



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**AĞIZDA MAYA YÜKÜNÜN BELİRLENMESİ VE
İZOLE EDİLEN CANDIDA CİNSİ MAYALARIN
TANIMLANMASI**

Hazırlayan
GÜLÇİN ÖZCAN ATEŞ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Müşerref Otkun

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE-2020



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**AĞIZDA MAYA YÜKÜNÜN BELİRLENMESİ VE
İZOLE EDİLEN CANDİDA CİNSİ MAYALARIN
TANIMLANMASI**

Hazırlayan

GÜLÇİN ÖZCAN ATEŞ

Tez Danışmanı

PROF. DR. MÜŞERREF OTKUN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE-2020

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nce desteklenmiştir. Proje No: ÇOMÜ-BAP-TYL-2559.

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı :Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü
Program Adı : Tezli Yüksek Lisans
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Gülçin ÖZCAN ATEŞ
Tez Başlığı :Ağızda Maya Yükünün Belirlenmesi Ve İzole Edilen *Candida*
Cinsi Mayaların Tanımlanması
Sınav Yeri : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi
Sınav Tarihi :16.01.2020

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi




Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Müşerref OTKUN	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof. Dr. Ahmet ÜNVER	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Prof. Dr. Şaban GÜRÇAN	Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans/Doktora Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Çanakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences
Programme Name : Masters with thesis
Programme Level : Master of Science
Department : Department of Medical Microbiology
Student Name and Surname: Gülçin ÖZCAN ATEŞ
Title of the Thesis : Determination Yeast Load and Identification of *Candida* spp. Isolated from Mouth
Examination Place : Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine,
Examination Date : 16.01.2020

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Prof. Dr. Müşerref OTKUN	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology	
Members of Examination Jury(Titles and Names)		
Prof. Dr. Ahmet ÜNVER	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology	
Prof. Dr. Şaban GÜRCAN	Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated and numbered

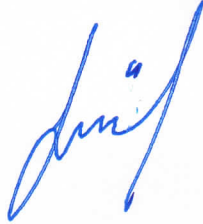
BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8’de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih:16.01.2020

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Gülçin ÖZCAN ATEŞ

İmza:



TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, yüksek lisansım süresince yardımlarını benden bir an olsun esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Müşerref OTKUN'a,

2010 yılından beri birlikte çalıştığım, emeklerinin hakkını ödeyemeceğim, yeri geldiğinde anne, yeri geldiğinde bir abla ve bazen de en yakın arkadaşım olan saygı değer hocam Doç. Dr. Nükhet Nilüfer DEMİREL ZORBA'ya,

Doğduğum günden beri yanımda olan, eğitim-öğretim hayatına atıldığımdan beri hiçbir zaman benden hem manevi hem maddi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda duran ve benimle birlikte hem mutlulukları hem de zorlukları göğüsleyen canım annem ve babam Aysel – Gürel ÖZCAN'a,

Lisansüstü eğitimlerim süresince her zaman benimle birlikte çalışan, yeri geldiğinde birlikte laboratuarda analizlerimizi yaptığımız her zaman yanımda olan iyisiyle kötüsüye her şeyimizi paylaştığımız can kardeşim Egemen ÖZCAN'a,

Eğitim hayatımın son üç yılında benimle olmasına rağmen beni her zaman ve her koşulda destekleyen sevgili eşim Tayfun ATEŞ'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gülçin ÖZCAN ATEŞ
Çanakkale, Ocak 2020

ÖZET

AĞIZDA MAYA YÜKÜNÜN BELİRLENMESİ VE İZOLE EDİLEN CANDIDA CİNSİ MAYALARIN TANIMLANMASI

Mikrobiyota, insan vücudun çok önemli bir parçasıdır ve ağız mikrobiyotası insan mikrobiyotasının önemli bir kısmıdır. Ağız, birçok mikroorganizmayı yapısında içermektedir. Bu mikroorganizmalar, bakteri, maya, küf, protozoon ve arkelerdir. Mikrobiyota çalışmalarında genel olarak bakteriyel mikrobiyota belirlenirken, fungal mikrobiyota ile ilgili çalışmalar az bulunmaktadır. Bununla birlikte son zamanlarda fungal mikrobiyota üzerine olan çalışmalar hızla artmaktadır. Mikrobiyota günümüzde insan vücudunun bir organı olarak kabul edilmekte ve sağlığı etkilediği üzerine çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Hatta bazı durumlarda mikrobiyotanın bir parçası olan mikroorganizmanın, çeşitli koşullar altında fırsatçı patojen durumunda hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Özellikle *Candida* cinsi mayalar fırsatçı patojen mikroorganizmalardır. Bu nedenle araştırmamızda sağlıklı 18-25 yaş arası genç bireylerin ağız mikrobiyotasında bulunan maya yükleri ve *Candida* cinsleri belirlenmiştir. Çalışmamıza katılan 31 katılımcıdan örnek alınmıştır ve katılımcılara anket uygulanmıştır. Katılımcılardan alınan örneklerin SCAF ve SDA besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Sonuç olarak sağlıklı 18-25 yaş arası genç bireylerin ağız maya yükünün SCAF besiyerinde $0,01 \pm 0,01$ ve $1,87 \pm 0,01$ log kob ve SDA besiyerinde bakteri ve maya yükünün ise $0,01 \pm 0,01$ ve $>3,00 \pm 0,01$ log kob düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Sayım petrilerinden toplam 500 adet izolat alınmıştır. Alınan izolatlardan öncelikle lam-lamel arası preparatları hazırlanarak maya olup olmadığı belirlenmiştir. 140 izolatın maya olduğu belirlenmiştir. Maya olduğu belirlenen izolatlara GTT yapılmıştır. GTT ile 108 tanesinin muhtemel *Candida albicans/dublinensis* olabileceği belirlenmiştir. 140 izolat daha sonra MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. İzolatların 54 tanesi *C. albicans*, 5 tanesi *C. albicans (africana)*, 46 tanesi *C. dublinensis*, 28 tanesi *C. parapsilosis*, 3 tanesi *C. inconspicua*, 3 tanesi *Pichia manshurica* ve 1 tanesi *Wickerhamomyces subpelliculosus* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Ağız maya yükü, *Candida* spp., Ağız mikrobiyotası, MALDI-TOF MS.

ABSTRACT
DETERMINATION YEAST LOAD AND IDENTIFICATION OF CANDIDA
SPP. ISOLATED FROM MOUTH

Microbiota is a very important part of the human body and the oral microbiota is an important part of the human microbiota. The mouth contains many microorganisms such as bacteria, yeast, mold, protozoa and archaea. While in microbiota studies are generally determined in bacterial microbiota, there are few studies about fungal microbiota. Moreover, recent studies on fungal microbiota are rapidly increasing. Today, microbiota is accepted as an organ of the human body and there are various studies on its effects of human health. It is known that, in some cases, the microorganisms as known opportunistic pathogens such as *Candida* genus yeasts, which is part of the microbiota, causes diseases under changed conditions. For this reason, yeast loads and *Candida* genus which found in the oral microbiota of healthy 18-25 years old individuals were determined in our study. A sample was taken from 31 participants and a questionnaire was applied to the participants. As a result, the yeast load of healthy individuals between the ages of 18-25 years were determined 0.01 ± 0.01 and 1.87 ± 0.01 log cfu in SCAF medium and 0.01 ± 0.01 and $>3.00 \pm 0.01$ log cfu in SDA medium. A total of 500 isolates were isolated. Isolates were evaluated microscopically and 140 isolates were found to be yeast. It was determined by GTT that 108 isolates could be *Candida albicans/dublinensis*. Then, 140 isolates were identified by MALDI-TOF MS. Isolates were identified as 54 isolates of *C. albicans*, 5 isolates of *C. albicans (africana)*, 46 isolates of *C. dublinensis*, 28 isolates of *C. parapsilosis*, 3 isolates of *C. inconspicua*, 3 isolates of *Pichia manshurica* and 1 isolates of *Wickerhamomyces subpelliculosus*.

Keywords: Oral yeast load, *Candida* spp., Oral microbiota, MALDI-TOF MS.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ ONAY FORMU.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
2.1. İnsan Ağzında Yaşayan Mikroorganizmalar	6
2.2. Oral Mikobiyom ve Oral Fizyoloji.....	6
2.3. Tükürük ve Mikobiyom.....	7
2.4. Periodontal Hastalık Mikobiyomu	8
2.5. Endodontik Enfeksiyonların Mikobiyomları.....	9
2.6. Çeşitli Hastalıklar ve Oral Mikobiyom ile İlişkisi	11
2.7. Oral Mikobiyom ve Oral Karsinom	12
2.8. <i>Candida spp.</i>	13
2.8.1. <i>Candida</i> Türlerinin Patojenik Özellikleri	14
2.8.2. Oral Kandidoz, Patogenitesi ve Etkenleri.....	15
2.8.3. Oral Kandidozun Ayırıcı Tanısı	18
2.8.4. Oral Biyofilm.....	18
2.8.5. Örnekleme ve İzolasyon yöntemleri	20
2.8.5.1. <i>Candida</i> Türlerinin Mikroskopik Özellikleri.....	22
2.8.5.2. <i>Candida</i> için Kullanılan Besiyerler	24
2.8.5.3. <i>Candida</i> Türlerinin Tanımlanması.....	25
2.8.6. Ağızdan Toplanan Örneklerin Mikrobiyolojik Analizi	27
2.8.7. Oral Kandidozun Tedavisi	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Araştırma Evreni Ve Örnekleme.....	29
3.2. Yöntem	29
3.3. İstatistiksel Analizler.....	31

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	32
4.1. Katılımcılara Uygulanan Anket ve Sonuçları.....	32
4.2.Oral Maya Yüğü	35
4.3. İzolatların İdentifikasyonu	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
KAYNAKLAR	49
EKLER.....	I
EK 1. Anket Örneği.....	II
Ek 2. Etik Kurul İzni	III
Ek 3. Kurum İzni.....	IV
ÖZGEÇMİŞ	V



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. <i>Candida</i> spp. KOH preparat mikroskop görüntüsü.	22
Şekil 2.2. A; Calcofluor boyama ışık mikroskobu görüntüsü ve B; Ultraviyole ışık altında görüntüsü (40X).	23
Şekil 2.3. <i>Candida albicans</i> gram ve periyodik asit-Schiff boyama mikroskop görüntüsü.....	23



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
	No
Tablo 2.1: <i>Candida albicans</i> ile ilişkili virülans faktörleri	15
Tablo 2.2: Oral kandidoz sınıflandırılması.	16
Tablo 2.3: Ağız boşluğundan <i>Candida</i> türlerinin izolasyon metotları, avantaj ve dezavantajları	21
Tablo 2.4: <i>Candida</i> türlerinin morfolojik özellikleri	22
Tablo 4.1. Katılımcıların demografik özellikleri, ağız sağlığı ve hijyeni ile ilgili bilgileri	33
Tablo 4.1. (devamı) Katılımcıların demografik özellikleri, ağız sağlığı ve hijyeni ile ilgili bilgileri	34
Tablo 4.2. Katılımcıların oral maya yükünü belirlemede kullanılan dilüsyon yöntemi ile maya yükü (log kob) ve alınan izolat sayıları	35
Tablo 4.3. Katılımcıların oral maya yükünü belirlemede kullanılan santrifüj yöntemi ile maya yükü (log kob) ve alınan izolat sayıları	36
Tablo 4.4. İzolatların isimlendirilmesi	39
Tablo 4.4. (devamı) İzolatların isimlendirilmesi.....	40
Tablo 4.4. (devamı)İzolatların isimlendirilmesi.....	41
Tablo 4.4. (devamı)İzolatların isimlendirilmesi.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
AP	Agresif periodontitis
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CP	Kronik periodontitis
ELISA	Enzim bağlı immunosorbent analiz
gr	Gram
GTT	Germ tüp testi
HIV	Human Immuno-deficiency virüs
HOMD	İnsan Oral Mikrobiyom Projesi
ITS	Ribozomal RNA (rRNA) Internal Transcribed Spacer gen bölgesi
İMP	İnsan Mikrobiyom Projesi
kob (cfu)	Koloni oluşturan birim (colony forming unit)
KOH	Potasyum hidroksit
MALDI-TOF MS	Matris destekli lazer desorpsiyon / iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrofotometrisi
mL	Mililitre
NGS	Next Generation Sequencing (Yeni Nesil Dizileme)
OSCC	Oral skuamöz hücreli karsinom
PBS	Fosfat tamponlu su
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
RAPD DNA	Random amplified polymorphic DNA
REP PCR	Repeat sequence amplification PCR
RFLP	Restriction fragment length polymorphisms
RIA	Radyoimmuno analiz
SCAF	Saboroud Dextrose Agar with Chloromphenicol (Kloramfenikol içeren Saboroud Dextrose Agar)
SDA	Saboroud Dextrose Agar
SDB	Saboroud Dextrose Broth

