaplamalar için bu eğri kullanıldı. Standart eğri oluşturmak amacı ile her bir parametre için kopya sayısı bilinen örnekler ile çalışıldı. Başlangıç kopya sayısı 10.000 olacak şekilde düzenlenen ilk örnek sırası ile 1/10 ve 1/100 dilüsyona tabi tutularak her bir parametre için belirlilik katsayısı (r^2) değeri hesaplandı. Eşik döngü sayısı ($C_q=C_t$), reaksiyonun verimliliği (E), hata yapma olasılığı (Error), belirlilik katsayısı (r^2) değeri de gösterildiği standart eğri grafiği her bakteri için ayrı ayrı olacak şekilde Şekil 3.7a ve Şekil 3.7b’de gösterildi.



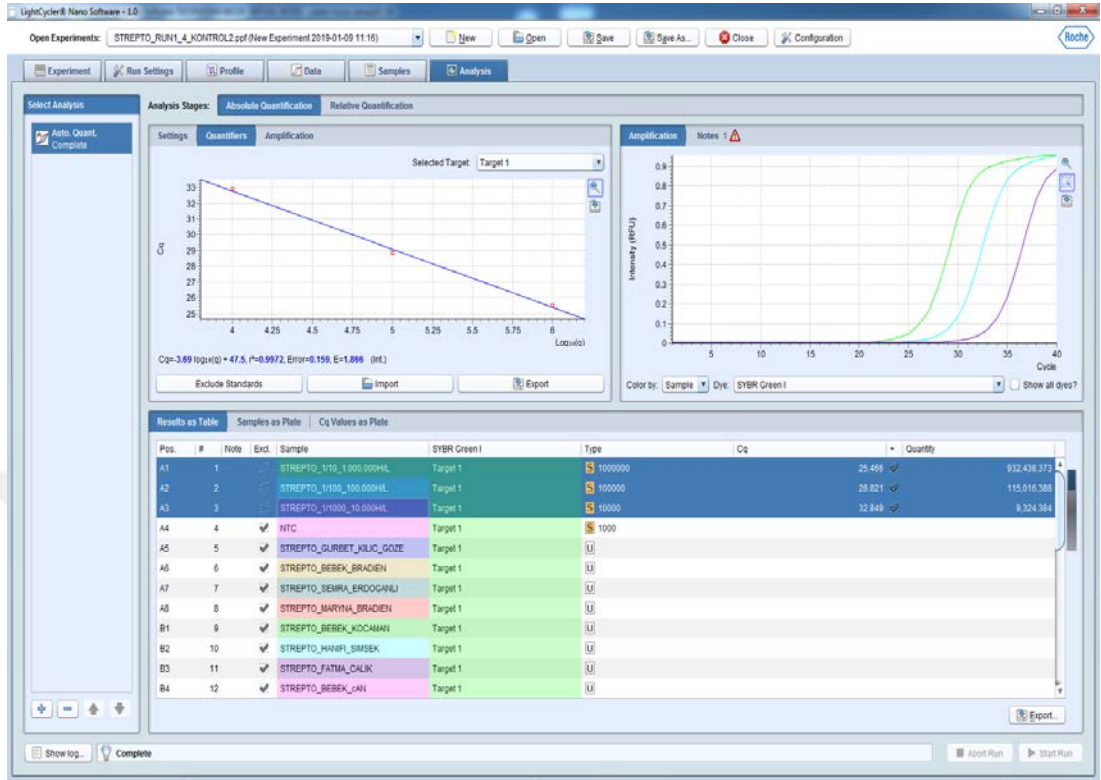
Şekil 3.7a. *S. mutans* için oluşturulan standart eğri ve değerler



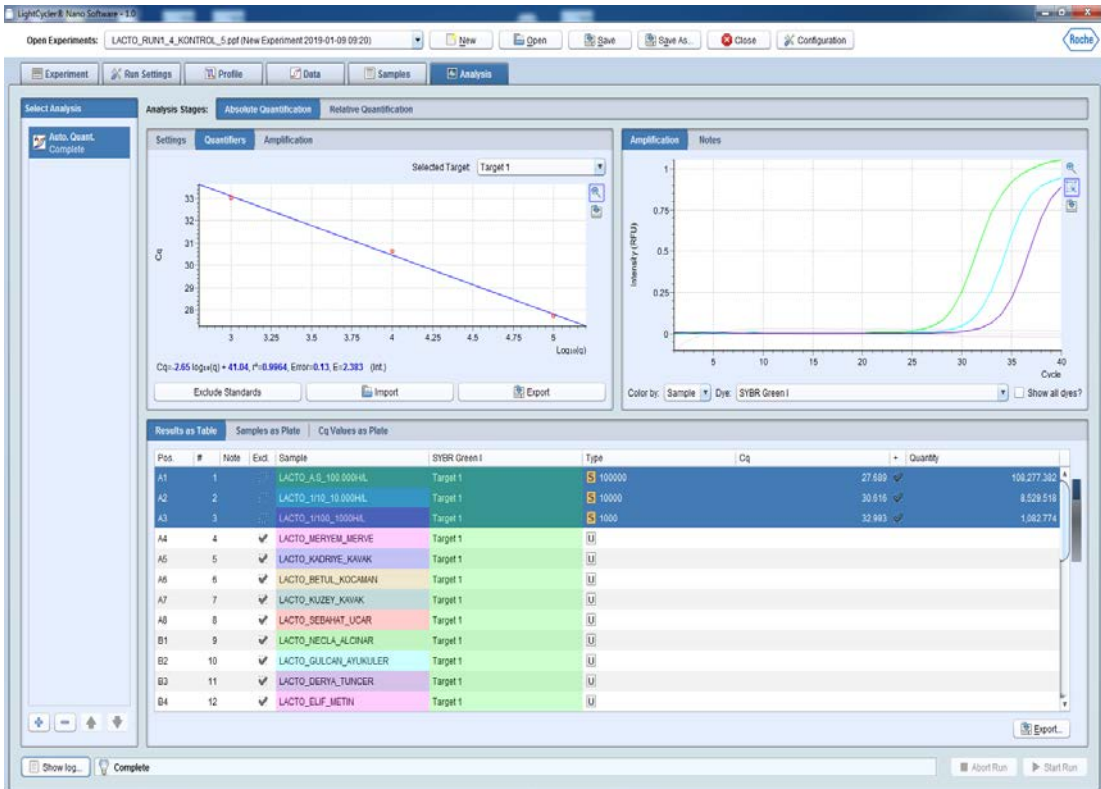
Şekil 3.7b. Laktobasil türleri için oluşturulan standart eğri ve değerler

Yapılan standart eğri çalışmasının ardından her örnekte qRT-PCR uygulaması yapıldı ve bulunan C_t değerleri'ne göre hesaplama tamamlanarak sayısal verilere ulaşıldı. İşlemin bilgisayara görüntü olarak aktarımı ve sonuçların sayısal hesaplamaları "LightCycler Nano Software" (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) programı ile kolayca elde edildi. Sonuçlar 1 mililitre (ml)'de bulunan DNA kopya sayısı (kopya/mL) olarak kaydedildi. Bizim örneklerimizde *S. mutans* ve laktobasil

türleri için alınan sonuçların, bilgisayar ekranına yansıyan görüntülerine örnek olarak Şekil 3.8a ve Şekil 3.8b verildi.



Şekil 3.8a. *S. mutans* için sonuç ekran görüntüsü



Şekil 3.8b. Laktobasil türleri için sonuç ekran görüntüsü

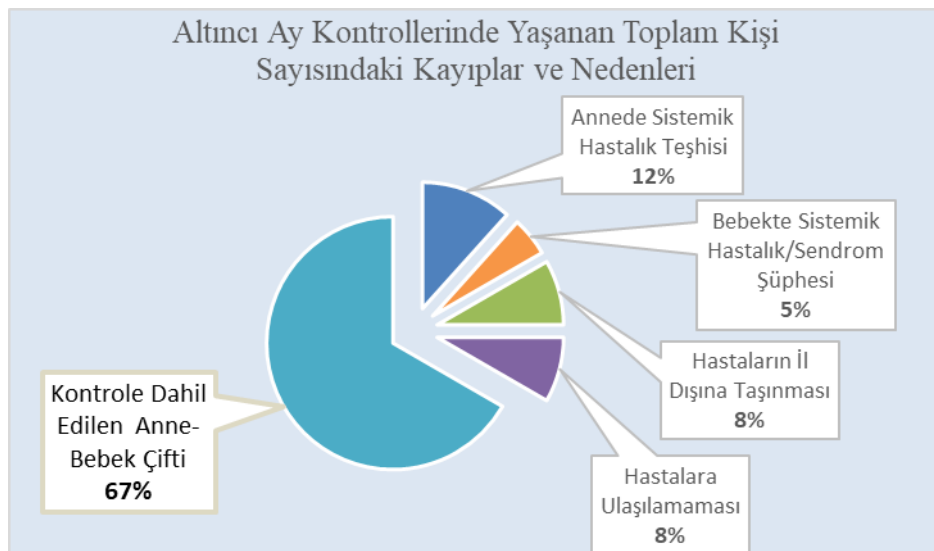
Örnekler, qRT-PCR cihazında kullanılan kitin prospektüsüne uygun şekilde amplifiye edildi. Reaksiyonun tüm aşamaları, sıcaklık dereceleri ve süreleri tablo 3.3'te özetlendi.

Tablo 3.3. qRT-PCR aşamaları, sıcaklık dereceleri ve süreleri

Sıcaklık (°C)	Süre (Saniye)	Siklus Sayısı	İşlemler
95	120	1 Siklus	Polimeraz aktivasyonu
95	5	40 Siklus	Denaturasyon
60	10		Birleşme ve tekrar ayrılma
72	15		Uzama (İşlem bitene kadar)

3.6. İkinci Bölüm: Altıncı Ay Kontrol Örneklerinin Toplanması, Saklanması ve Çalışmanın Sonlandırılması

Çalışmamızın kontrol seansı olan ve ikinci tükürük örneklerinin toplanması aşaması için 6. ayda, tüm hastalar telefonla aranarak bilgilendirildi ve randevuları oluşturuldu. Çalışmamızın birinci bölümüne dahil edilen 60 anne ve bebek çiftinden oluşan çalışma grubumuzdan 5'i il dışına taşındığı için, annelerin 7'sinde doğum sonrası sistemik hastalık teşhisi konduğu için, bebeklerin 3'ünde araştırılmaya başlanmış ve teşhisi konulamamış sistemik hastalık ve/veya sendrom şüphesi bulunduğu için, 5'ine de doğum sonrası hiçbir şekilde (telefonla arayarak veya adreslerine gidilerek) ulaşamadığından, çalışmamızın ikinci bölümü 40 anne bebek çifti ile gerçekleştirilebildi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Çalışmamızın ikinci bölümünde çalışma dışı kalan toplam 20 anne ve bebek çiftinin dağılımı

Altıncı ay kontrolleri ve tükürük örneği alımları, çalışmamızın birinci bölümünde muayene ve örnek alımını gerçekleştiren aynı ve tek bir kişi (C.A.) tarafından, Akdeniz Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı Kliniği'nde gerçekleştirildi. Kontrol randevusunda ilk olarak, annelere ve bebeklere ait genel bilgiler ile bebeklerin bakım şekline dair bilgileri içeren çalışma formu dolduruldu. Bu form kapsamında sorgulanan bilgiler şöyledir:

- Anne ve bebeğe ait genel sistemik hastalık anamnez bilgisi,
- Anneye ait oral hijyen ve genel hijyen alışkanlığı bilgileri,
- Bebeğin bakımıyla kimin ilgilendiği,
- Bebeğin oral hijyen ve genel hijyen uygulamalarının sıklığı,
- Bebeğin beslenme şekli,
- Bebeğin biberon kullanımı, var ise içeriği ve zamanı,
- Emzik kullanımı, var ise emziğin herhangi bir gıdaya batırılıp batırılmadığı,
- Biberon, emzik veya yemek verilen kaşığın çeşitli nedenlerle (yemeğin sıcaklığını/tadını kontrol vb.) önce anne ağzına alınıp sonra bebeğe verilmesi,
- Bebeği severken dudaktan öpme alışkanlıklarının bulunup bulunmadığı,
- Bebeğin şekerli gıda tüketim varlığı ve var ise içeriği sorgulandı.

Ortak kaşık kullanımı ve dudaktan öpme alışkanlığı aynı başlık altında toplandı (ortak kaşık kullanımı/dudaktan öpme). Bazı annelerin ek gıdaya geçilsin ya da geçilmesin bebeklerine pekmez, bal, taze meyve suyu veya püresi gibi şekerli gıdalardan verdikleri bilgisi alındı. Tüm bunlar şeker tüketimi başlığı altında toplandı.

Annelerin ağız içi muayeneleri tekrar edildi ve DMFT skorlarında bir değişim varsa kaydedildi. Bebekler diş ve çene kemiği gelişimi açısından muayene edildi (Şekil 3.10). Daha sonra ilk örneklerle aynı şekilde ve tamamen aynı standartlarda, ikinci tükürük örnekleri toplandı. Toplanan örnekler, ilk örneklerle tamamen aynı koşullarda saklandı (-20 °C) ve laboratuvara götürüldü. Son olarak, örnekler çalışmamızın birinci bölümünde belirtilen protokolle birebir aynı şekilde qRT-PCR işlemine tabi tutuldular.



Şekil 3.10. Bebekte 6. ay kontrol muayenesi ve tükürük örneği alımı

3.7. Sonuçların İstatistiksel Analizi

Elde edilen veriler SPSS paket programına (SPSS 18.00 for Windows, Chicago, IL, ABD) girilerek, tanımlayıcı istatistikler (minimum, maksimum, ortalama, standart sapma vb.), korelasyon analizi ve karşılaştırma testleri gerçekleştirildi.

Nicel (kantitatif) verilerin karşılaştırmasında, parametrik koşulların sağlanması (Levene's Test) durumunda "Student T" testi, grupların tekrarlayan ölçümlerinde tek yönlü varyans analizi ve alt grup karşılaştırmalarında ise Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

Parametrik koşulların sağlanamadığı durumlarda, nitel (kalitatif) verilerin incelenmesinde ve grupların karşılaştırılmasında, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U, Wilcoxon ve ki kare (χ^2) testleri kullanıldı.

Sonuçlar %95'lik güven aralığında, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda elde edilen verilerin değerlendirilmeleri iki bölümde ele alınmıştır. Birinci bölümde, çalışma başlangıcında, 60 anne ve bebekten elde edilen sonuçlar değerlendirilmiş olup, ikinci bölümde ise 40 anne ve bebekten altıncı ay kontrollerinde elde edilen sonuçların değerlendirmesi yapılmıştır.

4.1. Birinci Bölüm: Çalışma Başlangıcında 60 Anne ve Bebekten Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

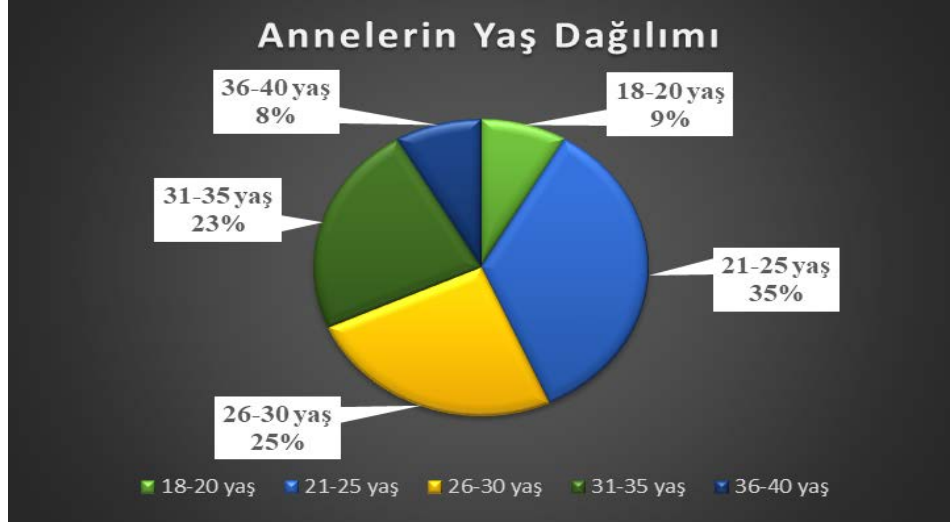
Bu bölümde, çalışmamızın başlangıç aşaması olan doğum anından itibaren ilk 48 saat içinde tükürük örnekleri alınmış olan 60 anne-bebek çiftine ait bulgular değerlendirilmiştir.

4.1.1. Çalışmaya Katılan Annelerin Sosyodemografik Özelliklerinin ve DMFT'lerinin Değerlendirilmesi

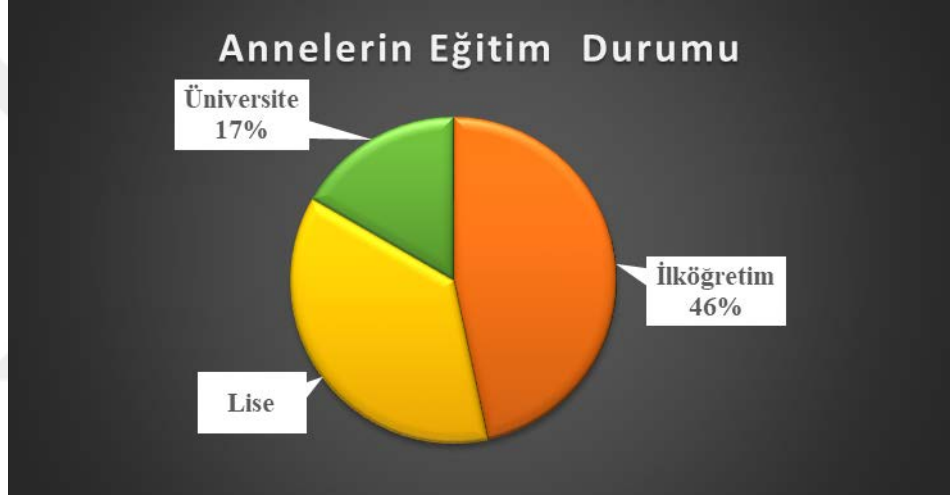
Çalışmamızın birinci bölümüne, yaşları 18-40 (ort: $27,5 \pm 5,4$) arası değişen, herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan, toplam 60 yenidoğan bebek ve anneleri dahil edilmiştir. Anneler, yaşlarına göre 18-20 yaş (5 kişi), 21-25 yaş (21 kişi), 26-30 yaş (15 kişi), 31-35 yaş (14 kişi) ve 36-40 yaş (5 kişi) şeklinde gruplandırılarak elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen annelerin eğitim durumları incelendiğinde; 28'inin ilköğretim mezunu, 22'sinin lise mezunu, 10'unun da üniversite mezunu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca annelerin 18'inin çalıştığı, 42'sinin ise ev hanımı olduğu saptanmıştır. Çalışmamız kapsamında değerlendirmeleri yapılan annelerin yaş ve eğitim durumuna göre dağılımları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Çalışmamıza dahil olan annelerin 8'inin (%13) hamilelik süresince sigara kullanımının olduğu, 52'sinin (%87) ise kullanmadığı bilgisi alınmıştır.

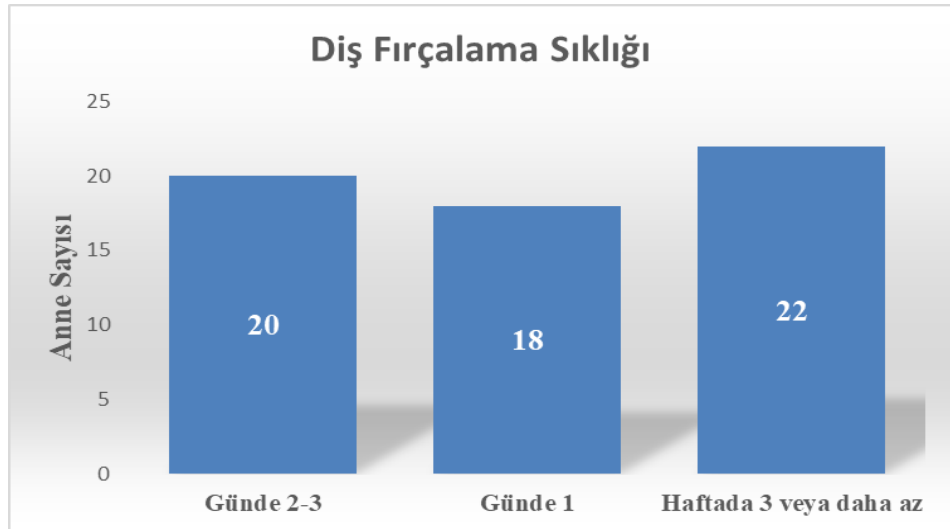
Oral hijyen alışkanlıkları değerlendirilen anneler, %33,3'ü günde 2-3 kez; %30'u günde 1 kez; %36,7'si ise haftada 3 veya daha az dişlerini fırçaladığını belirtmiştir. (Şekil 4.3).



Şekil 4.1. Annelerin yaş gruplarına göre dağılımları

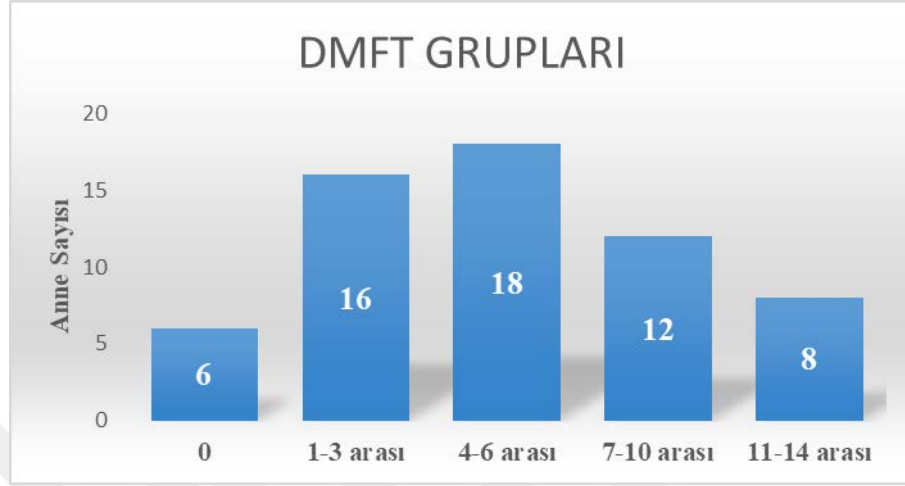


Şekil 4.2. Annelerin eğitim durumlarına göre dağılımları



Şekil 4.3. Annelerin diş fırçalama sıklıklarına göre dağılımları

DMFT'leri değerlendirilen 60 anneden 6'sının DMFT değeri 0 iken (%10), 16'sının 1-3 arası (%20), 18'nin 4-6 arası (%30), 12'sinin 7-10 arası (%20) ve 8'inin ise 11-14 arası (%13) DMFT değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm annelerin ortalama DMFT değeri $5,45 \pm 3,8$ olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Annelerin DMFT aralıklarına göre dağılımları

4.1.1.1. Annelerin Tükürük Örneklerinden Elde Edilen *S. mutans* ve Laktobasil DNA kopyası Miktarlarının Değerlendirilmesi

Çalışmamıza katılan 60 annenin 8'inde (%13) herhangi bir *S. mutans* DNA kopyası tespit edilemezken, 52'sinde (%87) *S. mutans* DNA'sı tespit edilmiştir. Annelerin tükürüğündeki *S. mutans* DNA kopya sayısı 0 ile $21,39 \times 10^6$ kopya/mL arasında değişmekte olup, ortalama değer $0,89 \times 10^6 \pm 3,12 \times 10^6$ kopya/mL olarak hesaplanmıştır.

Annelerden alınan tükürük örneklerinden, laktobasil varlığı değerlendirildiğinde, 38'inde (%63) laktobasil DNA'sı varlığı tespit edilemezken, 22'sinde (%37) laktobasil DNA'sı tespit edilebilmiştir. Altmış annenin tükürükteki laktobasil kopya sayılarının 0 ile $8,56 \times 10^6$ kopya/mL arasında değişmekte olduğu ve ortalamasının ise $0,16 \times 10^4 \pm 1,10 \times 10^4$ kopya/mL olduğu saptanmıştır.

Annelerden ve bebeklerden elde edilen, *S. mutans* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık ($p=0,03$) saptanırken, laktobasil sayıları arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0,247$).

Yaşları gruplandırılan annelerin *S. mutans* DNA kopya sayıları karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğu ($p=0,017$) ve bu farklılığın 18-20 yaş grubundaki annelerden elde edilen *S. mutans* DNA kopya

sayılarının diğer yaş gruplarına göre daha yüksek olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Diğer yaş grupları arasında ise *S. mutans* DNA kopya sayıları bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). (Tablo 4.1)

Tablo 4.1 Anne ve Bebek *S. mutans* ve laktobasil miktarlarının anne ile ilgili faktörlere göre dağılımı

	Gruplar	N	Anne SM	Anne LB	Bebek SM	Bebek LB
			(Ort±SS)×10 ⁶ kopya/mL	(Ort±SS)×10 ³ kopya/mL	(Ort±SS)×10 ³ kopya/mL	(Ort±SS) kopya/mL
Annenin Yaş Grupları	18-20 Yaş	5	(5,16±9,14)×10 ⁶	(0,75±1,02)×10 ³	(0,06±0,14)×10 ³	0,00±0,00
	21-25 Yaş	21	(1,10±2,52)×10 ⁶	(0,32±0,80)×10 ³	(0,61±1,78)×10 ³	2,28±7,64
	26-30 Yaş	15	(0,12±0,28)×10 ⁶	(5,91±22,05)×10 ³	(0,30±0,58)×10 ³	0,00±0,00
	31-35 Yaş	14	(0,21±0,27)×10 ⁶	(0,07±0,22)×10 ³	(0,15±0,24)×10 ³	27,50±102,89
	36-40 Yaş	5	(0,017±0,028)×10 ⁶	(0,003±0,007)×10 ³	(0,84±1,48)×10 ³	0,00±0,00
P değeri			0,017	0,577	0,656	0,562
Anne Eğitim Durumu	İlköğretim	28	(0,65±1,05)×10 ⁶	(3,31±16,14)×10 ³	(0,33±0,74)×10 ³	0,57±3,02
	Lise	22	(1,59±5,00)×10 ⁶	(0,03±0,06)×10 ³	(0,61±1,74)×10 ³	0,00±0,00
	Üniversite	10	(0,06±0,01)×10 ⁶	(0,008±0,01)×10 ³	(0,12±0,27)×10 ³	41,70±121,04
P Değeri			0,381	0,569	0,513	0,054
Anne Meslek	Çalışıyor	18	(0,31±0,51)×10 ⁶	(0,19±0,50)×10 ³	(0,10±0,20)×10 ³	23,16±90,61
	Ev Hanımı	42	(1,14±3,70)×10 ⁶	(2,30±13,18)×10 ³	(0,52±1,38)×10 ³	0,38±2,46
P Değeri			0,348	0,503	0,210	0,105
Sigara Kullanımı	Var	8	(0,86±0,95)×10 ⁶	(11,08±30,12)×10 ³	(0,15±0,28)×10 ³	0,00±0,00
	Yok	52	(0,90±3,33)×10 ⁶	(0,22±0,62)×10 ³	(0,43±1,25)×10 ³	8,32±53,48
P Değeri			0,974	0,008	0,527	0,664
Anne Oral Hijyen	Günde 2	20	(1,41±4,75)×10 ⁶	(0,14±0,45)×10 ³	(0,67±1,93)×10 ³	19,25±86,08
	Günde 1	18	(0,14±0,23)×10 ⁶	(5,09±20,11)×10 ³	(0,33±0,53)×10 ³	1,77±7,54
	Haftada 3'ten az	22	(1,05±2,47)×10 ⁶	(0,26±0,59)×10 ³	(0,20±0,36)×10 ³	0,72±3,41
P Değeri			0,447	0,295	0,421	0,423
Anne DMFT Aralığı	Yok	6	(0,65±1,58)×10 ⁶	0,00±0,00	(0,10±0,21)×10 ³	64,16±157,17
	1-3 arası	16	(0,08±0,13)×10 ⁶	(0,28±0,70)×10 ³	(0,54±2,02)×10 ³	0,00±0,00
	4-6 arası	18	(1,02±2,65)×10 ⁶	(4,96±20,13)×10 ³	(0,28±0,54)×10 ³	1,77±7,54
	7-10 arası	12	(2,15±6,09)×10 ⁶	(0,28±0,84)×10 ³	(0,50±1,02)×10 ³	1,33±4,61
	11 üstü	8	(0,53±0,58)×10 ⁶	(0,39±0,70)×10 ³	(0,44±0,55)×10 ³	0,00±0,00
P Değeri			0,537	0,696	0,931	0,062

Laktobasil DNA sayıları annelerin yaş gruplarına göre kıyaslandığında ise, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). (Tablo 4.1)

Sigara içen ve içmeyen annelerden elde edilen *S. mutans* DNA miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$). (Tablo 4.1)

Ancak, sigara içen ve içmeyen annelerden elde edilen laktobasil DNA miktarları değerlendirildiğinde ise sigara içmeyen annelerden elde edilen laktobasil miktarının sigara içen annelere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p=0,008$). (Tablo 4.1)

Annelerin eğitim durumlarının, çalışma durumlarının, diş fırçalama alışkanlıklarının ve DMFT bulgularının elde edilen *S. mutans* ve laktobasil DNA kopya sayılarına olan etkileri tablo 4.1’de özetlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

4.1.2. Çalışmaya Dahil Edilen Bebeklerin Genel Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ilk bölümüne dahil edilen 60 bebeğin 36’sı (%60) erkek, 24’ü kız (%40) olup, bunlardan 28’inin normal doğumla, 32’sinin ise sezaryen doğumla dünyaya geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.5).

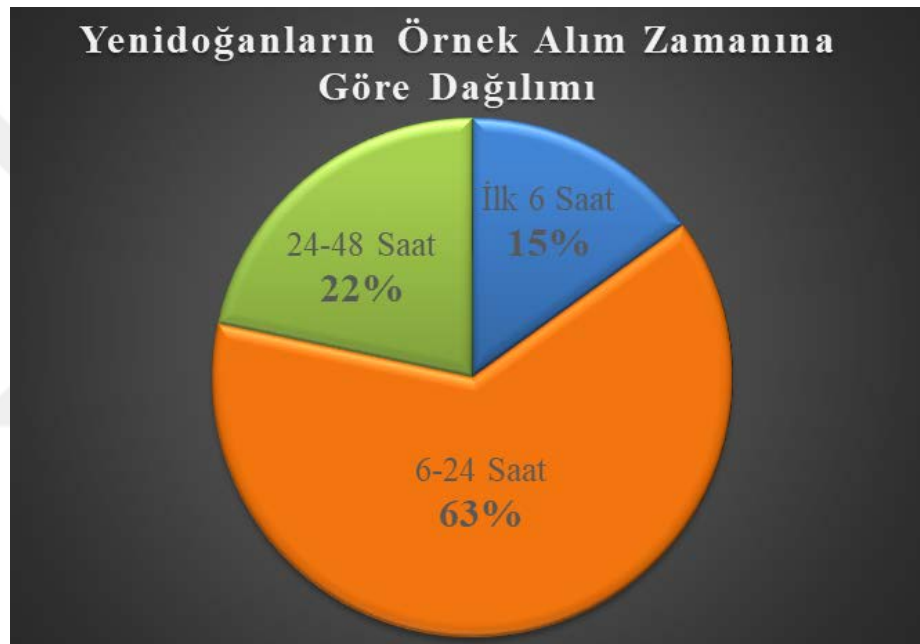
Bebekler doğum zamanlarına göre preterm ve term olarak iki ayrı grupta incelenmiş olup, 10 bebek (%17) preterm, 50 bebek de term (%83) olarak kaydedilmiştir. Bu bebeklerin doğum anında yapılan kilo ölçümlerine göre 5’inin (%8) DDA’lı, 55’inin (%92) normal doğum ağırlıklı olarak doğduğu saptanmıştır.



Şekil 4.5 Yenidoğanların doğum şekline göre dağılımı

Çalışmamıza doğumdan itibaren en fazla 48 saat geçmiş olan bebekler dahil edilmiş olup, bu bebeklerden başlangıçta alınan tükürük örnekleri alım zamanlarına göre, ilk 6 saat, 6-24 saat arası ve 24-48 saat arası olarak 3 farklı grupta incelenmiştir. Örnek alım zamanına göre oluşturulan grupların yüzdeler dağılımı Şekil 4.6'te gösterilmiş olup, 9 bebekten doğum sonrası ilk 6 saatte, 38 bebekten 6-24 saat aralığında, 13 bebekten ise 24-48 saat aralığında tükürük örneği alımı gerçekleştirilmiştir.

Altmış bebeğin ailedeki kaçınıcı çocuk olduğu bilgisi değerlendirildiğinde, 26 (%43) bebeğin ailenin ilk çocuğu olduğu, 22'sinin (%37) ikinci çocuk, 7'sinin (%12) üçüncü çocuk, 5'inin (%8) ise dördüncü çocuk olduğu görülmüştür.