1. GİRİŞ

İnsan vücudu, diğer karmaşık çok hücreli tüm ökaryotlar gibi içerisinde veya yüzeyinde çok sayıda mikroorganizmaya sahiptir. Bakteriyel bileşenler toplam mikrobiyal sayımın %99'unu oluşturur ve bu nedenle çekirdek mikrobiyom olarak adlandırılırken, kalan daha az miktarda ve daha fazla çeşitlilik gösteren mikrobiyota “nadir bir biyosfer” oluşturur. Nadir görülen biyosferin önemli bir kısmını ise funguslar (mikrobiyom) oluşturmaktadır. Mikrobiyomun yüzdesi düşük olmasına rağmen insan sağlığı ve hastalığı üzerindeki etkisi geniş kapsamlıdır. Örneğin, nadir biyosferi oluşturan 5,1 milyon fungus türünün 600'ünden fazlasının hafif yüzeysel hastalıktan derine inen hastalıklara, hayatı tehdit eden, sistemik enfeksiyonlara kadar çeşitlilik gösteren insan hastalıklarına neden olduğu tahmin edilmektedir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

İnsan Mikrobiyom Projesi'nde (İMP) çok sayıda bakteri tanımlanıp sınıflandırılmış olmasına rağmen, mikrobiyom, virome (virobiome) ve parazitome dahil nadir biyosferin kritik bileşenleri üzerine dikkat daha az olmuştur. Özellikle dünya çapında bağışıklık sistemi baskılanmış popülasyonların artışı ile birlikte sürekli artan fungal enfeksiyon insidansına rağmen, yerleşik fungusların insan vücudundaki çeşitliliği ve işlevselliği daha az çalışılan bir alan olmuştur. Buna bağlı olarak oral mikrobiyomun fungal bileşeni olan “oral mikrobiyom” da dikkat çekmektedir. Oral mikrobiyom üzerine çalışmaların az olmasının bazı nedenleri bulunmaktadır. Bu nedenler arasında, geleneksel laboratuvar ortamında birçok mantarın kültüre edilmemesi ve karmaşık genetik kompozisyona sahip ökaryotların tespit edilmelerinde olan zorluklar sayılabilir. Ek olarak, geleneksel yöntemlerden koloni oluşturan birim (kob) analizi yapıldığında oral mikrobiyomun %0,1'den daha azını yansıttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, oral mikrobiyomun geleneksel laboratuvar kültürlerinde baskın bakteriler tarafından baskılandığını belirlemişlerdir. Diğer nedenler arasında fungusların adlandırılmasında ve fungus veritabanlarındaki zorluklar ile fungusların adlandırılmasında ortaya çıkan tarihsel fazlalıklar ve hatalar sayılabilir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

Tüm insan vücudu bölgeleri, tipik olarak konak ile uyum içinde bir arada bulunan insan mikrobiyomu olan karakteristik bir mikrobiyota ile kolonize edilmektedir (Wade, 2013). Ağız mikrobiyotası ise insan vücudundaki en kompleks ve çeşitli mikrobiyal topluluklardan biridir. İnsan ağızı, virüsler, protozoonlar, funguslar, arkealar ve bakteriler de dahil olmak üzere mikroorganizmalar tarafından yoğun şekilde kolonize durumdadır. Ağız (dişler, dil, yanaklar, sert ve yumuşak damaklar, dişeti ve bademciklerden oluşur) boşluğunda 600'den

fazla bakteri türü ve 100'e yakın fungus türü bulunmaktadır. Ağızda bulunan mikroorganizma topluluğu yaklaşık 1000 türle oldukça karmaşıktır ve kolondan sonra vücudun ikinci en karmaşık mikrobiyotasına sahip olduğu gösterilmiştir. (Huffnagle ve Noverr, 2013; Wade, 2013; Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampio-Maia, 2014; Wu ve ark., 2016; Garg ve ark., 2017).

Vücudumuzun çeşitli yerlerinde mikrobiyota kommensal olarak yaşamakta iken, ağız mikrobiyotası diğer mikrobiyotalardan farklı olarak çoğu bireyde hastalıklardan sorumlu olmaktadır. Özellikle diş çürüğü ve periodontal hastalıklar ağızda en yaygın görülen iki hastalıktır ve insan ağız normal mikrobiyota üyeleri bu hastalıklarla ilişkilidir. Nüfusun yaklaşık %90'ında bir veya daha fazla bölgede dişeti iltihabı bulunurken, %10–15'i ise periodontite karşı hassastır. Diş çürüğü için birincil risk faktörü, fermente olabilen karbonhidratların aşırı tüketimidir. Diş çürüklüğü prevalansı ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermekle birlikte küresel bir sorun olmaya devam etmektedir. Ağızda en çok görülen hastalıklardan biri, hafif ve geri dönüşümlü diş eti iltihabı ile periodontal hastalıktır. Periodontitis, yumuşak doku ve kemik dokusunun tahrip edilmesine neden olan kronik bir hastalıktır. Bu nedenle, özellikle gelişmiş ülkelerdeki insanlar diş macunu ile fırçalamak ve/veya ağız gargaraları ile durulama yapmak gibi normal ağız hijyen uygulamaları yapmaktadırlar. Periodontal hastalıkların ilerlemesinin, ilişkili mikrobiyal topluluk ile konakçı yanıtı arasındaki karmaşık etkileşimin bir sonucu olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Oral bakterilerin bu yaygın hastalıklardaki önemi nedeniyle, oral bakteriyel toplulukların sağlık ve hastalıktaki bileşimi ve işlevleri yoğun olarak incelenmektedir. (Huffnagle ve Noverr, 2013; Wade, 2013; Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampio-Maia, 2014, 2014; Garg ve ark., 2017).

Ağız boşluğunda birçok mikroorganizma bulunmaktadır ve bu mikrobiyal topluluk, farklı ağız yapıları ve dokuları, diyet, diş hijyeni, ksenobiyotikler ve konakçı genetiğinden etkilenmektedir. Ağız boşluğundan izole edilen mikroorganizmalar diş çürüğü, periodontitis, bademcik iltihabı gibi ağız hastalıklarının oluşumunda rol oynar. Kısacası, ağız boşluğunda yaşayan mikroorganizmalar ve bunların birbirleriyle olan ilişkileri, sağlık ile hastalık arasındaki denge için gerekli bileşenlerin temelini oluşturmaktadır. Bununla birlikte hem gastrointestinal sistem hem de solunum sistemi için giriş kapısı olan ağzın mikrobiyolojisinin incelenmesi oldukça önemlidir ve sağlık ile hastalıktaki mikrobiyal toplulukları neyin oluşturduğunu anlamamıza yardımcı olacaktır. Bu nedenle, insan ağzının mikrobiyolojisini incelemek çok önemlidir. (Wade, 2013; Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampio-Maia, 2014; Garg ve ark., 2017).

Oral mikrobiyom 16S ribozomal RNA ile kültürden bağımsız olarak tanımlanmıştır. İnsan Oral Mikrobiyom Veri Tabanında (HOMD) 16S rRNA tanımlama özellikleri ve genomik bilgileri ile birlikte oral bakterilerin bir listesi www.homd.org adresinde çevrimiçi olarak mevcuttur. *Methanobrevibacter* cinsine ait az sayıda tür, *Archaea*'nın tek temsilcisidir. *Bacteria* domaininden 15 sınıf bulunduğu belirlenmesine rağmen bunların %96'sının 6 sınıfa ait olduğu belirlenmiştir. Bu sınıflar *Actinobacter*, *Bakteroides*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* ve *Spirochaetes*'tir. 16S rRNA ile supragingival plakta, *Streptococcus mutans* türünün baskın olduğu bununla birlikte diğer *S. sanguinis*, *S. mitis* ve *S. salivarius* ile Laktobasillerin ve *Veillonella* türünün bulunduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, subgingival plakta esas olarak periodontal patojenler olarak bilinen *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella intermedia* gibi Gram negatif anaerobik bakterilerin bulunduğunu bildirmişlerdir. Topluluk profili oluşturma için yeni nesil sekanslama tekniklerinin (Next Generation Sequencing, NGS) kullanılması insan mikrobiyomunun analizlerinin kapsamını büyük ölçüde arttırmaktadır. NGS platformlarının gelişi, ilk kez oral mikrobiyomun gizli dünyasını aydınlatmıştır ve oral mikrobiyomun aşamalı olarak azaltılmasını sağlayan literatür oluşturulmuştur. Ancak, NGS teknoloji platformları ve bu tür araştırmalardan çıkan verilerin analizi oldukça maliyetlidir, bu nedenle araştırmalarda örneklem sınırlıdır. Bununla birlikte, mikro akışkan teknolojisinin yeni ortaya çıkışı bir umut ışığıdır. NGS ile birlikte kullanılan bu son teknoloji (Fluidigm multiplex PCR gibi), tek bir adımda 40 kadar numunenin büyük verimlilik ve maliyet tasarrufuyla analiz edilmesini sağlamaktadır. (Kranefeld ve ark., 2012; Huffnagle ve Noverr, 2013; Metwalli, Khan, Krom ve Jabra-Rizk, 2013; Wade, 2013; Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014; Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampio-Maia, 2014; Garg ve ark., 2017; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019)

Oral mikrobiyota genellikle bir biyofilm şeklinde bulunur ve oral homeostazın ve ağız boşluğunun korunmasında ve hastalık gelişiminin önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Oral bakterilerin kültürel yöntemlerle üretilmesinin nedenleri arasında birçok mikroorganizma türünün bulunduğu bir biyofilmde olması, besinleri paylaşması ve mikroorganizma topluluğu üyeleri ile iletişim kurmasıdır. *Fretibacterium fastidiosum* olarak adlandırılan ve *Synergistetes* sınıfında yer alan daha önceleri kültüre edilemiyorken, karışık laboratuvar kültürlerinin koloni hibridizasyonu zenginleştirilmesi yöntemi ile kültüre edilmesi yapılabilmektedir. Mikrobiyomik, metagenomik ve transkriptomik alandaki son gelişmeler oral hastalıklarda konakçı-bakteriyel etkileşimlerin anlaşılmasını ve yeni önleme ve tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde katkı sağlayacağı belirtilmiştir. (Huffnagle ve

Noverr, 2013; Wade, 2013; Monteiro–da–Silva, Araujo ve Sampio–Maia, 2014; Garg ve ark., 2017; Jia ve ark., 2018).

Oral mikrobiyom alanında ele alınması gereken çok sayıda soru vardır. Oral mikrobiyom ile ilgili araştırmalar řu ana kadar dinamik fungus popölasyonunun anlık sonuçlarını göstermektedir. Fakat bebeklikten yetişkinliğe kronolojik çalışmaları eksiktir. Ağızdaki bakteri-fungusların içe içe olmaları dolayısıyla sadece yapısal ve fonksiyonel ilişkilerinin değil, aynı zamanda sinerjistik veya antagonistik etkilerinin belirlenmesi de diğer önemli bir alandır. Diğer sorular, fungus topluluğunun oral bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini ve çeşitli periodontal hastalıklar veya çürükler gibi ağız hastalıklarında patojen olup olmadıklarının belirlenmesi diğer önemli bir alandır. (Pereira, Seneviratne, Koga–Ito ve Samaranayake, 2018). Son olarak, oral ekosistemde mevcut olan düşük mantar biyokütlesinin örneklenmesi de dahil olmak üzere kapsamlı ve güvenilir bir referans veri tabanı oluşturulması ve fungus mikrobiyomu verilerinin üretilmesinde metodolojik zorlukların ele alınması için araştırma yapılması gerekmektedir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019)

Sekans analizine dayalı korelasyon çalışmaları kardiyovasküler hastalık, felç, preterm doğum, diyabet ve pnömoni gibi bir dizi sistemik hastalıkta ağız bakterilerinin rol oynadığını göstermiştir. Ağız mikrobiyotasının belirlenmesi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir, fakat mikrobiyom tarafından üretilen metabolitlerin rolü tam olarak belirlenememiştir. Bununla birlikte ağız mikrobiyomunda ve burun mikrobiyomunda bulunan bazı metabolitler karakterize edilmiştir (Zipperer ve ark., 2016; Garg ve ark., 2017). Örneğin ağız mikrobiyomunda kommensal olarak yaşayan *Streptococcus salivarius* bakterisinin in vitro olarak halitozis (ağız kokusu) ile ilişkili *Prevotella* cinsinin siyah pigmentli bir suşunu inhibe eden salivarisin A ve B olarak adlandırılan antibiyotik peptidler ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca diş çürümelerinde demineralizasyonun kommensal olarak bulunan *Streptococcus mutans* türü tarafından üretilen laktik asit üretiminden dolayı asiditenin artmasından kaynaklandığı ileri sürülmüştür. *Lactobacillus* spp. gibi bazı diğer türlerde laktik asit üretmeleri sebebiyle çürük oluşumuna neden olabilmektedir. Laktik aside ek olarak *S. mutans*, ağız boşluğunda karşılaştığı mikroaerofilik koşullar altında format, asetat, etanol ve iki farklı mutanobaktin metabolitlerini de üretebilmektedir. *S. mutans* UA159 suşundan izole edilen Mutanobactin A, ikili roller içeren melez bir poliketid-non-ribozomal peptittir. *S. mutans* bakterisinin ağız boşluğuna kolonize olması maya patojeni olan *Candida albicans* mayasının zararsız maya benzeri bir durumdan hifal biçimine geçmesini önlemektedir. Bununla birlikte ağız mikrobiyotası ve konakçı etkileşimlerini tam olarak anlamak için

filogenetik, metagenomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik yaklaşımların bir kombinasyonu gerekmektedir (Wade, 2013; Garg ve ark., 2017).

Funguslar, insanlar, hayvanlar, meyveler, sebzeler ve bitki materyali üzerinde kolonize olabilen mikroorganizmalardır. Bazı fungusların insana zararlı etkileri bulunmazken, bazılarının insanlarda zararlı etkileri olabilmektedir. Zararsız olan bazı funguslar ise bazı faktörlere bağlı olarak patojenlere dönüşebilmektedir. Örneğin *Candida*, insanlarda gastrointestinal sistemin bir kommensali olarak yaşar, ancak bağışıklık sistemi baskılanmış ve hastaneye yatırılan kişilerde mukokutanöz kandidiyazise ve yaygın enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı bir patojendir. Yakın zamanda hematoloji, transplantasyon ve yoğun bakım ünitesi hastalarında en sık görülen fungal patojenin *Candida albicans* olmasına rağmen, non-albicans türleri tarafından da sistemik enfeksiyonların oluştuğu bildirilmiştir. Bazı non-albicans türleri antifungal ajanlara içsel olarak dirençlidir ve bazı türlerinin ise biyofilm oluşturma yeteneği vardır. Biyofilm oluşturma yeteneği antifungal duyarlılığı etkileyen önemli faktörlerdendir (Pulcrano ve ark., 2013; Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampaio-Maia, 2014).

Birçok birey *Candida* türlerini semptomsuz olarak taşımaktadır ve *Candida* türlerinin prevalansı yaşla birlikte artmaktadır. Bununla birlikte *Candida* türleri çok çeşitli akut ve kronik enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Ağızda bulunan kandidiyal enfeksiyonun klinik bulguları, mukozadaki iltihaplı ve kırmızı beyaz alanlarla karakterize akut psödomembranöz plaklardan, kronik atrofik kandidiyal mukozitin erozif eritroplaki ve lökoplaki lezyonlarına kadar değişmektedir. Kandidiyal enfeksiyonun klasik semptomları olan yanma ve acıma hissi mukozal yüzeyin hasar görmesinden kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak, geniş maya kolonizasyonu ileri periodontal hastalıklarda ve diş çürümelerinde rol oynayabilmektedir. Oral kandidiyazın nadir görülen şekli kronik mukokütanoz kandidiyazisdir. Kanserojenik asetaldehitin mikrobiyal üretimi ağız kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Ağız boşluğu, AIDS gibi ciddi derecede immün yetmezliği olan veya nötropenik hastalar gibi bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda derin veya sistemik bir kandidiyal enfeksiyon kaynağı olarak da işlev görebilmektedir (Rautemaa ve Ramage, 2011; Kraneveld ve ark., 2012; Wade, 2013).

Bu çalışmanın amacı, oral mikrobiyomun bileşimi ile ilgili olan oral mikrobiyomda bulunan, kültüre edilebilen maya yükünün belirlenmesi ve izole *Candida* türlerinin yeni tanımlama yöntemlerinden Matris destekli lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş süresi kütle spektrofotometrisi (MALDI-TOF MS) ile tanımlanmasını kapsamaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. İnsan Ağzında Yaşayan Mikroorganizmalar

İnsan ağızı; fungus, virüs, protozoa, arke ve bakteri gibi çeşitli mikroorganizma topluluklarını içerisinde barındırmaktadır. Funguslar, çeşitli akut ve kronik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Dünya nüfusunun hemen hemen yarısı asemptomatik olarak *Candida* türü mayaları ağız mikrobiyotasında bulundurmaktadır. (Wade, 2013).

Ağızda virüslerin de çeşitli türleri bulunmaktadır. Kabakulak ve kuduz gibi bazı viral enfeksiyonlar tükürük bezlerini hedef almaktadır. Herpes simpleks virüsü ise çoğu yenidoğan hastada subklinik primer enfeksiyonlara, büyük çocuklarda ise gingivostomatise neden olabilmektedir. *Entamoeba gingivalis* ve *Trichomonas tenax* ise ağızda genellikle bulunan iki protozondur. Bakteri ve gıda kalıntıları ile beslenen saprofitlerin zararsız olduğu düşünülse de *E. gingivalis* sayısı, periodontal hastalıklı bölgelerde sağlıklı bölgelere göre daha yüksektir. (Wade, 2013).

Bakteriler ve arke, ağızda bulunan en baskın mikroorganizma türleri olup, tükürük salgısının ml'si başına 100 milyon civarındadır. Ağız yüzeyinin tümü, dişlerde ve diş etlerinde bir bakteriyel biyofilm ile kaplıdır ve bu biyofilm ağızda en yaygın iki bakteriyel hastalıktan sorumludur: diş çürüğü ve periodontal hastalıklar. Bu hastalıklarda bakterilerin rolü 19. yüzyılda tanımlanmıştır ve bireysel türlerin patogenezdaki rolünü belirlemek için kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. (Wade, 2013).

2.2. Oral Mikrobiyom ve Oral Fizyoloji

İnsan mikrobiyomunun işlevselliği ve dinamizmi yaş ve diyet gibi fizyolojik değişikliklere yanıt vermektedir. İnsan vücudunda meydana gelen fizyolojik etkilerle bakterilerde olduğu gibi mikrobiyomda da değişiklikler oluşmaktadır. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019). Örneğin, Ikebe ve ark. (2006) toplumda yaşayan 60 yaş üstü yaşlılardan alınan tükürük örneklerinde oral mikrobiyomun artan yaş, eksik diş sayısı, takma diş ve düşük tükürük akış hızları ile önemli bir pozitif ilişkisi olduğunu belirlemişlerdir. Li ve ark. (2012) ise huzurevlerinde yaşayan yaşlıların oral mikrobiyomlarının sağlık durumunun iyi olanların sağlık durumunun kötü olanlara kıyasla daha düşük toplam fungus yüküne sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bunun nedenini tam olarak belirtmezlerken, ortak mutfak eşyası kullanımı ve kötü hijyen koşullarına bağlı olabileceğini söylemişlerdir.

Oral *Candida* türlerinin özellikle yaşlılarda, çeşitli coğrafik ve etnik kökene göre farklılık gösterdiği ve non-albicans türlerinin Asya popülasyonlarında baskın olduğunu belirlemişlerdir. (Samaranayake, 2009; Falagas, Roussos ve Vardakas, 2010; Kraneveld ve ark., 2012). Reichart, Samaranayake ve Philipsen (2000) Tayland'daki lepra hastalarının ağızlarında *Candida krusei* türünün, insanlarda en sık bulunan *C. albicans* türünden daha fazla bulunduğunu belirlemişlerdir. Samaranayake ve Samaranayake (1994) ise literatürde insanların *C. krusei* türünün taşıyıcısı olduğunu, hem sağlıklı hem de hasta bireylerde taşıma oranlarının ağız boşluğu için %6,1, gastrointestinal kanal için %10,3 ve vajina için %12,5 olduğunu bildirmişlerdir.

Yeni doğan bebeklerin ağız boşluklarında *Candida* spp. taşıyıcılığı yaşlılara göre daha düşük olup kolonizasyon oranlarının, doğumdan yetişkinliğe doğru arttığı belirlenmiştir. (Kleingegger, Lockhart, Vargas ve Soll, 1996; Kraneveld ve ark., 2012; Ward, Knights ve Gale, 2017). Zakaria ve ark. (2017) düşük vücut kitle indeksi olanların ağız boşluklarında *Candida dubliniensis* ve *Candida glabrata* türlerini daha fazla taşıdığını, Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019 ise düşük tükürük akış hızlarına sahiplerin *C. albicans* türünü taşıdığını bildirmişlerdir.

2.3. Tükürük ve Mikobiyom

Ghannoum ve ark. (2010) 20 sağlıklı yetişkin (21–60 yaş arası) bireyde oral boşlukta bulunan fungusları fosfat tamponlu su (PBS) ile ağız yıkama yaparak Internal Transcribed Spacer (ITS) primerleri kullanarak tanımlamıştır. Katılımcıların %75'inden *Candida* spp. türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Örneklerden 74 kültüre edilebilir ve 11 kültüre edilemeyen fungi cinsi belirlemişlerdir. Bu cinslerden 39 tanesinin sadece bir kişide, 16'sının iki katılımcıda, 5 tanesinin üç kişide ve 15 tane cinsin ise (kültüre edilemeyen cinsler dahil) 4'den (%20) fazla katılımcıda olduğunu bildirmişlerdir. En sık izole edilen cinsin *Candida* olduğunu (%75) belirtmişler ve bunu *Cladosporium* (%65), *Aureobasidium* (%50), *Saccharomycetales* (%50), *Aspergillus* (%35), *Fusarium* (%30) ve *Cryptococcus* (%20) cinslerinin takip ettiğini bildirmişlerdir.

Kraneveld ve ark. (2012) yaşı 58–80 arasında olan 82 Hollanda'lı yetişkinden tükürük örneği almışlardır. Topladıkları tükürük örneklerinin *Candida* spp. ve bakteriler için ITS bölgesi (*Candida*) ve 16S rDNA genini (bakteri) kullanarak kantitatif PCR analizi ile belirlemişlerdir. Hollanda'lı yaşlı erişkinlerde tükürük örneklerinin %0,06 ortalama yükü ile 0-8,60 log kob/mL *Candida* spp. yükü tespit etmişlerdir. *Candida* spp. yükünün artmasıyla tükürük mikrobiyomunun çeşitliliğinin önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir. ($P=0,001$).

Candida yükündeki artış ile Bacilli sınıfının pozitif ilişkili olduğunu, *Fusobacteria*, *Flavobacteria* ve *Bacteroidia* sınıfı ile negatif ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. *Candida* spp. yükü yüksek olan mikrobiyomların daha az çeşit içerdiğini ve sakkarolitik ve asidojenik bakterilerin - streptokokların daha baskın olduğunu belirlemişlerdir.

Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampio-Maia (2014) oral fungal popülasyonun bireyler arasında değişkenliğinin yüksek olduğunu, ancak her fungal cinsin sıklığının 30 haftalık gözlem süresi boyunca sabit kaldığını ve bireysel stabilite gösterdiğini belirlemişlerdir. Küf cinslerinden çoğunlukla *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. ve *Cladosporium* spp. cinslerini izole ederken, maya cinslerinden ağırlıklı olarak *Candida* spp. ve *Rhodotorula* spp. cinslerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

Tükürük mikrobiyom çalışmaları halen başlangıç aşamasındadır. Özellikle hem sağlıklı hem de hastalıklı bireylerde doğumdan yetişkinliğe kadar olan değişim araştırılması gereken diğer bir alandır. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

2.4. Periodontal Hastalık Mikrobiyomu

Diş ve onu çevreleyen dokunun bir kısmında ya da tümünde ortaya çıkan hastalıklara periodontal hastalıklar denir. Periodontal hastalıkların mikrobiyolojisi karmaşıktır ve genellikle periodontopatojenler normal ağız mikrobiyotasının bir parçası olduklarından periodontitis endojen ya da fırsatçı enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır. Her ne kadar periodontal hastalıklarda rol oynayan birkaç anahtar periodontopatojen (kırmızı kompleks bakteriler veya anahtar taş patojenleri olarak bilinen *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Treponema denticola*) konusunda fikir birliği olsa da, bu hastalığın patogenezi açıklamak için daha ileri çalışmalar gerektiğini belirtmektedirler. (Casado ve ark., 2011; Scannapieco, 2013; Sztukowska ve ark., 2018; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019). Bununla birlikte fungusların periodontal hastalıklarda rol oynayabileceği yönünde araştırmalarda bulunmaktadır. (Canabarro ve ark., 2013). Canabarro ve ark. (2013) hem sağlıklı hem de kronik periodontitisli bireylerde *Candida parapsilosis*, *Rhodotorula* spp., *C. dubliniensis* ve *C. tropicalis* gibi birkaç maya türünü belirlediklerini, ancak maya pozitif kronik periodontitis hastalarının hepsinde sadece *C. albicans* olduğunu bildirmişlerdir. Peters, Wu, Hayes ve Ahn (2017) periodontal enfeksiyonlu hastaların *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Glomeromycota*, *Chytridiomycota* ve bol miktarda sınıflandırılmamış mikroorganizmalar dahil olmak üzere en az beş filuma ait 150'den fazla fungal tür tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Hem sağlıklı hem de periodontal bireylerde *Ascomycota* (%86,5) filumunun baskın olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca daha

önceki çalışmalarda olduğu gibi *Candida* ve *Aspergillus* (tüm örneklerden %100 prevalans), *Penicillium* (%97), *Schizophyllum* (%93), *Rhodotorula* (%90) ve *Gibberella* (%83) cinslerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Hem sağlıklı hem periodontal olarak etkilenenler arasında mikrobiyomun genel bileşiminde anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir.