Şekil 4.6 Yenidoğanların örnek alınma zamanına göre dağılımı

4.1.2.1. Bebeklerin Tükürük Örneklerinden Elde Edilen *S. mutans* ve Laktobasil DNA kopyası Miktarlarının Bebeklerin Genel Bulgularına Göre Değerlendirilmesi

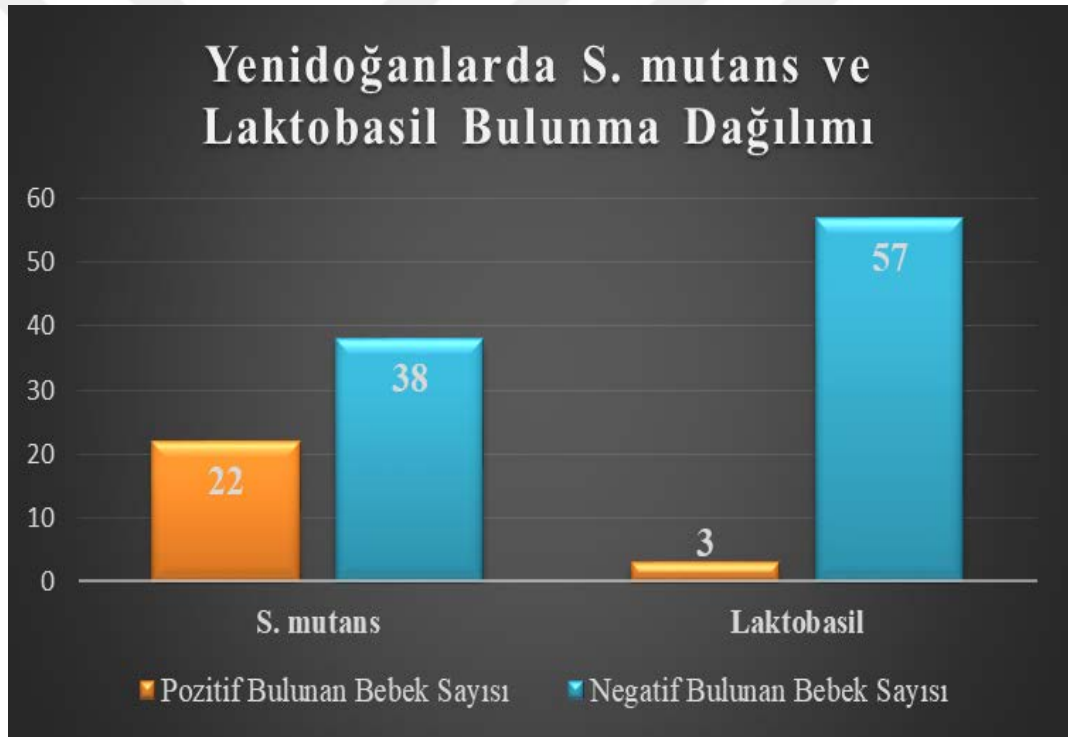
Bebeklerden alınan tükürük örneklerinin değerlendirilmesi sonucunda, 38 (%63) bebekte *S. mutans* DNA'sı bulunamazken, 22 (%37) bebekte *S. mutans* DNA'sı tespit edilmiştir. Ortalama *S. mutans* DNA sayısı $0,40 \times 10^3 \pm 1,17 \times 10^3$ kopya/mL olarak hesaplanmıştır. Bebeklerin tükürüğünde *S. mutans* varlığının bebek sayısına göre dağılımı Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

Aynı tükürük örnekleri laktobasil varlığı açısından değerlendirildiğinde 3 (%5) bebekte laktobasil DNA'sı tespit edilebilmişken, 57 (%95) bebekte tespit

edilememiştir (Şekil 4.7). Bebeklerden elde edilen ortalama laktobasil miktarı $7,21 \pm 49,80$ kopya/mL olarak hesaplanmıştır.

Bebeklerin tükürüklerinden elde edilen *S. mutans* ve laktobasil DNA sayıları, bebeklerin doğum şekillerine göre değerlendirildiğinde, normal ve sezaryen doğumla dünyaya gelen bebekler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p > 0,05$) (Tablo 4.2).

Bebeklerin cinsiyetinin, doğum zamanının, doğum ağırlığının ve ailedeki kaçınıcı çocuk olduğunun ve tükürük örneklerinin alım zamanının, elde edilen *S. mutans* ve laktobasil miktarları üzerine etkileri Tablo 4.2’de özetlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.7. *S. mutans* ve Laktobasil tespit edilen ve edilemeyen bebeklerin sayısı

Tablo 4.2 Bebek S. mutans ve Laktobasil miktarlarının gruplara göre dağılımı

	Gruplar	N	Bebek SM	Bebek LB
			(Ort±SS)×10 ³ kopya/mL	Ort±SS kopya/mL
Bebek Cinsiyet	Erkek	36	(0,22±0,40) ×10 ³	11,13±64,14
	Kız	24	(0,66±1,78) ×10 ³	1,33±6,53
P Değeri			0,158	0,460
Doğum Şekli	Normal	28	(0,57±1,64) ×10 ³	14,89±72,78
	Sezaryen	32	(0,25±0,48) ×10 ³	0,50±2,82
P Değeri			0,298	0,268
Doğum Ağırlığı	DDA	5	(0,20±0,34) ×10 ³	0,00±0,00
	NA	55	(0,41±1,22) ×10 ³	7,87±52,01
P Değeri			0,697	0,738
Doğum Zamanı	Preterm	10	(0,30±0,49) ×10 ³	4,80±10,79
	Term	50	(0,42±1,27) ×10 ³	7,70±54,44
P Değeri			0,778	0,868
Örnek Alınma Zamanı	İlk 6 saat	9	(1,05±2,65) ×10 ³	3,55±10,66
	6-24 saat	38	(0,25±0,66) ×10 ³	10,55±62,43
	24-48 saat	13	(0,36±0,59) ×10 ³	0,00±0,00
P Değeri			0,192	0,788
Bebeğin ailedeki kaçınıcı çocuk olduğu	1	26	(0,45±1,59) ×10 ³	16,65±75,44
	2	22	(0,24±0,50) ×10 ³	0,00±0,00
	3	7	(0,58±1,27) ×10 ³	0,00±0,00
	4	5	(0,52±0,66) ×10 ³	0,00±0,00
P Değeri			0,886	0,659

4.1.2.2. Bebeklerin *S. mutans* ve Laktobasil Miktarlarının Annelerinin Sosyodemografik ve DMFT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi

Çalışmamıza dahil olan tüm bebeklerden alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* miktarları, bebeklerin annelerinin yaş gruplarına göre karşılaştırılmış ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Bebeklerin, annelerinin yaş gruplarına göre tespit edilen *S. mutans* miktarları Tablo 4.1’de özetlenmiştir.

Bebeklerin tükürük örneklerindeki laktobasil miktarları değerlendirildiğinde ise, 18-20 yaş, 26-30 yaş ve 36-40 yaş gruplarındaki annelerin bebeklerinde laktobasil DNA’sı tespit edilememiş olup yaş grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Tüm yaş grupları arasında yapılan bebek laktobasil miktarları tablo 4.1’de özetlenmiştir.

Annelerin eğitim durumları, çalışma durumları ve sigara içme durumları ile bebeklerinin *S. mutans* ve laktobasil dağılımları tablo 4.1 de özetlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Altmış bebeğin *S. mutans* ve laktobasil miktarları, annelerinin diş fırçalama sıklıkları ve DMFT değerlerine göre kıyaslanmıştır (Tablo 4.1). Gruplar arasında sayısal farklılıklar olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

4.2. İkinci Bölüm: Altıncı Ay Kontrolleri Yapılan 40 Anne ve Bebekten Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen 60 bebek ve anne çiftinin 6. ay kontrollerinin yapılmasının amaçlandığı çalışmamızın ikinci bölümü, çeşitli nedenlerle çalışma dışı kalan bebek ve anne çiftleri nedeniyle, 40 bebek ve anne çifti ile gerçekleştirilebilmiştir. Çalışmamız bulgularının değerlendirilmesinin ikinci bölümünde, birinci bölümde yapılan değerlendirmelerin tümü 6. ayda da tekrarlanmış olup, ayrıca başlangıç ve 6. ayda elde edilen veriler birbiriyle karşılaştırılmıştır.

4.2.1. Anne ve Bebeklerin Sosyodemografik Özellikleri ve Doğuma Ait Bulguların Tekrar Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ikinci bölümüne dahil edilen 40 annenin yaş ortalaması $27,35\pm 5,48$ olarak hesaplanmıştır. Altıncı ayda tükürük örneği alınan 40 annenin yaş grubuna, eğitim durumuna, çalışma durumuna, sigara kullanımına, diş fırçalama sıklığına ve

DMFT değerlerine göre dağılımları tekrar değerlendirilmiş olup, tablo 4.3'te özetlenmiştir.

Çalışmamızın altıncı ay değerlendirmelerine dahil edilen toplam 40 bebek hastanın cinsiyetine, doğum şekline, doğum ağırlığına, doğum zamanına, örnek alım zamanına ve ailedeki kaçınıcı çocuk olduğuna göre dağılımlarında değişiklikler tespit edilmiş olup, gruplara göre dağılımları tablo 4.4'te özetlenmiştir.

4.2.2. Kırk Anne ve Bebekten Birinci Bölümde Toplanan Tükürük Örneklerindeki *S. mutans* ve Laktobasil Sayılarının Tekrar Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil olan 40 anne ve bebek çiftinin, birinci aşamada alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayıları tekrar değerlendirilmiştir. Buna göre annelerin *S. mutans* sayılarının ortalaması $(1,22\pm 3,78)\times 10^6$ kopya/mL; bebeklerinki ise $(0,40\pm 1,31)\times 10^3$ kopya/mL olarak hesaplanmıştır. Laktobasil sayılarının ortalaması ise, annelerde $(0,34\pm 0,74)\times 10^3$ kopya/mL; bebeklerde $(0,10\pm 0,60)\times 10^2$ kopya/mL olarak kaydedilmiştir. Ayrıca anne ve bebeklerdeki *S. mutans* ve laktobasil DNA kopya sayıları kıyaslandığında, bebek ve annelerinin *S. mutans* sayısı için $p=0,048$, laktobasil sayısı için de $p=0,007$ olarak hesaplanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil edilen 40 bebek ve annenin *S. mutans* ve laktobasil DNA kopya sayılarının, anneye ait gruplara göre dağılımı Tablo 4.3'te verilmiştir. Kırk bebek ve annesine göre tekrar yapılan hesaplamalarda, ilk değerlendirmelerde olduğu gibi, annelerin yaş grupları arasında *S. mutans* sayısı açısından anlamlı bir fark tespit edilmiş olup ($p=0,041$), bu farkın 18-20 yaş grubundaki annelerden kaynaklandığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Aynı gruplar, anne ve bebeklerin laktobasil sayıları açısından değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,233$).

Ayrıca, annelerin eğitim durumu, çalışma durumu, sigara kullanımı, oral hijyen ve DMFT gruplarına göre, *S. mutans* ve laktobasil sayıları tekrar değerlendirilmiştir (Tablo 4.3). Bu grupların hiçbiri arasında bakteri sayısı açısından istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3 Altıncı ay kontrolleri yapılan 40 anne ve bebekteki *S. mutans* ve Laktobasil miktarlarının anne ile ilgili gruplara göre dağılımı

			İlk 48 Saatte Alınan Tükürüklerdeki <i>S. mutans</i> ve Laktobasil Sayısal Bulguları			
Anneyle İlgili Gruplar		N	Anne SM (Ort±SS)×10 ^x kopya/mL	Anne LB (Ort±SS)×10 ^x kopya/mL	Bebek SM (Ort±SS)×10 ^x kopya/mL	Bebek LB Ort±SS kopya/mL
Yaş Dağılımı	18-20	4	(6,43±10,03)×10 ⁶	(0,93±1,07)×10 ³	0±0	0±0
	21-25	14	(1,43±3,02)×10 ⁶	(0,48±0,95)×10 ³	(0,90±2,14)×10 ³	3,42±9,26
	26-30	9	(0,15±0,36)×10 ⁶	(0,33±0,64)×10 ³	(0,12±0,27)×10 ³	0±0
	31-35	10	(0,14±0,20)×10 ⁶	(0,01±0,05)×10 ³	(0,18±0,27)×10 ³	38,50±121,74
	36-40	3	(0,02±0,03)×10 ⁶	(0,005±0,009)×10 ³	(0,25±0,38)×10 ³	0±0
P Değeri			0,041	0,233	0,577	0,617
Eğitim	İlköğretim	16	(0,90±1,25)×10 ⁶	(0,43±0,91)×10 ³	(0,32±0,53)×10 ³	1,00±4,00
	Lise	16	(2,10±5,82)×10 ⁶	(0,37±0,74)×10 ³	(0,62±2,01)×10 ³	0±0
	Üniversite	8	(0,08±0,14)×10 ⁶	(0,10±0,18)×10 ³	(0,15±0,29)×10 ³	52,12±134,96
P Değeri			0,436	0,589	0,681	0,098
Meslek	Çalışıyor	12	(0,20±0,33)×10 ⁶	(0,22±0,57)×10 ³	(0,11±0,22)×10 ³	34,75±110,68
	Ev Hanımı	28	(1,65±4,46)×10 ⁶	(0,39±0,81)×10 ³	(0,53±1,55)×10 ³	0,57±3,02
P Değeri			0,271	0,494	0,365	0,105
Sigara	Var	5	(0,79±1,07)×10 ⁶	(0,43±0,87)×10 ³	(0,24±0,34)×10 ³	0±0
	Yok	35	(1,28±4,03)×10 ⁶	(0,33±0,73)×10 ³	(0,43±1,39)×10 ³	12,37±65,11
P Değeri			0,792	0,781	0,771	0,677
Oral Hijyen (İlk Verilere Göre)	Günde 2-3	13	(2,08±5,85)×10 ⁶	(0,21±0,55)×10 ³	(0,77±2,25)×10 ³	29,61±106,77
	Günde 1	10	(0,09±0,12)×10 ⁶	(0,51±1,07)×10 ³	(0,23±0,31)×10 ³	3,20±10,11
	Haftada 3≥	17	(1,22±2,78)×10 ⁶	(0,34±0,66)×10 ³	(0,23±0,40)×10 ³	0,94±3,88
P Değeri			0,469	0,641	0,484	0,409
DMFT Değerleri	0	5	(0,78±1,74)×10 ⁶	0±0	(0,12±0,23)×10 ³	77,00±172,17
	1-3	10	(0,09±0,15)×10 ⁶	(0,45±0,86)×10 ³	(0,81±2,56)×10 ³	0±0
	4-6	12	(1,42±3,20)×10 ⁶	(0,30±0,57)×10 ³	(0,28±0,49)×10 ³	2,66±9,23
	7-10	7	(3,38±7,96)×10 ⁶	(0,47±1,10)×10 ³	(0,30±0,56)×10 ³	2,28±6,04
	11 ve üstü	6	(0,53±0,64)×10 ⁶	(0,38±0,79)×10 ³	(0,32±0,32)×10 ³	0±0
P Değeri			0,501	0,838	0,867	0,145

Altıncı ay kontrolleri yapılabilen 40 bebeğin birinci bölümde alınan tükürüklerinden elde edilen *S. mutans* ve laktobasil sayıları, bebeklere ait gruplara göre tekrar değerlendirilmiş olup, tablo 4.4'te özetlenmiştir. Çalışmamızın ikinci aşamasında tükürük alımı yapılmış 40 bebek hastanın cinsiyetinin, doğum şeklinin, doğum

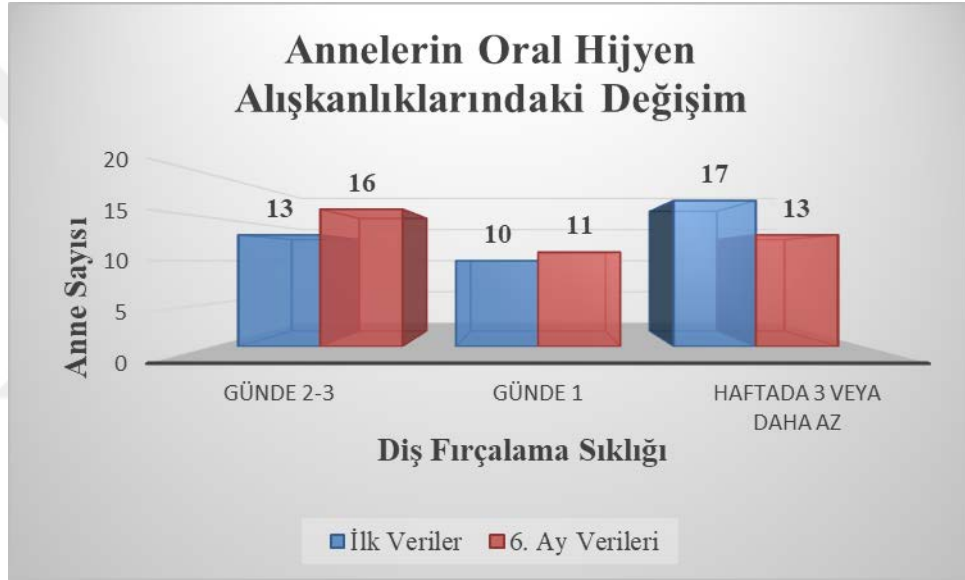
zamanının, doğum ağırlığının, örnek alım zamanının ve ailedeki kaçınıcı çocuk olduğunun *S. mutans* ve laktobasil sayıları üzerine etkileri değerlendirilmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.4 Altıncı ay kontrolleri yapılabilen 40 bebeğin ilk ve 6. Ay *S. mutans* ve laktobasil miktarlarının bebelere ait doğum anındaki bulgulara göre değerlendirilmesi

			İlk 48 Saatte Alınan Tükürüklerdeki <i>S. mutans</i> ve Laktobasil Sayıları		6. Ayda Alınan Tükürük Örneklerindeki <i>S. mutans</i> ve Laktobasil Sayıları	
Bebek ile ilgili Gruplar		N	Bebek SM ilk (Ort±SS)×10 ^x kopya/mL	Bebek LB ilk Ort±SS kopya/mL	Bebek SM 6. Ay (Ort±SS)×10 ^x kopya/mL	Bebek LB 6. Ay (Ort±SS)×10 ^x kopya/mL
Cinsiyet	Erkek	24	(0,25±0,38)×10 ³	16,70±78,51	(3,58±7,14)×10 ³	(1,09±2,49)×10 ²
	Kız	16	(0,64±2,03)×10 ³	2,00±8,00	(1,66±3,77)×10 ³	(0,65±2,12)×10 ²
P Değeri			0,365	0,462	0,332	0,561
Doğum Şekli	Normal	18	(0,67±1,90)×10 ³	23,16±90,61	(3,71±8,32)×10 ³	(0,32±1,37)×10 ²
	Sezaryen	22	(0,19±0,37)×10 ³	0,72±3,41	(2,07±3,23)×10 ³	(1,40±2,82)×10 ²
P Değeri			0,253	0,252	0,401	0,146
Doğum Ağırlığı	DDA	4	(0,19±0,39)×10 ³	0±0	(0,16±0,33)×10 ³	(1,45±2,90)×10 ²
	NDA	36	(0,43±1,37)×10 ³	12,02±64,20	(0,29±0,61)×10 ³	(0,72±1,96)×10 ²
P Değeri			0,741	0,713	0,677	0,505
Doğum Zamanı	Preterm	10	(0,30±0,49)×10 ³	4,80±10,79	(1,55±3,01)×10 ³	(0,58±1,83)×10 ²
	Term	30	(0,44±1,49)×10 ³	12,83±70,29	(3,23±6,74)×10 ³	(1,03±2,49)×10 ²
P Değeri			0,776	0,723	0,454	0,601
Ailedeki Kaçınıcı Çocuk Olduğu	Birinci	20	(0,58±1,81)×10 ³	21,65±85,87	(2,47±4,09)×10 ³	(1,29±2,94)×10 ²
	İkinci	13	(0,25±0,48)×10 ³	0±0	(4,20±9,16)×10 ³	(0,84±1,79)×10 ²
	Üçüncü	4	(0,08±0,16)×10 ³	0±0	(1,94±3,89)×10 ³	0±0
	Dördüncü	3	(0,33±0,34)×10 ³	0±0	(0,21±0,38)×10 ³	0±0
P Değeri			0,862	0,753	0,725	0,672
Örnek Alınma Zamanı	İlk 6 Saat	6	(1,52±3,23)×10 ³	5,33±13,06	(2,45±5,25)×10 ³	(1,57±3,86)×10 ²
	6-24 Saat	24	(0,16±0,37)×10 ³	16,70±78,51	(3,25±7,08)×10 ³	(0,66±1,70)×10 ²
	24-48 Saat	10	(0,31±0,52)×10 ³	0±0	(1,98±3,65)×10 ³	(1,13±2,70)×10 ²
P Değeri			0,071	0,755	0,852	0,664

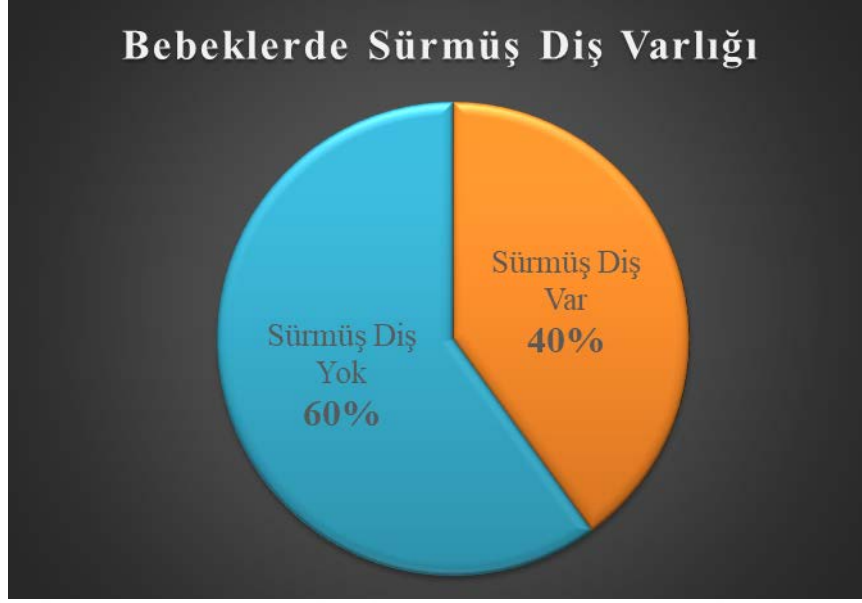
4.2.3. Anne ve Bebeklerinin Altıncı Ay Kontrollerine Ait Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil olan 40 annenin, birinci aşamada alınan tüm anamnez bilgileri yenilenmiş olup değişiklik var ise kaydedilmiştir. Yeniden değerlendirme sonucunda annelerin çalışma durumunda, sigara içme durumunda, DMFT değerlerinde herhangi bir değişiklik saptanmazken; oral hijyen alışkanlıklarında değişiklik olduğu tespit edilmiştir. Buna göre oral hijyen sıklıklarındaki değişim, birinci aşamada elde edilen verilerle kıyaslanmış olup, 40 annenin fırçalama alışkanlıklarındaki değişime bağlı dağılımı Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



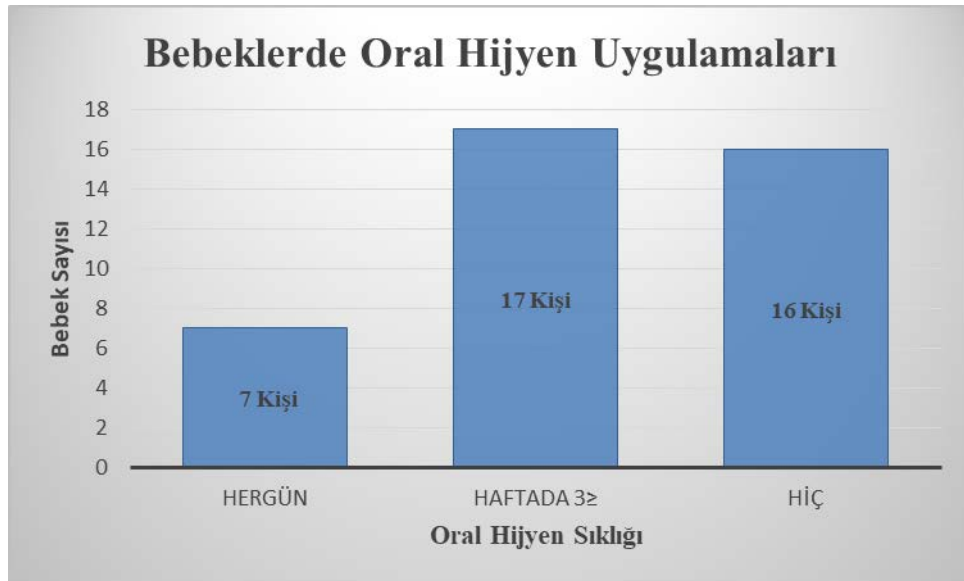
Şekil 4.8. Kontrol aşamasında dahil edilen annelerin oral hijyen sıklıklarındaki değişim

Çalışmanın ikinci bölümüne dahil olan toplam 40 bebeğin altıncı ayda ölçülen ağırlıklarının ortalaması $7,79 \pm 0,92$ kg olarak hesaplanmıştır. Ağız içi muayeneleri gerçekleştirilen 40 bebeğin, ağız içinde görülen diş varlığı değerlendirilmiş olup, 16 (%40) bebekte sürmüş bir veya daha fazla dişin bulunduğu, 24 (%60) bebekte ise ağız içinde sürmüş herhangi bir diş dokusunun bulunmadığı tespit edilmiştir. Bebeklerin sürmüş diş varlığına göre dağılımı şekil 4.9’da gösterilmiştir.



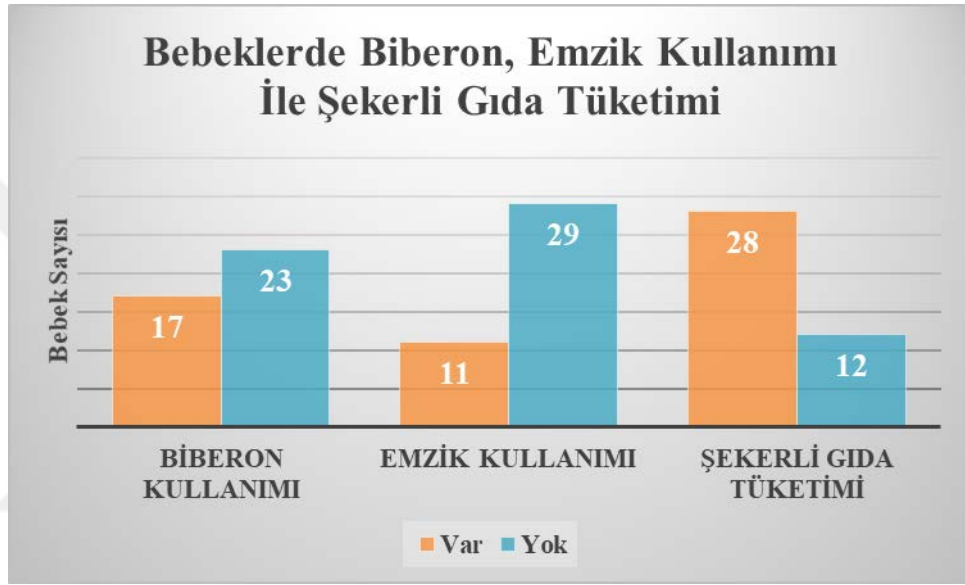
Şekil 4.9. Bebeklerin sürmüş diş varlığına göre dağılımları

Çalışmamızın ikinci aşamasında değerlendirmesi yapılan, tüm bebek hastalarımızın oral hijyen bakımlarının sıklıkları “hergün”, “haftada 3 veya daha az” ve “hiç” olarak gruplandırılmıştır. Altıncı ay kontrollerine getirilen bebeklerin oral hijyen uygulanma sıklıklarına göre dağılımları Şekil 4.10’da özetlenmiştir. Buna ek olarak, bebekler banyo yaptırılma sıklıklarına göre gruplandırılmış olup, 11’inin haftada iki (%27,5), 25’inin haftada bir (%62,5) ve 4’ünün ise 10-15 günde bir (%10) banyo yaptırıldıkları tespit edilmiştir.



Şekil 4.10. Bebeklerin oral hijyen uygulanma sıklıklarına göre dağılımı

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil olan 40 bebeğin 34'üne (%85) kendi anneleri tarafından bakıldığı, 6'sına (%15) ise bakıcı ya da bir aile büyüğü tarafından bakıldığı belirlenmiştir. On yedi bebeğin ilk 6 ay boyunca sadece anne sütü ile beslendiği (%42,5), 23'ünün ise anne sütü ile birlikte ek gıda verilerek (%57,5) beslendiği tespit edilmiştir. Ayrıca biberon kullanımı sorgulanmış olup, 17 bebekte biberon kullanıldığı (%42,5), 23'ünde ise biberonun kullanılmadığı (%57,5) ve biberon kullanan bebeklerin tümünde biberon içeriğinin mama ya da diğer verilen ek gıdalardan oluştuğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. Bebeklerin biberon, emzik kullanımı ve şekerli gıda tüketimine göre dağılımı

Bu bulgulara ek olarak, 11 bebekte emzik kullanımı tespit edilirken (%27,5), 29 bebekte ise tespit edilmemiştir (%72,5). Emzik kullanan bebeklerde, emziğin herhangi bir şekerli gıdaya batırılıp batırılmadığı ya da bakıcıları tarafından kendi ağızlarına alınmasını takiben bebeğe verilir verilmediği sorgulanmıştır. Emzik kullanan toplam 29 bebeğin hepsinde de emziğin şekerli bir gıdaya batırılma ya da bakıcısı tarafından ağıza alınma alışkanlığının bulunduğu belirlenmiştir.

Bebeklere ek gıda verilen kaşığın, annenin/bakıcının ısisına, tadına bakma vb. amaçlı, önce kendi ağızına alıp sonra bebeğe vermesi ile severken dudaktan öpme alışkanlığı aynı başlık altında değerlendirilmiş, 15 bebeğin annesinde/bakıcısında bu alışkanlığın olduğu (%37,5), 25'inde ise olmadığı (%62,5) belirlenmiştir. Bebeklerde, meyve suyu, meyve püresi, pekmez gibi doğal ancak şekerli gıdaları tüketip tüketmedikleri sorgulanmış olup, 40 bebeğin %70'inde her gün çok az miktarda da olsa şekerli gıda

tüketiminin olduğu saptanmıştır. Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil edilen 40 bebeğin, biberon, emzik kullanımı ve şekerli gıda tüketimine göre dağılımları Şekil 4.11’de özetlenmiştir.

4.2.4. Anne ve Bebeklerin Altıncı Ayda Alınan Tükürük Örneklerindeki *S. mutans* ve Laktobasil Sayılarının Anneye Ait Faktörlere Göre Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil olan 40 annenin 2’sinde *S. mutans* tespit edilemezken (%5), 38’inde *S. mutans* varlığı tespit edilmiştir (%95). Annelerden altıncı ayda alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* DNA kopya sayısı ortalama $(0,59\pm 1,86)\times 10^6$ kopya/mL olarak hesaplanmıştır. Buna ek olarak, annelerin altıncı ayda toplanan tükürük örneklerindeki laktobasil sayıları değerlendirilmiş olup, 14 annede laktobasil DNA’sı bulunurken (%35), 26 annede tespit edilememiştir (%65). Annelerden alınan tükürük örneklerindeki laktobasil miktarı ortalama $(1,29\pm 6,34)\times 10^3$ kopya/mL olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil olan 40 anneden alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayıları, annelerin yaş gruplarına, eğitim durumlarına, çalışma durumlarına göre değerlendirilmiş olup anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Buna karşılık, sigara içen annelerin *S. mutans* sayısı, içmeyen annelerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p=0,014$) (Tablo 4.5).