İn vitro çalışmalar *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi bakteri patojenlerinin *Candida* türleri ile fiziksel olarak etkileşime girdiğini göstermiştir. Ayrıca hem vital olmayan *C. albicans* hem de hücre duvarı bileşenleri (mannoprotein- β -glukan kompleksi) bilinmeyen mekanizmalar yoluyla *P. gingivalis*'in oral mukozal hücrelerin istilasını arttırdığını belirlemişlerdir. (Tamai, Sugamata ve Kiyoura, 2011; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019). Başka bir araştırma ise, *A. actinomycetemcomitans* türünün *C. albicans* hifine bağlanarak ve quorum sensing sinyalizasyonu yoluyla maya büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. (Bachtar ve ark., 2014). Sztukowska ve ark. (2018) *C. albicans* ve *P. gingivalis* arasındaki etkileşimleri karakterize etmiş ve spesifik proteinlerin aracılık ettiği koadezyonun, patojenik potansiyellerini arttırmaya yarayan, *P. gingivalis* tarafından gen ekspresyonunda önemli değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Bu, bölgeler arası etkileşimlerin oral hastalıkları modüle edebileceği anlamına geleceğini belirtmişlerdir. (Sztukowska ve ark., 2018).

Periodontal hastalığın etiyolojik florasının henüz tamamen çözümediği göz önüne alındığında, bu bulgular, mikrobiyomun periodontal enfeksiyonların başlatılmasında ve ilerlemesinde kilit bir oyuncu olduğunu öne sürenlerin hipotezlerini güçlendirmektedir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

2.5. Endodontik Enfeksiyonların Mikrobiyomları

Endodontik enfeksiyonların bakteriyolojisi üzerine birçok çalışma olmasına rağmen kültüre edilemeyen florayı ortaya çıkaran daha yeni tekniklerle değerlendirilen mikrobiyom hakkında literatür az bulunmaktadır. (Hong ve ark., 2013; Tawfik, Azab, Ahmed ve Fayyad, 2018; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019). Hong ve ark. (2013) asemptomatik kronik apikal periodontitis ile ilişkili primer ve kalıcı endodontik enfeksiyonlarda intrakanal mikrobiyota bakteriyel topluluk profilini GS-FLX Titanium pyrosequencing kullanarak incelemişlerdir. 18 numunedan yapılan analiz ile 148 cins ve sınıflandırılmamış 10 filum belirlemişlerdir. *Bacteroidetes* filumunun hem primer hem de persistan enfeksiyonlarda en çok görülen filum olduğunu bildirmişlerdir. Tawfik, Azab, Ahmed ve Fayyad (2018) Illumina MiSeq sequencing platform kullanarak Mısır Süveyş Kanalı Üniversitesi Hastanesi'ndeki (Endodontik Bölüm) 19 hastanın primer endodontik enfeksiyonların

mikrobiyal çeşitliliğini araştırmışlardır. 26 filum, 245 familya ve 705 cinse %97 oranında benzerlik gösteren toplam 1858 adet taksonomik birim belirlemişlerdir. Dört ana filumun *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ve *Synergistetes* tüm örneklerde baskın olduğunu bildirmişlerdir. Cins düzeyinde ise *Prevotella*, *Bacillus*, *Porphyromonas*, *Streptococcus* ve *Bacteroides* türlerinin baskın olduğunu bildirmişlerdir. Endodontik enfeksiyonların ekolojisinin aydınlatılmasının etkili intrakanal antimikrobiyallerin geliştirilmesinde gerekli bir adım olduğunu belirtmişlerdir.

Endodontik enfeksiyonların mikrobiyomu ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğu geleneksel kültürel yöntemlere dayanan araştırmalardır. (Gomes, Fidel, Fidel ve de Moura Sarquis, 2010; Dupuy ve ark., 2014; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019). Gomes, Fidel, Fidel ve de Moura Sarquis (2010) pulpa nekrozlu ve periapikal lezyonlu dişlerin kök kanallarında filamentöz fungusları geleneksel yöntemlerle belirlemişlerdir. Filamentöz fungusları 60 örneğin 17'sinden (%28.3) izole ettiklerini bildirmişlerdir. *Aspergillus spp.* (*ustus*, *granulosus*, *niger*, *sydowii*) 7 örnekten (%41), *Emericella quadriluniata* (*Aspergillus*'un seksüel formu) 1 örnekten, *Penicillium* türleri (*implicatum*, *micsynvisk*, *lividum* ve *citrionigrum*) 4 örnekten (%24), *Fusarium* türleri (*moniliforme* ve *melanochorum*) 2 örnekten (%24), *Aureobasidium pullulans* 1 örnekten, *Exophiala jeanselmei* 1 örnekten, *Eurotium amstelodame* 1 örnekten ve *Cladosporium sphaerospermum* 1 örnekten izole ettiklerini bildirmişlerdir. Pulpa nekrozlu dişlerin ve periapikal lezyonların kök kanallarında filamentöz funguslar için pozitif kültür oluşturduğunu bildirmişlerdir. Persoon ve ark. (2017) ise *Candida* ve *Malassezia* cinslerinin altı enfekte olmuş kanaldan toplanan endodontik numunelerden en sık izole edilen funguslar olduğunu belirtmişlerdir. Az sayıda numune almalarına ve izole edilen fungus çeşitliliğinin düşük olmasına rağmen, en yaygın izolatların *Candida*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Malassezia* ve *Saccharomyces* cinsleri olduğunu bildirmişlerdir. Bu veriler ile tükürük mikrobiyomunun verileri benzerlik göstermektedir (Ghannoum ve ark., 2010; Dupuy ve ark., 2014), bu nedenle örnek toplama yöntemlerinin doğruluğunu ve bütünlüğünü değerlendirmelidirler. Persoon ve ark. (2017) ve Persoon, Crielaard ve Ozok (2017) *Candida* türlerinin baskın olduğu kök kanalı enfeksiyonlarında fungusların %7,5 oranında yaygın olduğu sonucuna varmıştır. Literatüre bakıldığında, zengin bir mikrobiyotanın var olabileceği, endodontik enfeksiyonlara neden olabileceği ve enfekte olmuş kök kanalı mikrobiyomunun kapsamlı bir resminin, yeni teknolojinin kullanımı yoluyla keşfedilmeyi beklediğini göstermektedir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

2.6. Çeşitli Hastalıklar ve Oral Mikrobiyom ile İlişkisi

Küresel olarak gittikçe yaşlanan bir popülasyonun ağız sağlığında ciddi problemler oluşmaktadır ve oral homeostaz bozulmaktadır. *C. albicans* ve *C. dublinensis* türleri ise immün sistemi baskılanmış konakçılarda oral kandidiyazise neden olmaktadır. Öte yandan, periodontitis de oral bakteriler ile konakçı savunma mekanizmaları arasındaki dengede bir değişiklik ile indüklenmektedir. (Schorling, Kortinga, Froschb ve Mühlischlegel, 2010; Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014).

HIV (human immunodeficiency virus) enfeksiyonu gibi immün fonksiyon bozukluğu koşulları altında, *C. albicans*, mukozal ve yayılmış enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenler haline gelebilmektedir (Metwalli, Khan, Krom ve Jabra-Rizk, 2013). Özellikle HIV hastalığında ve lösemik hastalarda yeni teknolojiler kullanan, risk altındaki hastalarda mikrobiyotayı değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır. Antiretroviral tedavi kullanımına rağmen, HIV ile enfekte olmuş bireylerde oral kandidiyazis insidansı nispeten yaygın bir bulgudur (Samaranayake, 2009; Thompson ve ark. 2010; Patel ve ark. 2012; Maurya ve ark., 2013, Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019). Kaynak bakımından zengin ülkelerdeki HIV-pozitif deneklerde oral kandidiyazislerin en yaygın ajanının *C. albicans* olduğunu bildirmişlerdir (Kwamin, Nartey, Codjoe ve Newman, 2013; Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014). Ek olarak periodontal hastalığı olan HIV-pozitif deneklerde oral ve subgingival örneklerden en sık *C. albicans* türlerinin elde edildiği bildirilmiştir (Jabra-Rizk ve ark., 2001; Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014). HIV-seropozitif hastaların subgingival plaklarındaki *Candida* türlerinin prevalansının immünokompetan deneklerden daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (Feller ve Lemmer, 2008; Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014).

HIV-pozitif deneklerde oral *C. albicans* taşıma oranının kontrol deneklere göre daha yüksek olduğu ve 200-400 CD4⁺ hücre sayısı/μL olan hastalarda maya taşıyıcılığının daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (Vargas ve Joly, 2002; Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014). Oral kandidiyazis kötüleşen CD4⁺ hücre sayısının habercisi ve HIV ile enfekte olmuş durumun AIDS'e geçişi olarak kabul edilir (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

Bir pyrosequencing yaklaşımı kullanarak, Mukherjee ve ark. (2014) HIV-enfekte bireylerin oral mikrobiyomlarını sağlıklı bir kohortla karşılaştırmıştır. İki grup arasında oral mikrobiyom bileşiminde bakterilerinden farklı olarak, önemli farklılıklar göstermiştir. HIV ile enfekte hastalar yüksek sayıda *Candida* (%92; en bol miktarda), *Epicoccum* ve *Alternaria* cinslerini taşıırken, sağlıklı bireylerin *Candida* (%58), *Pichia* ve *Fusarium* cinslerini

taşıdığını bildirmişlerdir. *Candida* ve *Penicillium* her iki grupta da yaygın iken, *Candida* cinsinin HIV hastalarında daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir. İlginç bir şekilde, *Pichia* cinsinin HIV ile enfekte olmuş bireylerde *Candida*, *Aspergillus* ve *Fusarium* üremesini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Ek olarak *Pichia* cinsinin *Candida* biyofilm oluşumunu da inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak funguslar arasında potansiyel bir negatif ilişki olduğunu ortaya koydu. Aksine, Aas ve ark. (2007) 14 HIV pozitif olguda dişeti iltihabı ($n=5$), periodontit ($n=8$) ve doğrusal dişeti eritemi ($n=1$) ile ilişkili baskın bakteriyel ve fungal türleri karşılaştırmışlardır. Numuneleri supra ve subgingival plaktan swap ile elde etmişlerdir. Klasik periodontal patojenler olan *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Tannerella forsythia* bulunmadığını belirlemişlerdir. Baskın bakteri türlerinin potansiyel fırsatçı patojenler olan *Gemella*, *Dialister*, *Streptococcus* ve *Veillonella* olduğunu belirlemişlerdir. Viral yükleri düşük ve $CD4^+$ düzeyi yüksek periodontitisli olan 4 kişiden 2'sinde *C. albicans* türünün baskın olduğunu ve *Saccharomyces cerevisiae* türünün ise küçük bir bileşen olduğunu belirlemişlerdir. Sonuçta Aas ve ark. (2007) HIV ile enfekte olmuş bireylerde subgingival plakta sadece iki mantar türünü, *C. albicans* ve *S. cerevisiae* türlerini belirlemişlerdir. Daha küçük örneklem büyüklüğü ve mikrobiyal izolasyon, tespit ve dizilim tekniklerindeki farklılıklar bu farklı sonuçlara yol açmış olabilir (Cho, Nagao, Imayoshi ve Tanaka, 2014; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

Konağın, genetik polimorfizmlerini ve mikrobiyomun etkileşimlerini değerlendiren tek bir çalışma var. Shelburne ve ark. (2015) invaziv mukormikozlu lösemik bir hastada oral örneğinde *Mucor velutinosus* DNA'sını izole etmişler ve konakçı–mikrobiyom–mikrobiyom üçlüsünün kompleks hastalıkların patogenezinin anlaşılmasında önemli olabileceğini belirtmişlerdir. Burada, ağız boşluğu veya insan vücudunun diğer bölgelerinde konakçı–mikrobiyom etkileşimlerinin henüz keşfedilmemiş olması ve mevcut verilerin en iyi şekilde geçici ve seyrek olması dikkat çekicidir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

2.7. Oral Mikrobiyom ve Oral Karsinom

Oral kanser çok faktörlü bir hastalık olmasına rağmen, *Candida* ile enfekte olan oral lezyonların malign transformasyon için daha yüksek bir eğilime sahip olduğunu gösteren bazı raporlar vardır (Fitzpatrick ve Katz, 2010; Sankari, Gayathri, Balachander ve Malathi, 2015; Gholizadeh ve ark., 2016;).

Oral skuamöz hücreli karsinom (OSCC), tüm oral kanserlerin %90'ından fazlasını oluşturmaktadır. OSCC genellikle dünyadaki en yaygın sekizinci kanser olarak kabul

edilmektedir ve Güney–Orta Asya'daki en yaygın üç kanser arasındadır. Terapötik ilerlemelere rağmen, hayatta kalma oranı yaklaşık %50'dir, bu da OSCC'yi en yıkıcı malignitelerden biri haline getirmektedir. (Healy ve Moran, 2019). Son NGS verileri, Perera ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada OSCC'de tür zenginliğinin ve çeşitliliğinin önemli ölçüde düşük olduğunu, genellikle OSCC'de *Candida*, *Hannaella* ve *Gibberella* cinslerinin bulunduğunu, fibroepitoyal poliplerde ise *Alternaria* ve *Trametes* cinslerinin daha fazla bulunduğunu belirlemişlerdir. Tür bazında ise OSCC'de *Candida albicans*, *Candida etchellsii* ve *Hannaella luteola* benzeri türlerin bulunduğunu, fibroepitoyal poliplerde ise *Hanseniaspora uvarum* benzeri türler, *Malassezia restitta* ve *Aspergillus tamarii* türlerinin daha fazla bulunduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak, OSCC ile ilişkili olarak *C. albicans* türünün egemen olduğu bir disbiyotik mikrobiyomun daha fazla araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Gainza–Cirauqui ve ark. (2013) potansiyel kanserojen oral hastalıklardan izole edilen *C. albicans* türlerinin belirli bir miktarda mutajenik asetaldehit ürettiğini belirlemişlerdir. Sigara içmek ve alkol tüketiminin kandidal mutajenik asetaldehit metabolizmasını arttırdığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, kanserojenlik oluşturan mekanizmalar, nitrozaminler ve/veya asetaldehit gibi *Candida* tarafından kanserojen bileşiklerin üretilmesini içerebilir (Meurman ve Uittamo, 2008; Pereira, Seneviratne, Koga–Ito ve Samaranayake, 2018; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

2.8. *Candida* spp.

Candida terimi, beyaz anlamına gelen Latince candid kelimesinden gelmektedir. *Candida*'nın sporları, insan mikrobiyotasında bulunan, dimorfik, zararsız veya konağın bağışıklığı zayıfladığında invazif patojenik pseudohif haline gelen kommensal bir maya türüdür. (Li, Redding ve Dongari–Bagtzoglou, 2007; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Bu endojen bileşenin hastalığa neden olan patojene çevrilmesi, diğer bulaşıcı hastalıkların çoğuyla karşılaştırıldığında oldukça benzersiz olan organizmanın kendisinin patojenik özelliklerinden başka faktörlerle ilişkilendirilebilir ve organizmaların virülansının patogenezdeki anahtar faktör olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle *Candida* türleri fırsatçı patojenlerdir. *Candida* enfeksiyonlarının ne yüzeysel ne de sistematik formlarının altta yatan patolojilerin yokluğunda başlatılamadığı söylenebilir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Pek çok *Candida* türü bulunmaktadır. Bu türler arasında *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C.*

kefyr türleri en yaygın olanlarıdır. Ancak hem ağız kavitesinden geri kazanılan hem de komensal durumda olan ve kandidoz vakalarından sorumlu olan en yaygın tür ise *C. albicans*'tır. Bu türün tüm oral maya izolatlarının %80'inden fazlasını oluşturduğu tahmin edilmektedir. (Li, Redding ve Dongari–Bagtzoglou, 2007; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Criseo, Scordino ve Romeo, 2015).

Son yıllarda, fırsatçı patojen olan *Candida* türünün neden olduğu enfeksiyonlara ilgi artmıştır. *Candida*'nın artan önemi kısmen HIV enfeksiyonunun ortaya çıkması ve immüno-supresif kemoterapinin daha yaygın kullanımı ile ilgilidir. *Candida* türünün enfeksiyona neden olan suşlarının tanımlanması önemlidir, çünkü *Candida* türlerinin hem enfeksiyona neden olma kabiliyetleri hem de antifungal ajanlara olan duyarlılıkları farklılıklar göstermektedir. (Samaranayake, 2009; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

C. albicans ile birlikte, *Candida albicans* dışı türlerin insan hastalıklarındaki önemi de belirlenmiştir. *C. glabrata* ve *C. krusei*, bazı antifungal ajanlara karşı artan dirençlerinden dolayı dikkat çeken türlerdir. *C. dubliniensis* ise patojenik olarak tanımlanmış diğer bir türdür, ilk olarak 1995 yılında HIV ile enfekte olmuş bireylerde oral kandidoz vakalarından *C. albicans* ile birlikte izole edildiği bildirilmiştir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

2.8.1. *Candida* Türlerinin Patojenik Özellikleri

Candida türünün zararsız mikroorganizmadan patojenik mikroorganizmaya geçişi karmaşıktır ve çeşitli virülans faktörlerinin ekspresyonuna yol açan ince çevresel değişikliklerle ilgilidir. Hem konakçı hem de kandidal faktörlerin birleşimi oral kandidozun gelişmesine katkı sağlamaktadır. Kandidozda *Candida* türlerinden bağımsız olarak, *Candida* türlerinin sağlıklı bireylerinin mukozal yüzeylere tutunması virülansı etkileyen önemli bir faktördür. Bu özellik, mikroorganizmanın yemek borusuna doğru nispeten sabit bir tükürük akışının mekanik yıkama etkisine dayanması gereken ağız boşluğunda önemlidir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011). Ağız boşluğunda, *C. albicans* ve oral bakteriler arasındaki bağ *C. albicans* kolonizasyonu ve kalıcılığı için çok önemlidir. (Metwalli, Khan, Krom ve Jabra-Rizk, 2013)

Candida türü için baskın bir virülans faktörü belirlenememesine rağmen enfeksiyon sürecinin gelişmesinde bazı faktörler rol oynamaktadır. Özellikle *C. albicans* türünün maya ve hifal formlar arasında morfolojisini değiştirme yeteneği patogeneze katkı sağlamaktadır (Metwalli, Khan, Krom ve Jabra–Rizk, 2013). Diğer virülans faktörleri ise; *Candida* türlerinin oral yüzeylere (örneğin nispi hücre yüzeyi hidrofobikliği ve spesifik adezin moleküllerinin varlığı) yapışması, konakçı immün savunma mekanizmalarına (örneğin

yüksek frekanslı fenotipik anahtarlama ve morfolojik geçiş) karşı koyma kabiliyeti; konakçı hücrelere zarar verebilecek hidrolitik enzimlerin (örneğin salgılanmış aspartil proteinazlar ve fosfolipazlar) salınımıdır. *Candida albicans* türü ile ilgili virülans faktörleri Tablo 2.1’de verilmiştir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Tablo 2.1: *Candida albicans* ile ilişkili virülans faktörleri (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011)

Virülans Faktörü	Etkisi
Aderans (yapışma)	Ağızda tutulmayı teşvik eder
Bağıl hücre yüzeyi hidrofobikliği	Spesifik olmayan aderans süreci
Hücre yüzeyi yapışma moleküllerinin ifadesi	Özel aderans mekanizmalarını kolaylaştırır
Konak savunmasından kaçma	Ağızda tutulmayı teşvik eder
Yüksek frekanslı fenotipik anahtarlama	Hücre yüzeyi değişimleri ile antijenik modifikasyon
Hifal gelişimi	Fagositoz olasılığını azaltır; mayanın fagositten kaçmasına izin verir
Salgılanan aspartil proteaz üretimi	Oral epitel işgali teşvik eder Salgılanan IgA yıkımı
Tamamlayıcı moleküllerin bağlanması	Konak hücre ve hücre dışı matris hasarı
Konak dokusunun istilası ve imhası	Antijenik maskeleye
Fosfolipaz üretimi	Patojenliği artırır
	Konakçı hücrelerin zarar görmesi

2.8.2. Oral Kandidoz, Patojenitesi ve Etkenleri

Çoğu birey için mayalar oral mikrobiyotanın bir parçasıdır ve sadece bir fırsat ortaya çıkarsa enfeksiyona neden olmaktadır. Sağlıklı bireylerde bulunan mayalar tükürük ya da oral mukozadaki spesifik veya spesifik olmayan savunma mekanizmaları ve çok çeşitli rekabetçi oral mikroorganizmalar tarafından baskılanmaktadır. Günlük iyi ağız hijyeni ve oral biyofilmlerin mekanik olarak bozulması enfeksiyonun engellenmesinde önemli bir role sahiptir. Bu nedenle oral kandidoz, bozulmuş lokal veya sistemik savunma mekanizmaları, değişen oral mikrobiyota veya kötü oral hijyenin sonucu olarak oluşabilmektedir. Örneğin, bebeklerde oral pamukçuklar genellikle oral mikrobiyotanın ve bağışıklık savunma mekanizmalarının olgunlaşmamasından kaynaklanmaktadır. İlaç tedavisi veya radyoterapi

sebebiyle azalmış tükürük sekresyonu, humoral veya hücre aracılı immünitinin primer veya sekonder yetersizlikleri, yaşlılık, beslenme yetersizliği, lokal mukozal hastalıklar (örneğin liken planus) ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, bilinen predispozan (olasılığı artıran) faktörler arasındadır. Oral ortamın asitliğinin artması ise *Candida* türlerinin çok düşük pH seviyelerini tolere etmesi ve üreyebilmesi dolayısıyla, bakteriyel üremenin baskılanarak, mayaların üremesine uygun hale getirebilir. Bu nedenle, tedavi edilmemiş gastroözofagiyal reflü; dilin arka bölümü, boğaz ve yemek borusunun kandidozisi için predispozan bir faktördür. Oral kandidoz ayrıca HIV enfeksiyonu veya diyabet gibi tanısı konmamış ve/veya doğru kontrol edilmeyen sistemik bir hastalığın belirtisi de olabilmektedir. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

Mayalar; yapay malzemelerin yüzeylerine yapışmayı sağlayan bazı faktörlere sahiptir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Rautemaa ve Ramage, 2011). Dişler, diş dolguları ve protezler, ortodontik aletler, dil takıları ve ağız boşluğunda mevcut olan bir endotrakeal tüp gibi çeşitli yapay ve doğal olmayan yüzeyler eğer düzenli olarak iyi şekilde temizlenmezse maya rezervuarı olabilmektedir. Bu yüzeylerde, mayalar antimikrobiyal tedaviye dirençli ve yüksek mukozal iltihaplanmalarla ilişkili olduğu bildirilen kompleks kandidia-bakteriyel biyofilm konsorsiyumu hızlıca oluşturabilmektedir. Oral kandidozis tedavisi için bu gibi faktörler göz önünde bulundurulmalı, aranmalı ve tanımlanmalı ve bunların yönetimi tedavinin ayrılmaz bir parçası olmalıdır. Önleyici faktörlerin ve biyofilm yapısının kontrolü olmadan antimikrobiyal tedavi nükle sonuçlanacaktır. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

Oral kandidoz temel olarak iki gruba bölünmüştür. Grup I veya birincil oral kandidozda deri veya diğer mukozalara tutulum olmadan ağız boşluğunda lokalize lezyonlar olmaktadır. Grup II veya sekonder oral kandidozda ise deri gibi diğer ekstraoral bölgelerin yanı sıra ağızda lezyona neden olanlardır. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011). Oral kandidozların sınıflandırılması Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2: Oral kandidoz sınıflandırılması (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Primer oral kandidoz (Grup I)	Sekonder oral kandidoz (Grup II)
Psödomembranöz (özellikle akut)	Ailesel kronik mukokutanöz kandidoz
Eritemli (akut / kronik)	Diffüz kronik mukokutanöz kandidoz
Hiperplastik (özellikle kronik)	
(i) Plak benzeri	Kandidoz endokrinopati sendromu
(ii) Nodüler / benekli	
<i>Candida</i> ile ilişkili lezyonlar	Ailevi mukokutanöz kandidoz

Takma diş stomatitleri	Şiddetli kombine immün yetmezlik
Açısal cheilitis	Di George sendromu
Medyan eşkenar dörtgen glossit	Kronik granülomatöz hastalık
Doğrusal dişeti eritemi	Kazanılmış bağışıklık yetmezliği sendromu (AİDS)