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil edilen annelerin altıncı aya ait diş fırçalama sıklıklarına ve DMFT değerlerine göre, altıncı ayda alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* değerleri kıyaslandığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Annelerin altıncı ayda alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayılarının gruplara göre hesaplanmış ortalama değerleri, standart sapmaları ve p değerleri Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.5 Anne ve bebeğin tükürük örneklerindeki *S. Mutans* ve laktobasil sayılarının annelerin altıncı ay verilerine göre dağılımı

			6. Ayda Alınan Tükürük Örneklerindeki <i>S. mutans</i> ve Laktobasil Sayısal Bulguları			
Anne ile İlgili Gruplar		N	Anne SM 6. Ay	Anne LB 6. Ay	Bebek SM 6. Ay	Bebek LB 6. Ay
			(Ort±SS)×10 ⁶ kopya/mL	(Ort±SS)×10 ³ kopya/mL	(Ort±SS)×10 ³ kopya/mL	(Ort±SS)×10 ² kopya/mL
Yaş Dağılımı	18-20	4	(0,17±0,33)×10 ⁶	(0,40±0,64)×10 ³	(1,80±3,25)×10 ³	(2,92±4,48)×10 ²
	21-25	14	(1,42±3,01)×10 ⁶	(0,57±0,83)×10 ³	(2,61±4,55)×10 ³	(0,14±0,55)×10 ²
	26-30	9	(0,19±0,40)×10 ⁶	(4,58±13,35)×10 ³	(2,71±3,68)×10 ³	(0,64±1,93)×10 ²
	31-35	10	(0,11±0,17)×10 ⁶	(0,45±0,82)×10 ³	(4,36±10,3)×10 ³	(0,88±1,98)×10 ²
	36-40	3	(0,09±0,15)×10 ⁶	(0,10±0,18)×10 ³	(0,21±0,38)×10 ³	(2,78±4,82)×10 ²
P Değeri			0,378	0,585	0,868	0,159
Eğitim	İlköğretim	16	(1,85±2,83)×10 ⁶	(2,90±9,95)×10 ³	(3,20±8,39)×10 ³	(0,49±1,51)×10 ²
	Lise	16	(0,23±0,57)×10 ⁶	(0,35±0,69)×10 ³	(2,71±4,01)×10 ³	(1,44±3,05)×10 ²
	Üniversite	8	(0,14±0,20)×10 ⁶	(0,45±0,89)×10 ³	(2,23±4,12)×10 ³	(0,72±2,05)×10 ²
P Değeri			0,267	0,478	0,933	0,512
Meslek	Çalışıyor	12	(0,17±0,36)×10 ⁶	(0,28±0,75)×10 ³	(0,96±1,82)×10 ³	(0,94±2,49)×10 ²
	Ev Hanımı	28	(0,77±2,20)×10 ⁶	(1,87±7,53)×10 ³	(3,60±7,01)×10 ³	(0,90±2,30)×10 ²
P Değeri			0,361	0,475	0,208	0,961
Sigara	Var	5	(2,47±4,85)×10 ⁶	(0,75±0,97)×10 ³	(0,56±0,95)×10 ³	(0,41±0,93)×10 ²
	Yok	35	(0,32±0,78)×10 ⁶	(1,48±6,76)×10 ³	(3,13±6,39)×10 ³	(0,99±2,46)×10 ²
P Değeri			0,014	0,811	0,381	0,613
6. Ay Oral Hijyen	Günde 2-3	16	(1,21±2,83)×10 ⁶	(0,62±0,79)×10 ³	(4,49±8,50)×10 ³	(1,20±2,50)×10 ²
	Günde 1	11	(0,11±0,12)×10 ⁶	(0,23±0,52)×10 ³	(1,28±3,94)×10 ³	(0,52±1,74)×10 ²
	Haftada 3≥	13	(0,24±0,58)×10 ⁶	(3,32±11,09)×10 ³	(2,03±2,93)×10 ³	(0,89±2,64)×10 ²
P Değeri			0,230	0,414	0,349	0,767
DMFT Değerleri	0	5	(0,20±0,42)×10 ⁶	(0,57±0,73)×10 ³	(4,22±4,03)×10 ³	0±0
	1-3	10	(0,22±0,43)×10 ⁶	(0,31±0,83)×10 ³	(1,86±4,33)×10 ³	(1,05±2,65)×10 ²
	4-6	12	(1,13±3,18)×10 ⁶	(0,43±0,77)×10 ³	(2,29±3,58)×10 ³	(0,90±1,83)×10 ²
	7-10	7	(0,71±1,50)×10 ⁶	(0,40±0,52)×10 ³	(5,03±12,4)×10 ³	(2,18±3,88)×10 ²
	11 ve üstü	6	(0,33±0,50)×10 ⁶	(6,97±16,27)×10 ³	(1,66±3,12)×10 ³	0±0
P Değeri			0,798	0,243	0,797	0,447

Çalışmamızın ikinci aşamasında tükürük örnekleri alınan 40 bebekten 22'sinde *S. mutans* tespit edilemezken (%55), 18'inde *S. Mutans* tespit edilmiştir (%45). Bebeklerin tükürüklerindeki *S. mutans* sayılarının ortalama değeri $(2,81 \pm 6,04) \times 10^3$ kopya/mL olarak bulunmuştur. Laktobasil varlığına bakıldığında ise 7 bebekte tespit edilirken (%17), 33'ünde tespit edilememiştir (%83). Bebeklerin altıncı ayda alınan tükürük örneklerindeki laktobasil miktarı ortalama $(0,92 \pm 2,33) \times 10^2$ kopya/mL'dir.

Anne ve bebeklerin, *S. mutans* miktarları birbirleriyle kıyaslandığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p=0,049$), laktobasil miktarları arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p=0,237$).

Bebeklerden alınan ikinci tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayıları ile annelerin yaş grupları arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.5).

Annelerin eğitim durumu ve meslekleri, diş fırçalama sıklıkları ve DMFT değerlerine göre yapılan değerlendirmede, bebeklerin *S. mutans* ve laktobasil miktarları tablo 4.5'te özetlenmiş olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$).

4.2.5. Bebeklerin Altıncı Ayda Alınan Tükürük Örneklerindeki *S. mutans* ve Laktobasil Sayılarının Bebeklere Ait Faktörlere Göre Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil olan 40 bebeğin tükürük örneklerinde elde edilen *S. mutans* sayıları, sürmüş dişi olan ve olmayan bebekler arasında karşılaştırılmış olup, sürmüş dişe sahip bebeklerde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla sayıda *S. mutans* tespit edilmiştir ($p=0,005$) (Tablo 4.6). Aynı tükürük örneklerinde, sürmüş diş varlığının laktobasil miktarı üzerine etkisi değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamıştır ($p=0,425$).

Bebeklerin beslenme şeklinin, anne veya bakıcı tarafından bakılmalarının, oral hijyen uygulama ve banyo yaptırılma sıklıklarının, annelerinin ortak kaşık kullanımı/dudaktan öpme alışkanlığının, biberon, emzik kullanımının ve şekerli gıda tüketimlerinin, altıncı ayda alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil miktarları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadıkları tespit edilmiş

olup ($p>0,05$), gruplara ait *S. mutans* ve laktobasil miktarları tablo 4.6'da özetlenmiştir.

Tablo 4.6 Bebeklerin altıncı ay verilerine göre, tükürüklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayılarının dağılımı

Bebekler ile İlgili 6. Aya Ait Gruplar	Gruplar	N	Bebek SM 6. Ay	Bebek LB 6. Ay
			(Ort±SS)×10 ³ kopya/mL	(Ort±SS)×10 ² kopya/mL
Sürmüş Diş	Var	16	(5,98±8,12) ×10 ³	(0,55±1,60) ×10 ²
	Yok	24	(0,69±2,66) ×10 ³	(1,16±2,71) ×10 ²
P Değeri			0,005	0,425
Bakıcı	Anne	34	(3,21±6,46) ×10 ³	(0,74±2,11) ×10 ²
	Diğer	6	(0,56±1,38) ×10 ³	(1,89±3,38) ×10 ²
P Değeri			0,329	0,271
Oral Hijyen	Hergün	7	(0,89±1,36) ×10 ³	(0,43±1,14) ×10 ²
	Haftada 3 veya daha az	17	(3,41±4,48) ×10 ³	(0,61±2,05) ×10 ²
	Hiç	16	(3,01±8,39) ×10 ³	(1,45±2,92) ×10 ²
P Değeri			0,651	0,495
Banyo Sıklığı	Haftada 2	11	(2,39±3,80) ×10 ³	(1,38±3,19) ×10 ²
	Haftada 1	25	(3,42±7,18) ×10 ³	(0,52±1,37) ×10 ²
	10-15 günde 1	4	(0,16±0,32) ×10 ³	(2,09±4,18) ×10 ²
P Değeri			0,595	0,348
Beslenme Şekli	Anne Sütü	17	(1,95±3,39) ×10 ³	(1,07±2,65) ×10 ²
	Anne Sütü+Ek Gıda	23	(3,44±7,43) ×10 ³	(0,80±2,11) ×10 ²
P Değeri			0,447	0,722
Ortak Kaşık Kullanımı/ Dudaktan Öpme	Var	15	(2,67±4,65) ×10 ³	(0,69±2,18) ×10 ²
	Yok	25	(2,89±6,83) ×10 ³	(1,05±2,44) ×10 ²
P Değeri			0,914	0,645
Biberon Kullanımı	Var	17	(4,65±8,61) ×10 ³	(1,08±2,41) ×10 ²
	Yok	23	(1,45±2,48) ×10 ³	(0,79±2,31) ×10 ²
P Değeri			0,098	0,699
Emzik Kullanımı	Var	11	(3,73±4,91) ×10 ³	0±0
	Yok	29	(2,46±6,46) ×10 ³	(1,26±2,66) ×10 ²
P Değeri			0,558	0,126
Şekerli Gıda Tüketimi	Var	28	(3,35±7,02) ×10 ³	(1,12±2,69) ×10 ²
	Yok	12	(1,54±2,39) ×10 ³	(0,43±1,03) ×10 ²
P Değeri			0,391	0,397

4.2.6. Birinci ve İkinci Bölümde Anne ve Bebeklerden Elde Edilen Bulguların Karşılaştırılması

Çalışmamızın ikinci aşamasına dahil edilen 40 annenin, çalışmamızın birinci ve ikinci bölümünde elde edilen *S. mutans* miktarları incelendiğinde, annelerin *S. mutans* sayısında bir azalma görülmüş olmasına karşın, bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,328$) (Tablo 4.7). Laktobasil miktarındaki değişim incelendiğinde ise annelerden altıncı ayda alınan tükürük örneklerinde sayıca bir artış görülmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,353$) (Tablo 4.7).

Çalışmamızın ikinci bölümünde değerlendirmesi yapılan 40 bebeğin, çalışmamızın birinci ve ikinci bölümünde elde edilen *S. mutans* ve laktobasil miktarları incelendiğinde, bebeklerde *S. mutans* ve laktobasil sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüş olup ($p<0,05$), değerler tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7 Birinci ve ikinci bölümde elde edilen *S. mutans* ve laktobasil miktarlarının karşılaştırılması

Tükürük Örnekleri	<i>S. mutans</i> (Ort±SS)×10^x kopya/mL	Laktobasil (Ort±SS)×10^x kopya/mL
Anne İlk 48 Saat	(1,22±3,78)×10 ⁶	(0,34±0,74)×10 ³
Anne 6. Ay	(0,59±1,86)×10 ⁶	(1,29±6,34)×10 ³
P değeri	0,328	0,353
Bebek ilk 48 saat	(0,40±1,31)×10 ³	(0,10±0,60)×10 ²
Bebek 6. Ay	(2,81±6,04)×10 ³	(0,92±2,33)×10 ²
P değeri	0,013	0,043

5. TARTIŞMA

Diş çürüğü, bakterilerin neden olduğu enfeksiyöz ve bulaşıcı bir hastalık olarak tanımlanmakta ve pek çok ülkede halk sağlığı üzerinde ciddi bir tehdit unsuru oluşturduğu bilinmektedir.^(1, 37) Antik çağlarda hiç bilinmeyen çürük prevalansı, modern çağda neredeyse tüm insanlığa yayılacak ölçüde artış göstermiştir.⁽⁵⁾ Diş çürüğü oluşum nedeni, genel olarak, konak (diş), bakteri ve besin (karbonhidrat) faktörlerinin belirli bir zaman boyunca bir arada bulunmaları ile açıklanmıştır.^(4, 37) Bunların yanı sıra, bireyin tükürük miktarı, tamponlama kapasitesi, akış miktarı; beslenme şekli, sıklığı, içeriği; florid içerikli preparat kullanımı, diş fırçalama alışkanlığı, sosyoekonomik durum vb birçok etken de diş çürüğü oluşumu için risk faktörü olarak sayılmıştır.^(14, 15)

Diş çürüğünün başlangıcından sorumlu bakteriyel etkenin *S. mutans*; ilerlemesinden ise laktobasil türlerinin sorumlu olduğu yapılan birçok çalışma ile gösterilmiştir.^(1, 4, 22, 25, 32) *S. mutans*, EPS sentezi sayesinde, besinlerle alınan sükrozu hızlı bir şekilde laktik aside dönüştürebilir. Böylece oral floranın pH'ını düşürerek, diş minesindeki hidroksiapatit kristallerinin çözünmesine ve kalsiyum kaybına neden olup, diş yapısının bozulmasına yol açar.^(1, 32) Laktobasiller ise pH 4 olduğunda bile yaşamını sürdürebilen asidojenik ve asidofilik bakterilerdir. Diş çürüğü oluşmamış veya başlangıç çürüğü olan dişlerden alınan plak örneklerinde az sayıda buldukları belirtilirken, dentine ilerlemiş çürüklerde fazla sayıda buldukları belirtilmiştir.^(21, 34, 60)

Diş çürükleri çocuklar için de büyük bir tehdit unsurudur. Yetmiş bir aylık veya daha küçük çocuklarda, çürük, kayıp veya dolgulu diş varlığı olarak tanımlanan EÇÇ, birçok ülkede artış göstermektedir. Özellikle düşük sosyoekonomik seviyedeki toplumlarda ciddi bir sorun teşkil etmektedir.^(8, 20) EÇÇ tedavileri, hem hekim hem de çocuk açısından oldukça zordur. Çocukların hekim korkusu, bilmedikleri bir işlem karşısında ağrı duyma endişesi, bir yandan hekimin işini zorlaştırırken, bir yandan da çocukta gelecek dönemde oluşması muhtemel bir diş hekimi korkusunu da tetikleyebilmektedir.^(61, 62) Kooperasyonun zor sağlandığı bu yaş grubu çocuklarda genel anestezi altında işlemlerin yapılması çoğunlukla tercih edilen bir yöntemdir.^(17, 63) Ancak genel anestezi uygulamaları hem pahalı, hem de solunum depresyonu,

kardiyak sorunlara neden olma, hipotansiyon veya hipoglisemi gibi birçok riski beraberinde taşıyan bir uygulamadır.^(64, 65)

S. mutans ve laktobasillerin oral florada ilk kolonizasyon zamanını araştıran bazı yazarlar, *S. mutans* ile ilk tanışma döneminin doğum sonrası 19.-31. aylar arasına denk gelen yaşlar olduğunu belirtmişler ve bu dönemi “enfektivite penceresi dönemi” olarak tanımlamışlardır.⁽¹⁰⁾ Güncel çalışmalarda, doğum anında steril olarak kabul edilen yenidoğan oral kavitesinin, yaşamın ilk yılında neredeyse yetişkin bir bireyin oral kavitesi kadar kompleks bir mikrobiyal kolonizasyona ev sahipliği yaptığı belirlenmiştir.⁽⁶⁶⁾ Bu da oral florada bulunan hastalık yapıcı bakterilere karşı uygulanması gereken koruyucu önlemlerin daha erken dönemde başlaması gerektiğini göstermiştir.^(22, 66)

DSÖ'nün 21. yüzyıl için belirlediği sağlık hedeflerinden biri, 6 yaş grubundaki çocuklarda, 2020 yılına kadar %80 oranında çürüksüz bir topluluğun sağlanabilmesi ve 12 yaşındaki çocuklarda ortalama 1,5'tan daha düşük DMFT skoru olmasıdır.⁽⁶⁷⁾ Bir diğer belirlenmiş hedef ise, 2000 yılında 5 yaş grubunda çürük prevalansının %50 den az olmasıdır. Ancak 2004 yılında, ülkemizde yapılan bir çalışmada bu oranın %69,8 olarak bulunduğu belirtilmiştir.⁽⁶⁸⁾ Bu oran DSÖ'nün belirlediği hedefin oldukça altında kalmıştır.

Ülkemizde, DSÖ ve Sağlık Bakanlığı tarafından desteklenen en geniş kapsamlı çalışma 1990 yılında yayımlanmış “Türkiye’deki Ağız Diş Sağlığı Durum Analizi” raporu kapsamında, yaklaşık 6000 çocuk değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonunda, 6 yaş grubunda, süt dişi dizisinde çürüksüz çocuk oranı %16 iken, sürekli diş dizisine sahip 12 yaş grubunda ise %19 olarak bulunmuştur.⁽⁶⁹⁾ Türk Dişhekimleri Birliği (TDB) tarafından 2012 yılında yapılan açıklamada, Türkiye’deki çocuklarda ortalama DMFT değerinin 6,17 olduğu bildirilmiştir. Aynı açıklamada Dünya Dişhekimleri Birliği'nin (“Fédération Dentaire Internationale” FDI) hedeflediği ortalama DMFT değerinin 1.0 olduğu belirtilmektedir. Türkiye'nin bu hedefin oldukça altında kaldığı görülmektedir.⁽⁷⁰⁾ Tüm bu veriler, ülkemizde bebeklik dönemi itibarıyla alınması gereken ağız sağlığı önlemlerinin eksikliğini göstermektedir.

Dünya genelinde ve ülkemizde çocuk sağlığını büyük ölçüde tehdit eden EÇÇ'nin risk faktörleri ve ortadan kaldırılmasına yönelik önlemlerle ilgili, araştırmalar geçmişten

günümüze devam etmiştir. Bu çalışmalarda beslenme türü, şekli ve anne eğitiminin EÇÇ için risk faktörü olduklarına ve hastalığın başlamadan önlenmesiyle ilgili koruma programlarına değinilmiştir.^(8, 63, 71)

Bazı araştırmacılar, çocuklarda ilk *S. mutans* kolonizasyonunun yalnızca enfektivite penceresi döneminde gerçekleştiğini, diş sürmesi öncesi kolonize olamayacağını öne sürmüşlerdir.^(10, 72) Yapılan başka bir araştırmada ise, erken *S. mutans* kolonizasyonunun, çocuklarda çürük gelişiminde ana etken olduğu bildirilmiştir.⁽¹¹⁾

Bundan sonra yapılan pek çok çalışmada dişlerin sürmesini takiben, *S. mutans* kolonizasyonunun önlenmesiyle, çürük oluşumunun büyük ölçüde engellenebileceği savunulmuştur.^(13, 16, 27) Diş çürüğünün enfeksiyöz bir hastalık olarak görülmesi, araştırmacıları, yenidoğan oral florasının gelişimi ve *S. mutans* kolonizasyon zamanının ve bulaşma yollarının belirlenmeye çalışılmasına yöneltmiştir.^(6, 10, 21, 40)

Erişilebilir kaynaklardan yapılan literatür taramasında, bu konuda yapılmış çalışma sayısının sınırlı olduğu ve elde edilen sonuçlarda bir fikir birliğinin oluşmadığı görülmektedir. Ülkemizde ise, yenidoğan oral florasında *S. mutans* ve laktobasillerin varlığı ve anneleriyle olan ilişkisini inceleyen herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Bu nedenle; çalışmamızda yenidoğan bebekler ve annelerinin oral mikroflorasının, *S. mutans* ve laktobasil varlığı açısından değerlendirilmesi ve birbirleriyle olan ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu konuda yayımlanmış sınırlı sayıdaki çalışmada, sağlıklı, dişleri sürmemiş, bir bebeğin ağızında *S. mutans* var olamayacağı, ancak süt dişlerinin sürmesini takiben ya da akrilik yarık damak obturatorlerinin kullanımı varlığında tespit edilebileceği bildirilmiştir.^(10, 24, 72, 73)

Carlsson ve arkadaşları⁽²⁴⁾, 1975 yılında yayımlanan çalışmalarında, 25 yenidoğandan aldıkları tükürük örneklerinde, 5 yıl süren bir çalışma boyunca, streptokok türlerinin oral kolonizasyonunu araştırmışlardır. Aldıkları tükürük örneklerinde, kültür yöntemini kullanarak yaptıkları mikrobiyolojik çalışma sonucunda, doğumdan hemen sonra *S. salivarius*, ilk bir yıl içinde dişlerin çıkmasını takiben ise *S. sanguis* türlerinin kolonize olduğunu bulmuşlardır. Buna karşılık *S. mutans*'ın ise bu türlere kıyasla anlamlı derecede, daha geç kolonize olduğu ve 5 yaşındaki bebeklerin yarısından daha azında tespit edilebildiğini bildirmişlerdir.⁽²⁴⁾

Berkowitz ve arkadaşları⁽⁷³⁾, 16'sı "dişsiz", 43'ü "1 ile 5" arası sayıda süt dişi olan, 42'si ise "6 ile 8" arası sayıda süt dişi olan çocuklardan oluşan toplam 101 hastada mikrobiyolojik kültür yöntemi ile *S. mutans* kolonizasyonunun değerlendirmişlerdir. Dişsiz bebeklerin alveolar kreti, bukkal mukozası ve dil mukozası üzerinden tükürük örneği alımı gerçekleştirirken, dişleri olanlarda ise var olan kesici dişlerin gingival 1/3'ünde bulunan plak birikiminden örnek almışlardır. Kültür yöntemiyle gerçekleştirdikleri mikrobiyolojik çalışma sonucunda, 16 dişsiz bebeğin hiçbirinde *S. mutans* bulunamazken, dişli bebeklerde de *S. mutans* bulunduran bebek oranı arasında anlamlı bir fark tespit edememişlerdir.⁽⁷³⁾

Smith ve arkadaşları⁽²³⁾, yaş ortalaması 3.2±1.8 ay olan 18 dişsiz bebek ve aynı bebeklerin 14'ünden de dişleri sürdükten sonra (yaş ortalaması 9.2±2.8 ay) tükürük örneği toplamışlar ve kültür metodu kullanarak, oral streptokokların kolonizasyonunu araştırmışlardır. İlk örneklerin alımını, dişsiz bebeklerin alveolar kret ve bukkal mukozasından gerçekleştirirken, ikinci örneklerin alımını sürmüş dişlerin bukkal ve lingual yüzeylerinden gerçekleştirmiş olup, çalışma sonucunda dişsiz bebeklerin hiçbirinde *S. mutans* bulunamazken, dişli bebeklerin ise yalnızca 1'inde *S. mutans* varlığını tespit edebilmişlerdir.⁽²³⁾

Caufield ve arkadaşları⁽¹⁰⁾, doğum itibariyle 5 yıl boyunca takip ettikleri, 46 bebekten üç ay arayla örnek alımı gerçekleştirdikleri çalışmalarında oral bakteriyel örnekleri, minimum bakteri saptama miktarı 2×10^2 CFU/mL olan bir mikrobiyolojik kültür metodu ile *S. mutans* kolonizasyonunun başlangıç zamanı açısından incelemişlerdir. 46 bebeğin 38'inde *S. mutans* kolonizasyonunun olduğunu belirlemişler ve bu 38 bebeğin %25'inde kolonizasyonun 19. ayda, %75'inde ise 31. ayda gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada dişsiz bebekte *S. mutans* kolonizasyonunun gerçekleşmeyeceği özellikle vurgulanmış olup, ortalama 26. ayda kolonizasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir.⁽¹⁰⁾

Klein ve arkadaşları⁽⁷⁴⁾, Brezilya'da, yaş ortalaması 5.9±1.5 ay olan 16 çocuk ve annesinde, 20 ay boyunca, 2'şer ay arayla aldıkları tükürük örneklerinde önce kültür yöntemiyle MS grubu bakterilerin varlığını araştırmışlardır. Daha sonra MS grubu bakterilerin tespit edildiği örnekleri, *S. mutans* türünün varlığının araştırılması amacıyla PCR yöntemini kullanmışlardır. Çalışmada MS türünün ilk kolonize olduğu

yaş belirtilmezken, *S. mutans* türünün, çocuklarda ilk tespit edilebildiği yaşı 15,4 ±2,12 ay olduğu bildirilmiştir.⁽⁷⁴⁾

Nelson-Filho ve arkadaşlarının⁽⁷⁵⁾, doğum sonrası 10. dakika ve 53. saat arası 51 sağlıklı yenidoğandan aldıkları tükürük örnekleri ile kültür metodu kullanarak yaptıkları çalışmada, hiçbir yenidoğanda *S. mutans* varlığına rastlanmadığı bildirilmiştir.

Dişsiz bebeklerin oral mukozasında *S. mutans* tespit edilememiş çalışmalar, *S. mutans* bakterilerinin tutunabilmek için sert ve yenilenme göstermeyen (diş yüzeyi gibi) yüzeylere ihtiyaç duyduğunu öne sürmüşlerdir.^(10, 23, 24, 73) Ancak, 1980 yılında Sklavounou ve arkadaşları⁽⁷⁶⁾, insanlarda, oral streptokokların keratinize ve nonkeratinize oral mukoza hücrelerine tutunmasını incelemişler ve epitel hücrelerinin keratinize olma derecesinin, bazı oral streptokokların oral mukozaya yapışmasında önemli bir faktör olabileceğini ve ayrıca, *S. mutans* ve *S. sanguis* türlerinin keratinize veya nonkeratinize mukozada eşit tutunma yeteneklerinin olduğunu bildirmişlerdir.⁽⁷⁶⁾

Wan ve arkadaşları⁽⁷⁷⁾ 2001 yılındaki çalışmalarında, 188 dişsiz bebekte, 3 ve 6. aylarda topladıkları tükürük örneklerinde *S. mutans* varlığını ve gelişimsel oral nodüller (Bohn nodülü) ile olan ilişkisini değerlendirmişlerdir. Sukroz eklenmiş, triplon, maya, sistein içeren agar kullanılarak yapılan bakteriyel incelemede, 188 bebeğin %30'unda *S. mutans* varlığı tespit edilebilmiştir. Çalışma sonunda hem 3. ay hem de 6. ayda elde edilen sonuçlarda, *S. mutans* varlığı ile gelişimsel oral nodül varlığı arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Wan ve arkadaşlarının⁽⁷⁷⁾, kültür yöntemiyle yaptıkları çalışmalarında, dişsiz bebeklerde tespit ettikleri *S. mutans* varlığı ve gelişimsel oral nodüller arasında anlamlı derecede bir ilişki tespit etmeleri, gelişimsel oral nodüllerin *S. mutans*'ın adezyonunu kolaylaştırdığı ve kolonizasyonunu arttırdığı şeklinde yorumlanmıştır.

Tanner ve arkadaşları⁽⁷⁸⁾, yaşları 6 ile 36 ay arasında değişen, en az bir süt dişi sürmüş olan, 171 çocukta, küçük yaşta kolonize olan oral bakteriyel türleri belirlemek amacıyla, dil ve diş yüzeyinden alınan tükürük sürüntü örneklerini, 2002 yılında yayımladıkları çalışmalarında incelemişlerdir. Bakteriyel türleri ve miktarlarını belirlemek için DNA prob teknolojisini kullanmışlardır. Çocukları 6-18 ay arası ve 19-36 ay arası iki gruba ayırarak, dil ve diş yüzeyinden aldıkları örnekleri, bakteriyel

incelemeye tabi tutmuşlardır. Yaş gruplarına göre yaptıkları incelemede, *S. mutans*'ın 19-36 ay grubunda daha fazla bulunduğunu ve çürük diş varlığıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, yaşları 6-18 ay arası değişen 57 çocuğun, %70'inde, dil yüzeyinden aldıkları sürüntü örneklerinde *S. mutans* tespit edildiğini ve buna bağlı olarak da *S. mutans*'ların yalnızca diş gibi bütünlüğünü koruyan sert yüzeylere değil, dil yüzeyi gibi yumuşak dokularda da tutunabildiğini belirtmişlerdir.⁽⁷⁸⁾

Teanpaisan ve arkadaşları⁽⁷⁹⁾, yaşları 3-24 ay arasında değişen, 169 Tayland'lı çocukta, 3, 9, 12, 18 ve 24. aylarda aldıkları 5 tükürük örneğinde *S. mutans* varlığına ve koloni miktarını araştırdıkları, 2007 yılında yayımlanan çalışmalarında, bakteriyel inceleme için kültür ortamı olan, mitis salivarius basitrasın agarı kullanmışlardır. Çalışma sonunda *S. mutans* varlığı ve diş çürüğü arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Buna ek olarak, Tayland'lı çocukların %4'ünde, diş sürmesi öncesi *S. mutans* tespit edildiğini öne sürmüşlerdir, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edememişlerdir.⁽⁷⁹⁾

Plonka ve arkadaşları'nın⁽²⁵⁾ 2012'de yayınlanmış çalışmalarında, doğum sonrası ortalama 34 günlük bebeklerde, kültür yöntemiyle (1×10^4 duyarlılığa sahip) *S. mutans* varlığını araştırmışlar ve çalışmaya dahil edilen 957 bebeğin %10'unda *S. mutans* tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, ilk aşamada tükürük örneği alınan bebeklerden dişleri sürmüş olanlar çıkarılarak, dişsiz olan 283 bebek 7. aylarında tekrar tükürük alımı için muayene edilmiş ve aynı yöntemle *S. mutans* varlığı tekrar değerlendirilmiştir. İlk örneklerle kıyaslandığında, yine %10'luk bir hasta grubunda *S. mutans* tespit edebildiklerini bildirmişlerdir.⁽²⁵⁾

Milgrom ve arkadaşları⁽¹⁸⁾, yaşları 6 ile 36 ay arasında değişen 199 çocukta *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un oral kolonizasyonu ve hipoplaziler, diş çürükleri, oral hijyen ve beslenme alışkanlıkları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmalarına dahil edilen çocukların 16'sı dişsiz olup, tükürük örneği alımlarının dil yüzeyinden sürüntü şeklinde olduğu bildirilmiştir. Mikrobiyolojik değerlendirmede, "tüm genom dama tahtası DNA-DNA hibridizasyon" yöntemi kullanılmış olup dişsiz bebeklerin %25'inde, dil yüzeyinden alınan tükürük örneklerinde *S. mutans* saptandığını belirtmişlerdir. Altı ile 36 ay arası bebeklerde yapılmış olan bu çalışmada, *S. mutans* miktarının bebeğin yaşıyla birlikte arttığını bildirmişlerdir.⁽¹⁸⁾

Bizim çalışmamızda, birinci bölüme dahil edilen en fazla 2 günlük, 60 yenidoğanda ve ikinci bölüme dahil edilen 6 aylık 40 bebekte gerçekleştirilen tükürük örneği toplama işlemi, örnek toplama çubuklarının yalnızca mukozal yüzeyler ve dil yüzeyine yaklaşık 1 dakika sürülmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın birinci bölümüne dahil edilen 60 yenidoğanın %37'sinde, ikinci bölüme dahil edilen 40 bebekten henüz dışı çıkmamış toplam 24 bebeğin, %29'unda *S. mutans* varlığı tespit edilmiştir. Bu durum Sklavounou ve arkadaşlarının⁽⁷⁶⁾ çalışmasında da belirttiği gibi *S. mutans*'ın keratinize ve nonkeratinize mukozal yüzeylere tutunma özelliğinin bulunmasıyla açıklanabilir.

Ayrıca, çalışmamızda, bebeklerden sürüntü alma yöntemi ile toplayabildiğimiz az miktardaki tükürük örneklerinde, *S. mutans* ve laktobasil varlığının incelenmesinde qRT-PCR yöntemi başarılı bulunmuştur. qRT-PCR yönteminin, kültür yöntemine göre daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu, daha güvenilir olduğu ve başarıyla uygulanabileceği Moncada ve arkadaşları⁽⁷⁾ ile Houghton ve arkadaşları'nın⁽⁵⁴⁾ çalışmalarıyla da desteklenmektedir.

Çocuklarda diş çürüğü oluşumundan *S. mutans* sorumlu olsa da, çürük ilerlemesinde ve dentin çürüklerindeki ana etkenin laktobasil türleri olduğu belirtilmiştir. ^(1,22) Badet ve Thebaud'un⁽³⁴⁾ 2008 yılında yayımlanmış olan literatür derlemesinde, laktobasillerin sınıflamasının karmaşık olması ve sürekli yeni bir sınıflama yapılması nedeniyle çürük riski hesaplamaları yapılırken türlere bakılmaksızın tüm laktobasil sayısına bakıldığı bildirilmiştir. Laktobasillerin oral florada erken dönem kolonizasyonu ve bulaşma yolları ile ilgili *S. mutans*'larda da olduğu gibi, erişilebilir kaynaklarda sınırlı sayıda çalışma olduğu ve elde edilen sonuçlarda bir fikir birliği olmadığı görülmüştür. ^(24, 25)

Carlsson ve arkadaşları⁽²⁴⁾ 1975 yılında yaptıkları çalışmada 25 yenidoğanda, 5 yıl boyunca, her yıl tükürük örneği alınarak, laktobasillerin varlığını incelemişler ve çalışmaya dahil edilen hastaların 3., 4. ve 5. yıllardaki çürük skorlarını da kaydetmişlerdir. Yapılan inceleme sonucu laktobasillerin ilk 24 aydaki örneklerde çok az sayıda ve geçici süreyle bulunduğu tespit edilmiştir. Üç yaş döneminde ise sayıca arttığı ve diş çürüğü olan çocuklarda daha fazla bulunduğu saptanmıştır⁽²⁴⁾

Hedge ve arkadaşları⁽⁸⁰⁾, 50 yenidoğan ve annesinde, yaptıkları çalışmada, annenin vajinal mikrobiyal florasının, bebeklerin oral florası üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. Bebeklerden doğumun hemen sonrasında alınan örneklerin, %6'sı steril olarak bulunurken, %40'ında laktobasil türlerinin kolonize olduğunu tespit etmişler ve bu erken kolonizasyonun muhtemel nedeninin, anneden bebeğe mikroflora aktarımı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Teanpaisan ve arkadaşları⁽⁷⁹⁾, 3 aylık bebeklerden aldıkları tükürük örneklerinde, kültür örneği ile yaptıkları çalışmada, 169 bebeğin %7,2'sinde laktobasil tespit edildiğini ve laktobasil bulunduran çocukların %40'ında ise yüksek seviyede (<100 CFU) laktobasil olduğunu belirtmiş olup, erken laktobasil kolonizasyonunun da mümkün olabileceğini göstermişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, bebeklerden altıncı ayda alınan tükürük örneklerindeki bakteri seviyeleri kıyaslanmış olup, laktobasil seviyelerinin zamanla arttığı tespit edilmiştir.