Candida albicans, oral kandidozun en yaygın nedeni olmakla birlikte *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. tropicalis* gibi türler de genellikle enfeksiyonlardan izole edilmektedir. Tüm kandidal türler mukozite neden olmasına rağmen, türlerin bulunma sıklığı ve antifungal duyarlılıkları farklılıklar göstermektedir. Konakçı yüzeylere yapışma, morfolojik transformasyon ve hücre dışı enzim üretimi gibi çeşitli virülans faktörleri biyofilm oluşumunda oldukça önemlidir ve *Candida* türlerinin patojenizine katkı sağlamaktadır. Kandidal türlerin çoğu *in vivo* ortamda mayanın mukozal yüzeye yapışmasının yanı sıra oral epitel içine nüfuz etmesine yardımcı olan hifal yapıları oluşturmaktadır. Fakat *C. glabrata* türü hifal yapılar üretmez, ancak immün sistemi baskılanmış hastalarda kan enfeksiyonlarına neden olmaktadır. *C. glabrata* türü yaşlı kişilerin ağız boşluğunda daha sık görülmektedir. Önemli olarak, klinik izolatlar arasında azol antifungallerine karşı dirençli *C. glabrata* ve *C. krusei* klinik izolatları daha çok bulunmaktadır, fakat azol antifungallerine karşı dirençli *C. albicans* neredeyse hiç bulunmamaktadır. Bu durum özellikle birden fazla azol antifungal kullanma öyküsü olan yüksek riskli hastalarda oldukça önemlidir. Bu nedenle oral kandidoza neden olan türün doğru mikrobiyolojik tanımı ve uygun antifungal ilacın seçimi oldukça önemlidir. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

Samaranayake, MacFarlane ve Williamson (1987) yaptıkları bir çalışmada ticari olarak mevcut olan Chrome agarın öncüsü olan Pagano–Levin agar gibi bir farklı diferansiyel ortam kullanarak, hasta popülasyonunda multispesifik *Candida*'nın oral taşınmasını göstermiştir. Kohortlarındaki oral *Candida* enfeksiyonlarının %15'inin polimikrobiyal olduğunu ve karışık *Candida* türlerinin neden olduğunu belirtmişlerdir (Samaranayake, MacFarlane ve Williamson, 1987). Daha sonraki çalışmalar bu bulguları doğrulamıştır (Samaranayake, 2009). İkinci çalışmalarını tamamen fenotipik analizlerle, laboratuvar kültürü ve tür tanımlaması ile gerçekleştirmişlerdir. (Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

Imabayashi ve ark. (2016) ITS1 bölgesinin gelecek nesil dizilimini kullanarak, kandida enfeksiyonlu hastalarda bulunan *Candida* türü ile birlikte bulunan fungus türlerini belirlemek için mikobiyomu incelemişlerdir. Psödomembranoz oral kandidiyazis

hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla göreceli olarak daha düşük fungal tür bolluğu bulunduğunu belirtmişlerdir (Imabayashi ve ark., 2016). Test ile kontrol denekleri arasında 45 ortak fungus türü bulmuşlardır. Bununla birlikte, sadece 22 ilave fungus türü psödomembranöz kandidiyazis hastalarından izole edilirken, sağlıklı bireylerden 41 ilave mantar türü izole etmişlerdir. Psödomembranöz kandidiazisli hastalarda *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *Wallumia sebi*, *Rhodosporidium babjevae*, *C. krusei*, *Antrodiella micra*, *Cladosporium sphaerospermum* ve *Sporidiobolales* türlerinin yoğun olarak bulunduğu, sağlıklı bireylerde ise *Exophiala equina*, *Cladosporium halotolerans* ve *Agaricomycetes* türlerinin yoğun olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. (Imabayashi ve ark., 2016). *Candida* türleri hem sağlıklı hem de kandidiyazisli iki grupta da bulunurken, *C. dubliniensis*'in kandidiyazisli grupta daha fazla bulunduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, sağlıklı ve kandidiyazis gruplarının mikrobiyomlarında belirgin bir fark bulunmadığını ve hastalığın patogenezinin, mikrobiyal suş farklılıklarının, patojenik potansiyelin ve konakçı bağışıklığın etkileşiminin bir sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. (Shelburne ve ark., 2015; Bandara, Panduwawala ve Samaranayake, 2019).

2.8.3. Oral Kandidozun Ayırıcı Tanısı

İltihaplı mukozadaki beyaz plakların ve oral kandidoz dışındaki oral mukozadaki eroziv eritoplakik ve lökoplakik lezyonların birçok olası nedeni bulunmaktadır. Örneğin, soğuk algınlığı şikayeti bulunan hastalarda eritem ve oral mukozanın ağrısını içeren spesifik olmayan oral semptomlar olabilmektedir. Ağız bakım ürünlerine alerji de maya enfeksiyonuna benzer semptomlara ve enflamasyona neden olabilir. Oral liken planus gibi bir mukozal veya mukokutanöz hastalığın klinik tablosu da oral kandidoza benzeyebilmektedir. Bazı ilaçlar (metotreksat, sitotoksik ilaçlar) eritem ve oral mukozanın ülserasyonuna neden olabilmektedir. Oral ülser ise ağız kanserine neden olabilmektedir. (Rautemaa ve Ramage, 2011). Bu nedenle, oral kandidozun klinik teşhisi klinik bulgulara göre yapılmaktadır, diğer mukozit nedenleri var olduğunda mantar kültürü ile doğrulanmalıdır. Bunun için *Candida spp.* mevcut olabileceği durumları tanımlamak ve ölçmek için mümkünse mikrobiyolojik örnekler alınmalı ve antifungal duyarlılık testi için izolatlar saklanmalıdır. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Rautemaa ve Ramage, 2011).

2.8.4. Oral Biyofilm

Oral dental dokuları oluşturan mine, dentin ve sementum tabakaları oral katı yüzeyi mikrobiyal hücrelerin bağlandığı bir zar ile kaplanmaktadır. Birincil kolonizatörler ve ikincil

mikroorganizmalar, dişlerin yüzeyinde birbirine yapışmaktadır ve kolektif bir fizyolojiyle bir topluluk oluşturan bir ekzopolisakkarit matrisi oluşturmaktadır. Diş plağı olarak bilinen ortaya çıkan biyofilm, diş ve diş eti dokularında diş hastalıklarına yol açan yüksek konsantrasyonlarda mikrobiyal metabolitleri oluşturmaktadır. Bu karışık biyofilmlerdeki çeşitli türler arasındaki etkileşimler, kümeleşme olarak bilinen oral fenomenin organizma tutulmasını kolaylaştırmaya yarayan bir organizmanın varlığı diğer patojenik mikroorganizmalar için bir niş oluşturmada sinerjistik etkiye sahip olabilir. Biyofilmdeki bakteriler her zaman metabolik olarak aktiftir, bu da pH'ta dalgalanmalara ve dişte mineral kaybına neden olmaktadır, sonuçta diş sert dokularının çözülmesi ve diş çürüğü olarak bilinen lezyonların oluşumu ile sonuçlanmaktadır. İlginç bir şekilde, bir organizma tarafından bir metabolit atılması, diğer organizmalar tarafından bir besin maddesi olarak kullanılması ve bir substratın bir organizmanın enzimatik aktivitesi ile parçalanması farklı organizmalar için substratlar oluşturması dolayısıyla oral bakteriler arasında metabolik bir iletişim olduğu bildirilmiştir. (Metwalli, Khan, Krom ve Jabra-Rizk, 2013; Krom, Kidwai ve Ten Cate, 2014).

Biyofilmler, kendiliğinden üretilen koruyucu bir hücre dışı matriks içine alınmış, yüzeyle ilişkili ve/veya birbirine bağlanmış yüksek yapılanma gösteren mikroorganizma topluluklarıdır. Biyofilmler tipik olarak antibiyotikler ile ters ilişkilidir ve genellikle konakçı immün faktörlerinden etkilenmemektedir. Ağız boşluğu, *Candida* türlerinin hastalığa neden olmasında kilit bir rol oynayan bir mikrobik yaşam tarzı için en uygun ortamı temsil etmektedir. Hif ve ekstrapolimerik materyaller yapısal bütünlük, yapışkanlık kapasiteleri ve antifungal dirençlere katkıları nedeniyle biyofilm oluşma modelinin temelini oluşturmaktadır. Ek olarak, hücre dışı proteolitik ve lipolitik enzimlerin salınımı patojenitelerine katkı da sağlamaktadır. Son zamanlarda, biyofilm oluşumunun kontrolsüz tip 1 diyabetli hastalarda bazı *C. albicans* izolatlarının proteinaz aktivitesi ile pozitif ilişkili olduğu da bildirilmiştir. Bu inatçı yapılar, bitişik mukozanın aynı anda iltihaplanmasına neden olurken kandida suşlarının canlı kalmasına yardımcı olan avantajlar sağlamaktadır. Biyofilm fenotipi ile patojenite arasındaki ilişki, yoğun bakım ortamında biyofilm oluşturma kabiliyeti ile ölüm oranı arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilen raporlarda bildirilmiştir. Bu nedenle, ağız sağlığı planlanırken tüm sağlık çalışanlarının biyofilmlerin etkilerini göz önünde bulundurmaları oldukça önemlidir. Tekrarlayan veya dirençli olmayan oral kandidoz, yenilenmeyen oral yüzeylerdeki biyofilmlere dikkat edilmemesinin sonucudur. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

2.8.5. Örnekleme ve İzolasyon yöntemleri

Mayalar, ağız boşluğu yüzeylerini oldukça düzensiz bir şekilde kolonize etmektedir. Mikrobiyolojik analiz için materyal, aktif hastalık sürecini temsil eden bir sahadan alınmalıdır. Bir klinik muayenede ağız açık iken birbirinden uzak görünen ağız boşluğu bölgeleri anatomisi nedeniyle ağız kapandığında yakın temasta olabilmektedir. Mukoza iltihabına neden olan maya kütlelerinin etkilenen mukozaya yapışmadığı, bunun yerine bir biyofilm olarak yenilenmeyen bitişik bir yüzeyde (diş, protez) büyümesi mümkündür. Örneğin, bir dil ülserinden toplanan bir numuneden elde edilen maya üreme miktarı çok az olabilir fakat bitişik dişlerin lingual yüzeyinden toplanan örneklerde üreme miktarı çok olabilmektedir. Bu nedenle, bir oral mantar kültürü ile ilgili laboratuvar raporunun yorumlanması, tam örnekleme yerinin bilgisi olmadan mümkün değildir. Yine hastanın oral hijyeni zayıfsa, maya bulgusu herhangi bir iltihaplanma belirtisi olmadan ağır olabilir. Örnek toplama ve raporun yorumlanması bu nedenle dikkate alınmasını gerektirir. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

Ağızdan örnek toplama yöntemleri önemlidir. *Candida* türlerinin ağız boşluğu içinde izolasyonu için mevcut olan örnek toplama yöntemleri arasında smear, swab, baskı kültürü, bütün tükürüğün toplanması, konsantre oral durulama ve mukozal biyosi sayılabilir. Örneğin, lokalize enflamasyon alanları veya şüpheli enfeksiyon rezervuarları gibi lezyonun belirlendiği ve ulaşılabilir olduğu durumlarda, lezyonun içinde bulunan mikroorganizmalar hakkında bilgi sağlayacağından sıklıkla oral swab veya baskı kültürü gibi doğrudan örnekleme yöntemi tercih edilmektedir. Etkilenen mukozayı örneklemenin yanı sıra bitişik olarak yenilenmeyen bir yüzeyi (protez diş) örnekleme de gerekmektedir. Bu protez stomatit vakalarında önemlidir. Oral durulama, protez stomatit gibi hastalıklar için uygun örnek toplama yöntemidir. Lezyonun belirlenemediği ya da ulaşılması zor olduğu durumlarda bütün tükürük kültürü ya da oral durulamaya dayanan dolaylı örneklem daha kabul edilebilmektedir. Fungus yükünün kantitatif tahmini için baskı kültürü, konsantre oral durulama ve bütün tükürük kültürü kullanılmaktadır. Konsantre oral durulama örnekleri ise temiz durulama örneklerinden ve baskı kültürlerinden daha hassastır. Ayrıca, protezin doğrudan sonikasyonunun kullanılması, kandidal biyofilm enfeksiyonunun hem miktarını hem de özelliklerini önemli ölçüde arttırmaktadır. Her yöntemin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır ve örnekleme tekniğinin seçimi öncelikle araştırılacak lezyonun doğasına göre belirlenmelidir. Bu örnekleme teknikleri, kolonizasyon ve enfeksiyon arasındaki ayırmada faydalı olan kompleks oral mikolojik ekolojinin kesin bir yansımaları sağlamaktadır. Bu örneklerin analizi, numune içindeki mayaların miktarı ve türünün bir

tahminini sağlamaktadır. Tablo 2.3’de örneklem yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları verilmiştir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Rautemaa ve Ramage, 2011).