CRT *S. mutans* (Ivoclar, Melbourne, Australia) kitiyle yapılmış ve çalışmaya yalnızca dişsiz bebeklerin dahil edildiği bir çalışmada, doğum sonrası 34. gün ve 7. aylarda alınan tükürük sürüntü örneklerinde laktobasil varlığı değerlendirilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik değerlendirme sonrası, yenidoğan döneminde laktobasillerin bulunduğu ve 7 aylıkken alınan örneklerde de varlığını sürdürdüğü ve zamanla artış gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca laktobasil türlerinin dil ve dişeti mukozasına, diğer bölgelere kıyasla daha iyi tutunduğu bildirilmiştir.⁽²⁵⁾

En az bir adet sürmüş dişi olan çocuklardan alınan tükürük örneklerinde, DNA prob yöntemi kullanılarak mikrobiyal türler 2002 yılında yayınlanmış bir çalışmada incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen çocuklar yaş gruplarına göre 6-18 ay ve 19-36 ay olarak ve çürük varlığına göre 4 farklı grupta değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda, laktobasillerin çürük diş varlığında daha yüksek olduğu görülmüş olup, 19-36 ay yaş grubundaki çocuklarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda laktobasillerin yaşla birlikte arttığı öne sürülmüştür.⁽⁷⁸⁾

Çalışmamızın ilk bölümünde tükürük örneği alınan 60 bebeğin %5'inde laktobasil pozitif olup, ortalama miktarı 7,21±49,80 kopya/mL olduğu; ikinci bölümünde tükürük örneği alınan 40 bebeğin %17'sinde pozitif olup ortalama miktarı

79,52±203,78 kopya/mL'dir. Çalışmamızın ilk kısmında bebeklerden alınan tükürük örneklerindeki laktobasil miktarının, altıncı ayda alınan tükürük örneklerinde, anlamlı derecede artış göstermiş olması, bu konuda yapılmış sınırlı sayıdaki araştırmaların çoğunun^(25, 78, 79) sonuçları ile uyumlu olmasına karşın, Carlsson ve arkadaşlarının⁽²⁴⁾ 1975 yılında, yayımladıkları çalışmalarında öne sürdükleri dişsiz ve çürüksüz ağızda laktobasil olamayacağı görüşü ile uyumlu değildir.

Çocuklarda, bebeklik döneminde alınacak önlemlerle ileriki dönemde çürük oluşumunun önlenmesi için erken *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonunun ve geçiş yollarının belirlenerek, koruyucu yöntemlerin geliştirilebilmesi hedeflenmektedir. Bebeklerde *S. mutans*'ın oral floraya yerleşiminden çoğunlukla birincil bakıcıları olan anneler ve yakın çevresinde bulunan kişiler sorumlu tutulmuştur.^(1, 8, 16, 22, 27)

Caufield ve arkadaşlarının⁽¹⁰⁾, 46 bebek-anne çiftinde yaptıkları çalışmada *S. mutans* olan ve olmayan çocukların, annelerinin tükürüğündeki hem *S. mutans* hem de laktobasillerin seviyelerini kıyaslamışlar ve anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Ayrıca annelerin yaşlarına ve DMFT değerlerine göre yaptıkları değerlendirme sonucunda ise, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.

Berkowitz ve arkadaşlarının⁽⁸¹⁾, 1981'de yayınlanmış olan araştırmalarında, dişli bebeklerde *S. mutans* varlığına baktıklarında, annelerinde 10⁵ CFU/mL'den fazla *S. mutans* kolonisi olan bebeklerin *S. mutans* ile enfekte olma oranının yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Köhler ve arkadaşları⁽⁶⁰⁾, 58 anne, 59 birinci çocuk ve onların kardeşlerinden 40'ı ile gerçekleştirdikleri çalışmada, anne ve çocuklarından aldıkları tükürük örneklerinde *S. mutans* ve laktobasil seviyelerini belirlemişlerdir. Çalışmaya dahil edilen anne ve çocuklarını, annelerin *S. mutans* seviyeleri ve laktobasil seviyeleri arasında 10 kat fark olacak şekilde gruplandırmışlardır. Yaptıkları istatistiksel değerlendirme sonucunda, yüksek *S. mutans* ve laktobasil seviyesindeki annelerin çocuklarında da bu bakterilerin seviyelerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.⁽⁶⁰⁾

Matsumiya ve arkadaşlarının⁽⁸²⁾, normal doğumla doğan bebeklerde, doğum sonrası 5. günde yaptıkları bir çalışmada, yenidoğanların oral florasında az miktarda laktobasil olduğunu ve genotipleme çalışmasında annenin vajinal florasıyla benzerlik

gösterdiğini söylemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, bebeklerden birinci aşamada alınan tükürük örneklerinde laktobasil sayısı ve doğum şekli arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Çalışmamızın ilk aşamasında tükürük örneği alınan 60 anne ve bebeği ile ikinci aşamada tükürük örneği alınan 40 anne ve bebeğinin yapılan mikrobiyolojik değerlendirmesi sonucunda, annelerin *S. mutans* sayıları arasında anlamlı bir farklılık bulunurken, laktobasil miktarları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Buna göre yapılan değerlendirmeler sonucunda, anneler ile bebeklerinin *S. mutans* sayıları karşılaştırılmış olup, bebeklerde annelere göre anlamlı derecede, az sayıda *S. mutans* tespit edilmiştir. Ancak, laktobasil sayıları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilememiştir. Buna ek olarak, 40 annenin birinci ve ikinci tükürük örneklerinden elde edilen *S. mutans* ve laktobasil sayıları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Ancak bebeklerde her iki bakterinin miktarında da istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu saptanmıştır. Caufield ve arkadaşlarının⁽¹⁰⁾ yaptıkları çalışma sonuçlarıyla benzer bir sonuç elde edilmiş olup, anneler ve bebeklerinin *S. mutans* ve laktobasil miktarları arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Ayrıca aynı çalışmada annelerin DMFT değerleri ile bebeklerin *S. mutans* ve laktobasil miktarları arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmış ve bizim çalışmamızla benzer bir sonuç elde edilmiş olup, aralarında anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir.⁽¹⁰⁾

Buna karşılık, çalışmamızdan farklı olarak, yüksek *S. mutans* ve laktobasil seviyelerine sahip annelerin çocuklarında da bu bakterilerin yüksek olduğu öne sürülmüştür.^(22, 66, 79, 81) Ancak bu çalışmalarda kullanılan mikrobiyolojik değerlendirme yöntemleri ile bizim çalışmamızda kullanılan qRT-PCR yöntemi arasında duyarlılık farkı bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda kullanılan qRT-PCR yönteminde tükürükte var olan *S. mutans* ve laktobasillerin DNA kopya sayılarının net ve güvenilir bir şekilde belirlenebileceği belirtilmiştir.⁽⁷⁾

Anneler ve çocuklarındaki *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu arasındaki ilişki hala net olarak ispatlanamamış olup, çocukların *S. mutans* ve laktobasil seviyeleri üzerinde etkili olabilecek diğer faktörler üzerinde araştırmalar devam etmektedir. Ancak erişilebilir kaynaklarda, bu faktörlerle ilgili yapılmış az sayıda kaynağa ulaşılabilmektedir.^(2, 6, 38, 83) Çalışmamızın birinci ve ikinci bölümünde alınan tükürük

örneklerinde yenidoğanların oral mukozalarında *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu az sayıda da olsa tespit edilmiş olup, bebeklerin cinsiyeti, doğum şekli, doğum ağırlığı ve özellikle sürmüş diş varlığı gibi etkenlerin bu kolonizasyonu üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. Bebeklerden birinci ve ikinci bölümde alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil sayıları kıyaslandığında, bakteri miktarlarında anlamlı derecede bir artış olduğu saptanmış olup bu artış neden olan faktörler incelendiğinde en önemli faktörün sürmüş diş varlığı olduğu tespit edilmiştir.

Li ve Caufield'in⁽⁸⁴⁾ 1995'te genotipleme yöntemi ile yaptıkları çalışmada, 34 anne ve bebek çifti doğumdan itibaren 3 yıl süreyle takip edilmiş ve 3 ay aralarla tükürük örnekleri alınmış ve MS türlerine bakılmıştır. Otuz dört anne bebek çiftinin %71'inde tespit edilen MS'lerin aynı genotipte olduğu bulunmuştur. Bebeklerin cinsiyetlerine göre yapılan karşılaştırmada, anne-bebek arasında *S. mutans* benzerliğinin kız çocuklarında %88, erkek çocuklarında ise %53 oranında olduğunu fakat istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemediğini bildirmişlerdir.⁽⁸⁴⁾

Buna karşılık, Caufield ve arkadaşları⁽¹⁰⁾, Aaltonen ve Tenuvuo⁽⁸⁵⁾ ile Law ve Seow'un⁽¹⁶⁾ yaptıkları çocuklarda *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu ve etkileyen faktörlerin değerlendirildiği çalışmalarda, cinsiyetin, bu bakterilerin kolonizasyonu üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda bu araştırmalarla benzer sonuç elde edilmiş olup, cinsiyetin hem birinci aşamada hem de ikinci aşamada alınan tükürük örneklerindeki *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür.

Li ve arkadaşları⁽⁸³⁾, doğum şeklinin, bebeklerde erken dönem bakteri kolonizasyonunun etkilediğini belirtmişler ve yaptıkları çalışmada sezaryen doğum ile doğan çocuklarda erken *S. mutans* kolonizasyonu olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada bebeğin doğum kilosu, doğum zamanı, annenin yaşı, DMFT değeri ve sigara içme alışkanlığının olması ile *S. mutans* kolonizasyonu arasında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı belirtilmiştir.⁽⁸³⁾

Çalışmamızda, bebeğin doğum şekli, doğum kilosu, doğum zamanı, annenin yaşı, DMFT değeri ve sigara kullanma alışkanlığı gibi faktörlerinin bebek oral florasındaki *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu üzerine olan etkileri incelenmiş olup, bu faktörlerin hiçbirisinin, *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu üzerine anlamlı bir

etkisi tespit edilmemiştir. Ayrıca çalışma sonuçlarımız ile daha detaylı bir değerlendirme yaptığımızda, annenin sigara kullanımının bebeklerin *S. mutans* ve laktobasil miktarı üzerinde etkisi bulunmazken, annenin kendi oral florasındaki laktobasil miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.

Wan ve arkadaşlarının⁽⁶⁾, 6 aylık dişsiz bebeklerde yaptıkları çalışmada, *S. mutans* varlığı birçok etkene göre değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, annelerin DMFT değerlerinin, bebeklerin *S. mutans* ile enfekte olmaları üzerinde bir etkisi olmadığı bulunurken, düşük eğitim seviyesinin etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bebeklerin doğum zamanının ve biberon kullanımının, bebeklerdeki *S. mutans* varlığına etkisi bulunmazken; anne sütü ile beslenme, şeker tüketimi varlığı, ortak kaşık kullanımı ve severken yakın temasta bulunulmasının *S. mutans* kolonizasyonunun görülmesini arttırdığı bildirilmiştir. Buna ek olarak, aynı çalışmada, oral hijyen uygulaması yapılan bebeklerde *S. mutans* görülmesinin azaldığı tespit edilmiştir.⁽⁶⁾ Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak, tüm bu etkenler ile *S. mutans* miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Plonka ve arkadaşlarının⁽²⁵⁾ Avustralya'da bir devlet hastanesinde, yaş ortalaması 28±6 olan, toplam 283 anne ve bebeğinden doğum sonrası 34. gün ve 7. ayda tükürük örneği alarak yaptıkları çalışmada, dişsiz bebeklerde *S. mutans* ve laktobasil varlığı ve zaman içindeki artışının yanı sıra, annelerin sosyodemografik özelliklerinin bu sonuçlar üzerindeki etkisine de bakılmıştır. Bu çalışma sonucunda, çalışmamızla benzer bir sonuca varılmış olup, annelerin yaşı, eğitim durumu ve ağızdaki çürük diş varlığının, bebekteki *S. mutans* ve laktobasil varlığı üzerine etkisi olmadığı görülmüştür.⁽²⁵⁾

Rosenblatt ve arkadaşlarının⁽⁵⁾, bebek ve annelerinden, doğum sonrası 1-18 saat arası alınan birinci tükürük örnekleri ile 2. günde tekrar alınan tükürük örneklerindeki kültüre edilebilir aerobik mikroflora ve MS grubu bakterilerin varlığı ve anneleriyle olan ilişkisi incelenmiştir. Annenin eğitim durumu, yaşı ve bebeği severken dudaktan öpme alışkanlığının olması, bebeğin beslenme şekli, cinsiyeti ve doğum ağırlığının bebeğin tükürüğündeki kültüre edilebilir aerobik mikroflora ve MS varlığı arasında, bizim çalışmamızda olduğu gibi anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak, bu sonuçlara rağmen bebeğe MS geçişinde en büyük faktörün anne olduğu aynı çalışmada belirtilmiştir. Ayrıca, bizim çalışmamızda bebek beslenme şekli ile *S. mutans* ve

laktobasil miktarı arasında da anlamlı bir ilişki bulunamazken, bu çalışmada anne sütü ile beslenenlerde MS ve laktobasil miktarının fazla olduğu öne sürülmüştür.

Klein ve arkadaşları⁽⁷⁴⁾, yaş ortalaması 5,9±1,5 ay olan tamamı dişsiz bebeklerden oluşan 16 bebekten 20 ay boyunca, ikişer ay arayla tükürük örnekleri toplamışlardır. Bebeklerde ilk kalıcı MS kolonizasyonunun tespit edilmesinden 1 ay kadar sonra, bebeklerin annelerinden de alınan tükürük örnekleri AP-PCR yöntemini kullanılarak incelenmiştir. Anne ve bebekten elde edilen *S. mutans*'ların genotipleri karşılaştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada, anne *S. mutans* miktarının, bebeklerdeki *S. mutans* miktarı üzerinde ve bebeğe geçişi konusunda, bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olarak, herhangi anlamlı bir ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir.

Tedjosasongko ve Kozai'nin⁽⁸⁶⁾ yaptıkları çalışmada, bebeğe yemek yedirilirken annelerin, tadına ya da ısısına bakmak için önce kendi ağzına aldığı aynı kaşıkla bebeği besleme alışkanlığı ve severken ağız çevresinden öpme alışkanlıklarının, anne ağzında bulunan oral mikroorganizmaların bebeğe geçtiği gösterilmiştir.

Annelerde çocuğu severken, dudaktan öpme alışkanlığının olması, Aaltonen ve arkadaşları⁽⁸⁵⁾ tarafından, çürük oluşumu için bir risk faktörü olduğu ancak *S. mutans* ve laktobasil geçişinde bir etkisinin olmadığı söylenmiştir.

Çalışmamızda annelerin, bebeklerini beslerken kullandıkları kaşığı, biberon ve emziği, yemeklerin ısısına, tadına vb. bakmak amacıyla önce kendi ağızlarına götürüp sonra bebeğe verme ve bebeklerini severken dudaktan öpme gibi alışkanlıklarının bebeklerin oral florasındaki *S. mutans* ve laktobasil kolonizasyonu üzerine etkileri değerlendirildiğinde, tespit ettiğimiz sonuç, Aaltonen ve Tenovuo'nun⁽⁸⁵⁾ çalışması ile Tedjosasongko ve Kozai'nin⁽⁸⁶⁾ yaptığı çalışma sonucuyla benzer olup, anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca çalışmamızda, bebeklere oral hijyen uygulanma sıklığı, beslenme şekli, biberon ve emzik kullanımı, ailedeki kaçınıcı çocuk olduğu ile *S. mutans* ve laktobasil miktarları arasındaki ilişki de değerlendirilmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir.

Çalışmamız sonucunda, dişsiz bebeklerde de *S. mutans* ve laktobasillerin kolonize olabildiği ve miktarlarında diş sürmesi ile birlikte istatistiksel olarak, anlamlı ölçüde artış olduğu görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yenidoğanların ve annelerinin oral mikrofloaralarının *S. mutans* ve laktobasil varlığı açısından değerlendirilmesi ve birbirleriyle olan etkileşimlerinin incelenmesinin yapıldığı çalışmamızda;

- Yenidoğan oral mukozalarından alınan tükürük örneklerinde yapılan mikrobiyolojik inceleme sonucu, 60 yenidoğanın %37'sinde *S. mutans* varlığı tespit edilirken %63'ünde ise bakteri DNA'sı bulunamamıştır. Aynı tükürük örnekleri, laktobasillerin varlığı açısından değerlendirildiğinde ise 3 bebekte laktobasil DNA'sı tespit edilirken, 57 bebekte bu bakterinin DNA'sı saptanamamıştır.
- Çalışmamızın birinci ve ikinci bölümünde alınan tükürük örneklerinden elde edilen *S. mutans* ve laktobasil sayıları incelendiğinde, bebeklerde altıncı ayda, her iki bakterinin de sayısında anlamlı derecede bir artış tespit edilmiş olup, annelerde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır.
- Çalışmamızın ikinci bölümünde, intraoral muayenesi yapılmış olan 40 bebeğin %40'ında sürmüş diş varlığı tespit edilmiştir. Sürmüş diş ile *S. mutans* ve laktobasil sayıları arasındaki ilişki incelendiğinde, *S. mutans* sayısının sürmüş diş olan bebeklerde, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla sayıda olduğu belirlenirken, laktobasiller için istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir.

S. mutans ve laktobasillerin, anneden bebeğe geçişiyle ilgili bir görüş birliği olmasa da annelerin bebeklerinin oral flora gelişiminde önemi göz ardı edilemez. Dünya genelinde hala büyük bir sağlık sorunu olan diş çürüklerinin önlenmesi için gerekli koruyucu uygulamaların annelerin hamilelik sürecinden itibaren başlaması gerekmektedir.