Tablo 2.3: Ağız boşluğundan *Candida* türlerinin izolasyon metotları, avantaj ve dezavantajları (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

İzolasyon metodu	Avantaj	Dezavantaj
Bütün tükürüğün kültürü	Hassas; canlı mikroorganizmalar izole edilir	Numunenin toplanması ile ilgili sorunlar ortaya çıkabilir; bölgeye özgün değildir.
Konsantre oral durulama	Nicel; canlı mikroorganizmalar izole edilir	Bazı hastalar durulama kullanmakta zorlanıyor; bölgeye özgün değildir.
Swab	Kullanımı kolay; canlı mikroorganizmalar izole edilir, bölgeye özgüdür.	Standartlaştırmak zor
Smear	Kullanımı kolay; kültüre bağlı değildir	Canlı hücreler belirlenemez; tür kimliği kolayca doğrulanamaz
Baskı kültürü	Nicel; canlı mikroorganizmalar izole edilir	Bazı bölgeleri için örnekleme zordur
Biyopsi	Kronik hiperplastik kandidoz için uygundur	İnvazif ve diğer kandidoz formları için uygun değildir

Swab: Bir lezyon bölgesine swabın sürülmesi ile *Candida* üremesi belirlenmesi sağlanabilmekte ve yarı kantitatif sonuçlar elde edilebilmektedir. Örnekleme yaklaşımı ise steril bir pamuklu çubuğu lezyon dokusu üzerine hafifçe sürtmeyi ve daha sonra Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) gibi bir birincil izolasyon ortamına ekimi içermektedir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Konsantre Oral Durulama: Ağızda çalkalama tekniğinde, örnek alınacak kişinin 1 dakika boyunca ağızda 10 mL steril PBS (0.01M, pH7.2) çalkalması gerekmektedir. Çözelti daha sonra santrifüjleme ile konsantre edilir (10 kat) ve sonra spiral plak yöntemi ile genellikle 50µL hacim besiyerine inoküle edilmektedir. 24–48 saat 37°C’de inkübasyondan sonra, üreyen kolonilerin sayılması ile sonuçlar değerlendirilmektedir ve durulama başına, mL başına koloni oluşturan birimler (kob/mL) olarak ifade edilmektedir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Baskı Kültürü: Baskı yöntemi, örnek alınmadan hemen önce boyutları bilinen (tipik olarak 2,5 cm²) steril bir köpük ped Sabouraud Dextrose Broth (SDB) gibi sıvı besiyerine

ile muamele edilmektedir. Daha sonra ped 30 saniye boyunca hedef bölgeye (mukoza veya intraoral protez) yerleştirilmekte ve daha sonra kültür için bir agara aktarılmaktadır. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

2.8.5.1. *Candida* Türlerinin Mikroskopik Özellikleri

Candida türlerinin morfolojik özellikleri Tablo 2.4’te verilmiştir. Bir smear, maya veya hifal formu ayırt etmede önemlidir, fakat kültürel yöntemlere göre daha az hassastır. Örneğin potasyum hidroksit (KOH) preparatı ile karakteristik iki dallı dallanma (yaklaşık 45°’lik bir açıyla) ve pigmentsiz septat hif belirlenebilmektedir (Şekil 1). KOH-Calcofluor floresan boyama yönteminde ise hif, maya hücreleri ve diğer fungal elementler gibi fungal özellikler floresans göstermektedir (Şekil 2). (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

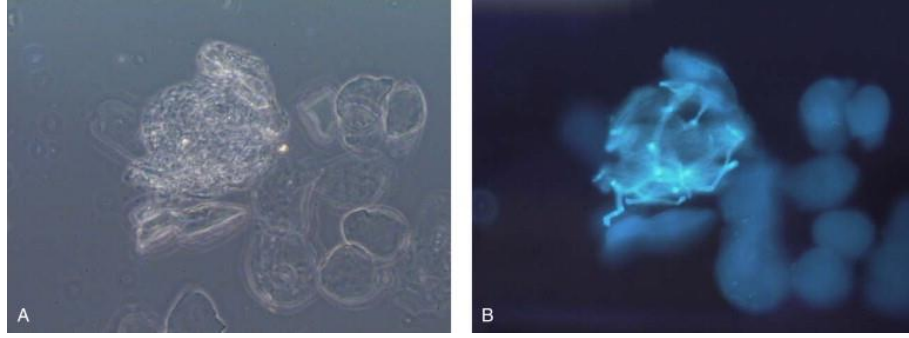
Tablo 2.4: *Candida* türlerinin morfolojik özellikleri (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011)

Morfolojik Özellikler	
Boyut (µm)	3–6
Şekil	Küresel veya oval
Tomurcuk sayısı	Tek ve/veya zincirli
Tomurcukların eklenmesi	Sınırlı
Kalınlık	İnce
Psödohif ve/veya hif	Karakteristik
Çekirdek sayısı	Tek



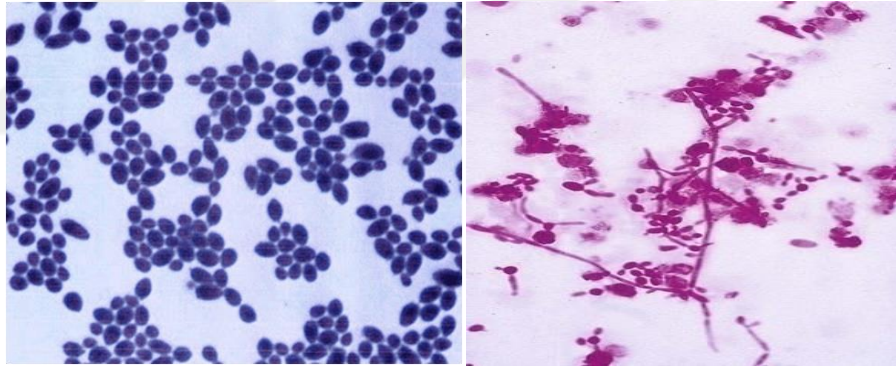
Şekil 2.1. *Candida* spp. KOH preparat mikroskop görüntüsü.

(https://www.stepwards.com/?page_id=10997. Erişim tarihi: 10.08.2019)



Şekil 2.2. A; Calcofluor boyama ışık mikroskobu görüntüsü ve B; Ultraviyole ışık altında görüntüsü (40X). (<https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/potassium-hydroxide>, Erişim tarihi: 10.08.2019)

Lezyon bölgesinden alınan bir smear lama sabitlenir ve daha sonra gram boyama veya periyodik asit Schiff boyama tekniği uygulanır. Bu yöntem ile Şekil 2.3’de görüldüğü gibi kandidal hif ve mayalar koyu mavi-mor (Gram-boyama) veya kırmızı/mor (periyodik asit Schiff boyama) görünürler. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).



Şekil 2.3. *Candida albicans* gram ve periyodik asit -Schiff boyama mikroskop görüntüsü. (<https://i1.wp.com/microbeonline.com/wp-content/uploads/2015/09/New-Picture.png><https://clinicalgate.com/the-yeasts/>. Erişim tarihi: 10.08.2019)

Kronik hiperplastik kandidoz durumunda, PAS veya Gomori’nin metenamin gümüş boyaları kullanarak histolojik boyama ile *Candida*’yı tespit etmek için lezyonun bir biyopsisi gerekmektedir. Fungal elementlerin dokularda gösterilmesinde boyama yöntemleri önemlidir. Blastosporların ve hifin veya psödohifin varlığı, *Candida* türü olarak tanımlamasını sağlayabilir ve diğer histopatolojik özelliklerin varlığı göz önüne alındığında kronik hiperplastik kandidoz teşhisi konulmasını sağlayabilir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

2.8.5.2. *Candida* için Kullanılan Besiyerler

Candida için en sık kullanılan birincil izolasyon ortamı, *Candida*'nın üremesine izin vermesine rağmen, düşük pH nedeniyle birçok oral bakteri türünün büyümesini baskılayan SDA besiyeridir. Antibiyotik içeren SDA besiyerlerinin kullanılması ise seçiciliği arttırmaktadır. SDA besiyeri ağızdaki *Candida* türlerini belirlemek için genellikle aerobik olarak 37°C'de 24–48 saat inkübe edilmektedir. SDA besiyerinde gelişen *Candida*'lar krem renkli, pürüzsüz, dışbükey koloniler olarak üremektedirler ve *Candida* türleri arasında farklılaşma nadiren de olsa mümkündür. Birden fazla *Candida* türünün oral örneklerin yaklaşık %10'unda bulunduğu ve son yıllarda non-albicans türlerin tespit edilmesinin giderek daha önemli hale geldiği belirtilmiştir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Son yıllarda, primer kültürden sonra koloni görünümüne ve rengine dayanarak bazı *Candida* türlerinin tanımlanmasına izin veren başka diferansiyel besiyerleri geliştirilmiştir. Bu tür besiyerlerin avantajı, tek bir enfeksiyonda çoklu *Candida* türlerinin varlığının belirlenmesi ve sonraki tedavi seçeneklerinin seçilmesinde önemli olabilecek türlerin belirlenebilmesidir. Bu tip diferansiyel besiyerleri arasında Pagano–Levin agar veya ticari olarak temin edilebilen CHROMagar *Candida*, Albicans ID, Fluroplate veya Candichrom albicans gibi kromojenik agarlar yer almaktadır. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Pagano–Levin agar, trifeniltetrazolyum klorürün indirgenmesi yöntemine dayanarak *Candida* türleri arasında ayırım yapmaktadır. Bu besiyerinde *C. albicans* türü açık-soluk renkte üreme gösterirken, diğer *Candida* türleri pembe renkte üreme göstermektedirler. Pagano-Levin agar, SDA'ya benzer bir duyarlılığa sahiptir ancak örnekteki birden fazla türün tespitini sağlamaktadır. (Samaranayake, MacFarlane ve Williamson, 1987).

CHROMagar *Candida* ise koloni rengi ve görünümüne dayalı olarak *C. albicans*, *Candida tropicalis* ve *Candida krusei* türlerini tanımlamaktadır (Zarei Mahmoudabadi ve ark., 2000; Martins, Koga–Ito ve Jorge, 2002; Nejad, Rafeiei ve Moosanejad, 2011; Patel ve ark., 2012)

Albicans ID ve Fluroplate'in ise *C. albicans*'ın varsayımsal tanımlaması için faydalı olduğu bildirilmiştir. (Urzúa ve ark., 2008; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Canabarro ve ark., 2013; Monteiro–da–Silva, Araujo ve Sampio–Maia, 2014)

Besiyerlerinin tanımlama özgülüğünü ise CHROMagar *Candida* için %95 ve Albicans ID ve Fluroplate agarları için %98,6 olarak bildirmişlerdir. CHROMagar *Candida*'nın birincil izolasyon agar olarak kullanımı, *C. dubliniensis* türünün *C. albicans* türünden ayırt edilmesine izin veren bir yaklaşım olarak belirtilmiştir. CHROMagar *Candida*'da *C. dubliniensis* kolonisinin rengi, *C. albicans* kolonisi rengine kıyasla daha koyu yeşil

olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *C. dubliniensis* türünün 45°C gibi yüksek inkübasyon sıcaklığında agar besiyerinde ürememesi *C. albicans* türünden ayrımı için alternatif bir test olarak kullanılmaktadır. (Zarei Mahmoudabadi ve ark., 2000; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Nejad, Rafeiei ve Moosanejad, 2011; Patel ve ark., 2012).

2.8.5.3.Candida Türlerinin Tanımlanması

Birincil kültür ortamına dayalı mayaların tanımlanması izolatların morfolojik ve fizyolojik özelliklerine dayanan çeşitli geleneksel ilave testler yardımıyla yapılabilmektedir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Morfolojik Özellikler: Germ tüp testi (GTT) *C. albicans* türünü tanımlamak için kullanılan standart laboratuvar yöntemidir. GTT at serumunda 37°C'de 2–4 saat süreyle inkübe edildiğinde hifal çıkıntılarının (germ tüpleri) uyarılmasını içermektedir. *C. stellatoidea* ve *C. dubliniensis* tarafından da paylaşılan bir özellik olan germ tüpünü *C. albicans* izolatlarının yaklaşık %95'i üretmektedir. (Zarei Mahmoudabadi ve ark., 2000; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Nejad, Rafeiei ve Moosanejad, 2011; Patel ve ark., 2012).

C. albicans ve *C. dubliniensis* türleri klamidosporeler olarak bilinen morfolojik özellikleri üretme kabiliyetlerine bağlı olarak diğer türlerden ayrılabilir. Klamidosporeler, mısır unu agar (Corn Meal Agar) gibi besleyici olarak fakir bir besiyerinde izolatların kültürünü takiben hiflerin uçlarında üretilen küresel yapılardır. İzolatlar agar üzerinde çapraz hat şeklinde ekilir ve steril bir lamel ile kapatılır. Agarlar 24–48 saat 37°C'de inkübe edilir ve daha sonra klamidospore varlığı için mikroskopik olarak incelenir. (Zarei Mahmoudabadi ve ark., 2000; Martins, Koga–Ito ve Jorge, 2002; Urzúa ve ark., 2008; Gomes, Fidel, Fidel ve de Moura Sarquis, 2010; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Nejad, Rafeiei ve Moosanejad, 2011; Patel ve ark., 2012).