Toplum ağız diş sağlığı eğitim ve uygulamaları ile annelere hamilelik sürecinde bebeklerin ağız sağlığı hakkında eğitimler verilmeli ve bebeklerin ilk diş sürmesini takiben, çocuk diş hekimi tarafından kontrollerine başlanmasının önemi vurgulanmalıdır. Bu eğitimlerin ülkemiz genelinde yaygınlaşması ile, diş çürüklerinin başlanmadan önlenmesi konusunda önemli bir adım atılabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res.* 1994;73(3):672-81.
2. Steinberg BJ, Hilton IV, Iida H, Samelson R. Oral health and dental care during pregnancy. *Dent Clin North Am.* 2013;57(2):195-210.
3. 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.
4. Zero DT. Dental caries process. *Dent Clin North Am.* 1999;43(4):635-64.
5. 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.
6. Wan A, Seow W, Purdie D, Bird P, Walsh L, Tudehope D. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old predentate infants. *J Dent Res.* 2001;80(12):2060-5.
7. Moncada G, Duperat LDC, Palma P, Corsini G, Neira M, Reyes E, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qpcr) for the identification and quantification of streptococcus mutans in saliva and dental biofilm in children. *Rev Fac Odontol Univ Antioq.* 2016;28(1):71-94.
8. Anil S, Anand PS. Early childhood caries: prevalence, risk factors, and prevention. *Front Pediatr.* 2017;5:157.
9. Hooley M, Skouteris H, Boganin C, Satur J, Kilpatrick N. Parental influence and the development of dental caries in children aged 0–6 years: a systematic review of the literature. *J Dent.* 2012;40(11):873-85.
10. 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.
11. Berkowitz RJ. Acquisition and transmission of mutans streptococci. *J Calif Dent Assoc.* 2003;31(2):135-8.
12. Watanabe K, Frommel T. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in oral plaque samples by use of the polymerase chain reaction. *J Dent Res.* 1993;72(6):1040-4.
13. Kidd E, Fejerskov O. Changing concepts in cariology: forty years on. *Dent Update.* 2013;40(4):277-86.

14. Usha C, Sathyanarayanan R. Dental caries-a complete changeover (Part I). *J Conserv Dent*. 2009;12(2):46.
15. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *The Lancet*. 2007;369(9555):51-9.
16. Law V, Seow W, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Aust Dent J*. 2007;52(2):93-100.
17. Slavkin HC. Streptococcus mutans, early childhood caries and new opportunities. *J Am Dent Assoc*. 1999;130(12):1787-92.
18. Milgrom P, Riedy C, Weinstein P, Tanner A, Manibusan L, Bruss J. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6-to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000;28(4):295-306.
19. Carle A, Olsson J, Bo A-C. Saliva-mediated binding in vitro and prevalence in vivo of Streptococcus mutans. *Archs oral Biol*. 1996;41(1):35-9.
20. Kawashita Y, Kitamura M, Saito T. Early childhood caries. *Int J Dent*. 2011;2011.
21. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*. 2002;40(3):1001-9.
22. Strużycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*. 2014;63(2):127-35.
23. Smith D, Anderson J, King W, Van Houte J, Taubman M. Oral streptococcal colonization of infants. *Oral Microbiol Immunol*. 1993;8(1):1-4.
24. Carlsson J, Grahnen H, Jonsson G. Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. *Caries Res*. 1975;9(5):333-9.
25. 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.
26. Prabhakar A, Kurthukoti A, Gupta P. Cariogenicity and acidogenicity of human milk, plain and sweetened bovine milk: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent*. 2010;34(3):239-47.
27. Harris R, Nicoll AD, Adair PM, Pine CM. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community dental health*. 2004;21(1):71-85.
28. Horiuchi M, Washio J, Mayanagi H, Takahashi N. Transient acid-impairment of growth ability of oral Streptococcus, Actinomyces, and Lactobacillus: a possible ecological determinant in dental plaque. *Oral Microbiol Immunol*. 2009;24(4):319-24.

29. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(4):613-30.
30. Samaranayake L. *Essential Microbiology for Dentistry E-Book*. 4 ed: Elsevier Health Sciences; 2011.
31. Cvitkovitch D. Genetic competence and transformation in oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Medicine.* 2001;12(3):217-43.
32. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986;50(4):353.
33. Whiley R, Bighton D. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol.* 1998;13(4):195-216.
34. Badet C, Thebaud N. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: a review of literature. *Open Microbiol J.* 2008;2:38.
35. Collins M, Rodrigues U, Ash C, Aguirre M, Farrow J, Martinez-Murcia A, et al. Phylogenetic analysis of the genus *Lactobacillus* and related lactic acid bacteria as determined by reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *FEMS Microbiology Letters.* 1991;77(1):5-12.
36. Sampaio-Maia B, Monteiro-Silva F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: an update. *Dent Res J (Isfahan).* 2014;11(3):291.
37. Caufield PW, Griffen AL. Dental caries: an infectious and transmissible disease. *Pediatr Clin North Am.* 2000;47(5):1001-19.
38. Makhoul IR, Sujov P, Ardekian L, Kassis I, Smolkin T, Abu-Elnaa j I, et al. Factors influencing oral colonization in premature infants. *Isr Med Assoc J.* 2002;4(2):98-102.
39. Finlayson TL, Gupta A, Ramos-Gomez FJ. Prenatal maternal factors, intergenerational transmission of disease, and child oral health outcomes. *Dent Clin North Am.* 2017;61(3):483-518.
40. 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.
41. Kilian M, Chapple I, Hannig M, Marsh P, Meuric V, Pedersen A, et al. The oral microbiome—an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J.* 2016;221(10):657.
42. Krishnan K, Chen T, Paster B. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Dis.* 2017;23(3):276-86.
43. Maslow J, Mulligan ME. Epidemiologic typing systems. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996;17(9):595-604.

44. Parahitiyawa N, Scully C, Leung W, Yam W, Jin L, Samaranayake L. Exploring the oral bacterial flora: current status and future directions. *Oral Dis.* 2010;16(2):136-45.
45. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol.* 2001;183(12):3770-83.
46. He Xs, Shi Wy. Oral microbiology: past, present and future. *Int J Oral Sci.* 2009;1(2):47.
47. Asikainen S, Karched M. Molecular Techniques in Oral Microbial Taxonomy, Identification and Typing. In: Rogers A, editor. *Molecular Oral Microbiology.* Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2008. p. 1-19.
48. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H, editors. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol;* 1986: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
49. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am.* 1990;262(4):56-65.
50. Arı Ş. DNA'nın PCR ile Çoğaltılması. In: Temizkan G, Arda N, editors. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. BİYOGEM, İSTANBUL: Nobel Tıp Kitabevi;* 2004. p. 101-20.
51. Pfaller MA. Molecular approaches to diagnosing and managing infectious diseases: practicality and costs. *Emerging Infect Dis.* 2001;7(2):312.
52. Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Tang Y-w, Unger ER, Relman DA, et al. *Moleküler Mikrobiyoloji: Tanı Prensipleri ve Uygulamalar.* Ankara: Palme Yayıncılık; 2006.
53. Bastien P, Procop GW, Reischl U. Quantitative real-time PCR is not more sensitive than “conventional” PCR. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6):1897-900.
54. Houghton SG, Cockerill FR. Real-time PCR: overview and applications. *Surgery.* 2006;139(1):1-5.
55. Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. *Adv Physiol Educ.* 2005;29(3):151-9.
56. Wilhelm J, Pingoud A. Real-time polymerase chain reaction. *Chembiochem.* 2003;4(11):1120-8.
57. Wang ML, Dorer DJ, Fleming MP, Catlin EA. Clinical outcomes of near-term infants. *Pediatrics.* 2004;114(2):372-6.

58. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr.* 1967;71(2):159-63.
59. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, et al. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(D1):D37-D42.
60. Köhler B, Andreen I. Influence of caries-preventive measures in mothers on cariogenic bacteria and caries experience in their children. *Arch Oral Biol.* 1994;39(10):907-11.
61. Usha M, Deepak V, Venkat S, Gargi M. Treatment of severely mutilated incisors: a challenge to the pedodontist. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2007;25(5):34.
62. Taani DMQ. Dental fear among a young adult Saudian population. *Int Dent J.* 2001;51(2):62-6.
63. Ng MW, Ramos-Gomez F, Lieberman M, Lee JY, Scoville R, Hannon C, et al. Disease management of early childhood caries: ECC Collaborative Project. *Int J Dent.* 2014;2014.
64. Karacalar S, Aykaç B. Dental Girişimlerde Genel Anestezi Uygulamaları. *Marmara Med J.* 2010;23(3).
65. Kanellis MJ, Damiano PC, Momany ET. Medicaid costs associated with the hospitalization of young children for restorative dental treatment under general anesthesia. *J Public Health Dent.* 2000;60(1):28-32.
66. Cephas KD, Kim J, Mathai RA, Barry KA, Dowd SE, Meline BS, et al. Comparative analysis of salivary bacterial microbiome diversity in edentulous infants and their mothers or primary care givers using pyrosequencing. *PLoS One.* 2011;6(8):e23503.
67. WHO. Health21: the health for all policy framework for the WHO European Region: World Health Organization. Regional Office for Europe; 1999.
68. Doğan BG, Gökalp S. Türkiye’de diş çürüğü durumu ve tedavi gereksinimi 2004. *Hacettepe Diş Hek Fak Derg.* 2008;32(2):45-7.
69. Saydam G, Oktay İ, Ingolf M. Türkiye’de Ağız Diş Sağlığı Durum Analizi. İstanbul: T.C.Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı; 1990.
70. TDB. Toplum Ağız Diş Sağlığı Haftası Basın Toplantısı Ankara2012. [cited 2019 Apr 5] Available from: URL:http://www.tdb.org.tr/tdb/v2/basin_icerik.php
71. Ozer S, Sen Tunc E, Bayrak S, Egilmez T. Evaluation of certain risk factors for early childhood caries in Samsun, Turkey. *Eur J Paediatr Dent.* 2011;12(2):103.

72. Berkowitz R, Jordan H, White G. The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouths of infants. *Archs oral Biol.* 1975;20(3):171-4.
73. Berkowitz R, Turner J, Green P. Primary oral infection of infants with *Streptococcus mutans*. *Archs oral Biol.* 1980;25(4):221-4.
74. Klein MI, Flório FM, Pereira AC, Höfling JF, Gonçalves RB. Longitudinal study of transmission, diversity, and stability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes in Brazilian nursery children. *J Clin Microbiol.* 2004;42(10):4620-6.
75. Nelson-Filho P, Borba IG, Mesquita KSFD, Silva RAB, Queiroz AMd, Silva LAB. Dynamics of microbial colonization of the oral cavity in newborns. *Braz Dent J.* 2013;24(4):415-9.
76. Sklavounou A, Germaine G. Adherence of oral streptococci to keratinized and nonkeratinized human oral epithelial cells. *Infect Immun.* 1980;27(2):686-9.
77. Wan A, Seow W, Walsh L, Bird P, Tudehope D, Purdie D. Association of *Streptococcus mutans* infection and oral developmental nodules in pre-dentate infants. *J Dent Res.* 2001;80(10):1945-8.
78. 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.
79. Teanpaisan R, Thitasomakul S, Piwat S, Thearmontree A, Pithpornchaiyakul W, Chankanka O. Longitudinal study of the presence of *mutans streptococci* and *lactobacilli* in relation to dental caries development in 3–24 month old Thai children. *Int Dent J.* 2007;57(6):445-51.
80. Hegde S, Munshi A. Influence of the maternal vaginal microbiota on the oral microbiota of the newborn. *J Clin Pediatr Dent.* 1998;22(4):317-21.
81. Berkowitz R, Turner J, Green P. Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection of infants. *Archs oral Biol.* 1981;26(2):147-9.
82. Matsumiya Y, Kato N, Watanabe K, Kato H. Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal *Lactobacillus* species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *J Infect Chemother.* 2002;8(1):43-9.
83. 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.

84. 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.
85. Aaltonen AS, Tenovouo J. Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children: a cohort study. *Pediatr Dent.* 1994;16:110-.
86. Tedjosongko U, Kozai K. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. *ASDC J Dent Child.* 2002;69(3):284-8.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Onay Belgesi

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

2017

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA
	TELEFON	0 (242) 249 69 54
	FAKS	0 (242) 249 69 03
	E-POSTA	etik@akdeniz.edu.tr
	ETİK KURUL KODU	2012-KAEK-20
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Hüseyin KARAYILMAZ	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Yenidoğanların ve Annelerinin Oral Mikrofloralarının ve Birbirleriyle Olan Etkileşimlerinin Değerlendirilmesi	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 655	Tarih: 01.11.2017
	Yukarıdaki bilgileri verilen çalışmanın bütçesinin Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir. Araştırmacılara çalışmalarında başarılar dileriz	

Prof.Dr. Arda USALARGİL
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Öğr.Gör.Dr.M.Levent ÖZGÖNÜL
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr.Selahattin KUMRU
Üye

Doç.Dr.Gülşüm Özge BAYSAL
Üye

Yrd.Doç.Dr.Mehmet TURKAY
Üye

Turgut ALTUN
Üye

Prof.Dr.Murat CANPOLAT
Üye

Prof.Dr.Bilge KARSLI
Üye

Doç.Dr.Dijle KİPMEN KORGUN
Üye

Yrd.Doç.Dr.Banur NUR
Üye

Av.Mustafa AÇIKEL
Üye

Prof.Dr.Dilara İNAN
Üye (izinli)

Prof.Dr.Veli YAZISIZ
Üye

Doç.Dr.Öğuz DEĞİRSUN
Üye

Dr.Ünal HÜLÜR
Üye (izinli)

EK-2. Akdeniz Üniversitesi Hastane Başmüdürlüğü İzin Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 26/03/2018-E.38861



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Üniversite Hastanesi Başmüdürlüğü



Sayı : 26708535-903.99-E.38861
Konu : Çalışma İzni

26/03/2018

Sayın Doç.Dr. Hüseyin KARAYILMAZ

İlgi : 22/03/2018 tarihli ve 48031751-903.99-E.37143 sayılı yazı,

Üniversitemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D'dan Prof. Dr. Mustafa AKÇAKUŞ ve Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D'dan Arş. Gör. Dt. Cansu AY (Diş Hekimliği Uzmanlık Öğrencisi) ile birlikte yürütecek oldukları "Yenidoğanların ve Annelerinin Oral Mikrofloralarının ve Birbirleriyle Olan Etkileşimlerinin Değerlendirilmesi" isimli uzmanlık tez çalışması kapsamında, yenidoğan bebeklerin ve annelerinin oral kavitelerinden swab yardımı ile tükürük sürüntü örneği almaları uygun görülmüştür.

Gereğini rica ederim.

e-İmzalıdır
Prof.Dr. Bülent AYDINLI
Başhekim

Adres: Akdeniz Üniversitesi Sağlık, Araştırma ve Uygulama Merkezi (Hastane)
Telefon: 2422496000 Faks: 2422496040
e-Posta: yuziil@akdeniz.edu.tr Elektronik Ağ: www.akdeniz.edu.tr

Bilgi için: Habibe AYDINER
Unvanı: Sekreter
Tel No: 2422496290

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı



Sayı : 48031751-903.99-E.37143
Konu : Çalışma İzni

22/03/2018

SAĞLIK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ (HASTANE) BAŞHEKİMLİĞİNE

İlgi : 13.03.2018 tarih ve 26708535-E.33151 sayılı yazınız.

İlgili yazıda belirtilen Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı araştırma görevlisi Dt. Cansu AY ve Anabilim Dalımız Öğretim Üyesi Prof.Dr. Mustafa AKÇAKUŞ' un, birlikte yürütecekleri "Yenidoğanların ve Annelerinin Oral Mikrofloralarının ve Birbirleriyle Olan Etkileşimlerinin Değerlendirilmesi" isimli uzmanlık tez çalışmasının Anabilim Dalımız bünyesinde yapılması uygun bulunmuştur.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

e-İmzalıdır
Prof.Dr. Fırat KARDELEN
Anabilim Dalı Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	CANSU	Uyruğu	T.C.
Soyadı	AY	Tel no	
Doğum tarihi	02.08.1987	e-posta	cansuayy@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Eminönü Cibali Lisesi	2004
Lisans/Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	2012
Doktora/Uzmanlık	Akdeniz Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	2019

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	2016-2019

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YDS	67,5

Bildiriler:

Güngör Ö. Ay C. Karakaş A. Epidermolizis Bulloza: Bir Olgu Sunumu, Türk Pedodonti Derneği 24. Bilimsel Kongresi. 19-22 Ekim 2017. Antalya, Türkiye.

Karayılmaz H. Ay C. Akçakuş M. Evaluation the Level of Streptococcus Mutans and Lactobacilus in Oral Microflora of Newborns and Their Mother's in Two Days After Birth. World Congress on Pediatric Nutrition and Child Health. 13-14 May 2019. Paris, France.