Fizyolojik Kriterler/Biyokimyasal Tanımlama: *Candida* türlerinin biyokimyasal olarak tanımlanması büyük ölçüde karbonhidrat kullanımına dayanmaktadır. Geleneksel testler, karbon kaynağı olmayan bir bazal agar besiyeri yüzeyine izolatların yayma plak ekimini içermektedir. Karbonhidrat çözeltileri ise agar içerisine açılan kuyucuklara ilave edilir ya da karbonhidrat çözeltisi boş filtre kâğıdı diske emdirilir ve disk agar yüzeyine yerleştirilir. Karbon kaynağının çevresindeki üreme, hangi karbonhidratları kullandığını göstermektedir. Ticari sistemler aynı prensibe dayanır, ancak test karbonhidratları bir test şeridi üzerinde bulunan plastik kuyucuklara yerleştirilmiştir. Her kuyucuktaki üreme, bazı bulanıklık veya renk değişiklikleriyle okunur. Test sonuçlarından elde edilen sayısal kodlar, veri tabanı ile

karşılaştırılır ve izolat tanımlanır. (Martins, Koga–Ito ve Jorge, 2002; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Seroloji: *Candida* izolatlarının klinik önemini belirlemek için sıklıkla serolojik testler de kullanılmaktadır. *C. albicans*'a karşı IgG antikorlarının titresindeki artış immünokompetan bireylerde invaziv kandidiyazı yansıtabilmektedir. IgA ve IgM antikorlarının tespiti ise akut bir enfeksiyonu tanımlamak için önemlidir. Bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde sıklıkla antikor üretimi değişkenlik gösterir ve böyle bir durumda bir antijen saptama testinin kullanılması önerilmektedir. Enzim bağlı immünosorbent analizi (ELISA) ve radyo immüno analizi (RIA) gibi testler ya da gelişmiş ülkelerde kullanılan hücre duvarı mannanının veya sitoplazmik bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan analizler ile kandidal antijenler belirlenebilmektedir. Serolojik tanı testleri hala hassasiyet ve özgüllükten yoksundur. Ayrıca immün sistemi baskılanmış hastalarda antikor üretimi değişkendir ve tanıyı karmaşık hale getirmektedir. Bu nedenle fungal antijenleri ve metabolitleri dolaşımdan sıklıkla hızlı bir şekilde atılmaktadır ve özellikle ciddi altta yatan hastalığı olan hastalarda veya immünsüpresif ilaçlar alan hastalarda antikorların varlığı her zaman bir *Candida* enfeksiyonu olduğu anlamına gelmemektedir. Serolojik testler normalde oral kandidoz için tanısal bir araç değildir. Bununla birlikte, bu tür testler, antimikotik tedaviye zayıf yanıt veren şiddetli oral kandidoz hastalarında prognostik bir araç olabilmektedir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Moleküler Tabanlı Tanımlama Yöntemleri: Genetik çeşitlilik analizi ile tanımlama fenotipik kriterlere dayanan yöntemler kullanmaktan daha kararlı bir yaklaşımdır. Genetik varyasyona dayalı *Candida*'nın tanımlanmasında DNA–DNA hibridizasyonu veya jel elektroforezi kullanılarak Kesilmiş parçalardaki uzunluk farklılıkları (restriction fragment length polymorphisms, RFLP'ler) ve elektroforetik karyotip farklarının analizleri kullanılmaktadır. *Candida* türlerinin tanımlanması için türlere özgü PCR yaklaşımları da kullanılmaktadır. *Candida* türlerinin ayırt edilmesi için birçok hedef gen bildirilmiştir, fakat en sık kullanılan ribozomal RNA operon dizileridir. Jel elektroforez çözündürülmesinden sonra elde edilen ya doğrudan sekanslama ile ya da sınırlı endonükleazlarıyla PCR sekanslarının kesilmesini takiben sınırlı fragman analizi kullanılarak belirlenen PCR ürün sekansı varyasyonuna dayanarak tanımlama yapılabilmektedir. (Urzúa ve ark., 2008; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Kraneveld ve ark., 2012).

Peptit nükleik asit yöntemi ile floreans in situ hibridizasyon (PNA Fish), canlı *C. albicans* hücrelerinin rRNA'sında yüksek oranda korunan türe özgü dizileri hedef alan yeni bir tespit tekniğidir. Amplifikasyona ihtiyaç duymadan hücreleri bireysel olarak doğrudan

tespit edebilmektedir. Bu teknik, *C. albicans* türüne fenotipik olarak benzer *C. dubliniensis* türünün ayırt edilmesine izin vermektedir ve yöntemin özgüllüğünün %100, hassasiyetinin ise %98,7–100 arasında olduğu bildirilmiştir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Candida türlerinin suşlarını tanımlamak için moleküler tabanlı teknolojiler kullanılmakla birlikte Darbeli Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE), Rastgele Güçlendirilmiş Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD DNA) analizi ve tekrarlı dizi amplifikasyon PCR (repeat sequence amplification PCR, REP PCR) teknikleri de kullanılmaktadır. (Kleinegger, Lockhart, Vargas ve Soll, 1996; Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011; Li ve ark., 2012). Ayrıca günümüzde NGS ile de tanımlamalar yapılmaktadır (Tawfik, Azab, Ahmed ve Fayyad, 2018).

Son zamanlarda, proteomik yaklaşım kullanılarak mikrobiyal türlerin tanımlanması kromatografik ve hatta DNA'ya bağımlı yöntemlere alternatif olarak popüler hale gelmiştir. Bu yöntemlerden en çok kullanılan; Matris destekli lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş süresi kütle spektrofotometrisi (MALDI–TOF MS) dir. Bu teknik; kütle (m) ve yük (z) m/z değerlerini hesaplayarak 2–20 kDa'lık bir kütle aralığında bulunan, oldukça bol proteinlerin saptanmasına dayanır. Böylece, her bir mikroorganizma için, proteinlerin oluşturduğu spektrumlar ile tipik bir spektrum (MS parmak izi) oluşturulur ve mikroorganizmaların tanımlanması sağlanır. (Yaman, Akyar ve Can, 2012; Bader, 2013; Chalupová, Raus, Sedlářová ve Šebela, 2014; Panda ve ark, 2015; Cassagne ve ark., 2016; Angeletti, 2017) Çeşitli çalışmalar ile MALDI–TOF MS ile fungusların tanımlanmasını %87,2–99,3 doğrulukta tanımlama yaptığını bildirmişlerdir (Hendrickx, Goffinet, Swinne, Detandt, 2011; Jamal, Ahmad, Khan ve Rotimi, 2014; Sendid ve ark., 2013; Panda ve ark, 2015)

2.8.6. Ağızdan Toplanan Örneklerin Mikrobiyolojik Analizi

Candida türleri insan mikrobiyotasında olduğu için ağızdaki varlığını ve/veya sayısını belirlemek için uygun izolasyon yöntemlerinin kullanılması önemlidir. *Candida* türlerinin enfekte edici suşlarının tanımlanması önem arz etmektedir, çünkü *Candida* türlerinin hem enfeksiyona neden olma kabiliyetleri hem de antifungal ajanlara karşı duyarlılıkları farklılık göstermektedir. *Candida* türlerini tanımlamak için morfolojik kültür testleri, diferansiyel besiyerleri ve biyokimyasal asimilasyon testleri gibi çeşitli fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler büyük ölçüde epidemiyolojik araştırmalarda kullanılan yeni moleküler tekniklerle desteklenmektedir. (Byadarahally Raju ve Rajappa, 2011).

Hasta tekrarlayan kandidal enfeksiyona veya sistemik mantar enfeksiyonu risk faktörlerine sahipse, oral maya mukozitinin teşhisi daima kültürle doğrulanmış enfeksiyon

tanısına, tür seviyesinin tanımlanmasına ve antifungal duyarlılık testine dayanmalıdır. Ağız mayalarının antifungal duyarlılık testleri, disk difüzyon ve E-test metodolojilerine, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) veya EUCAST tarafından belirlenen broth mikrodilüsyon analizlerine dayanmaktadır. Tüm bu deneyler, mikrobiyolojik olarak dirençli suşların bulunup bulunmadığının belirlenmesinde faydalı olsa da, bu enfeksiyonlarda biyofilm yapılarının rolü göz önüne alındığında potansiyel olarak yanıltıcıdır. Spesifikasyon, antifungal tedaviyi yönlendirmek için yeterli olmalıdır, fakat antifungal duyarlılık tükürük içindeki maya türü ve biyofilmin dış uçlarını yansıtan üremenin serbest yaşam (planktonik) aşamasına bağlıdır. Serbest yaşayan hücrelerin geri kalanı, bazı durumlarda planktonik hücrelerin bin katına kadar olan antifungal bileşiklere karşı oldukça dirençlidir. Bunu ele almak için, oral teşhis laboratuvarlarının klinisyenlere daha net bir tedavi stratejisi sağlayacak olan rutin metodoloji olarak biyofilm duyarlılık testlerini kullanması yerinde olabilir. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

2.8.7. Oral Kandidozun Tedavisi

Biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinin terapötik temel taşı, her zaman mekanik veya cerrahi bozulma ve biyofilmin çıkarılmasıdır. İlaçlar biyofilmlere zayıf bir şekilde nüfuz eder ve biyofilme yönelik tedavi olmadan cevap zayıf ve geçicidir. Ek olarak, biyofilm içindeki düşük ilaç konsantrasyonları, dirençli suşların seçilmesi ve zenginleştirilmesi için potansiyel bir risk yaratmaktadır. Düşük dozlarla tedaviden genellikle aynı sebepten kaçınılmalıdır. Karışık biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinde, biyofilmin çeşitli mikroorganizmalarına karşı eş zamanlı olarak ilaç tedavisini hedeflemek akılcıdır, yalnızca önemli olarak görülen bir patojene karşı ilaç tedavisi uygulanmamalıdır. Ek olarak, diğer hastalıkların yönetimi de önemlidir. Örneğin, astımlı hastalarda inhale steroid uygulama tekniklerinin gözden geçirilmesi gerekebilir. Bazı hastalarda gastroözofageal reflünün veya diyabetin tedavisinin de daha iyi kontrol edilmesini gerektirebilir. (Rautemaa ve Ramage, 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Evreni Ve Örneklem

Araştırma yöntemi kesitsel türde olup, tanımlayıcı bir çalışmadır.

Araştırma evrenini 2018-2019 Eğitim Öğretim Yılı'nda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu bünyesinde yer alan Hemşirelik ve Ebelik Bölümü'nde halen okumakta olan 4. sınıf öğrencileri oluşturmaktadır. Örneklem grubu olarak bu birimin seçilmesindeki ilk neden bölümün sağlık hizmetleri ile ilgili olmasıdır. Diğer bir neden ise öğrencilerin not kaygısının bulunmamasıdır. Sağlık hizmetleri ile ilgili olmaları nedeniyle de çalışmaya gönüllü olarak katılacakları düşünülmüştür.

Araştırmanın kurumsal izni okul yönetiminden, etik kurul onayı ise Üniversitenin Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı (No: 18920478-050.01.04-E1800031135). Araştırmada veri toplama işlemine başlamadan önce öğrencilere araştırmanın amacı ve kapsamı hakkında bilgi verilerek araştırmaya katılmayı kabul ettiklerine dair sözlü ve yazılı onamları alındı.

3.2. Yöntem

Örnekleme işlemi daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak seçilmiştir. Örnek alım işlemi saat 11.00 ile 14.00 arasında yapılmıştır. Öğrencilere örnek alınmadan 1 saat öncesine kadar yemek yememesi ve dişlerini fırçalamaması söylenmiştir. 30.04.2019 tarihinde saat 12.00'de Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü 4. Sınıf öğrencisi 29 kişiden ilk örnekler alınmıştır. 08.05.2019 tarihinde saat 12.00'de ise Hemşirelik Bölümü 4. sınıf öğrencisi 15 kişiden ve Ebelik Bölümü 4. Sınıf öğrencisi 16 kişiden olmak üzere toplam 31 kişiden örnek alınmıştır. Örneklemede 10 mL steril PBS kullanılarak 1 dk süreyle ağız yıkama yöntemi uygulanmıştır. (Samaranayake, MacFarlane ve Williamson 1987; Martins, Koga-Ito ve Jorge, 2002; Ghannoum ve ark., 2010). Örnekler alındıktan hemen sonra laboratuvara soğuk zincirde taşınmıştır ve analize alınana kadar +4°C'de bekletilmiştir. Analiz 6 saat içerisinde yapılmıştır. Örnekler alınırken aynı zamanda katılımcılara 20 soruluk bir anket uygulanmıştır. Anket örneği Ekler kısmında verilmiştir.

Örneklerin öncelikle maya yükleri belirlenmiştir. Bu amaçla iki farklı yöntem kullanılmıştır.

İlk yöntem; örneklerin 10⁻⁴'e kadar seri dilüsyonları hazırlanarak kloramfenikol içeren Sabouraud Dextrose Agar (SCAF) besiyerine yayma plak yöntemine (100 µL) göre ekimleri

yapılmıştır. Her örnek için; her dilüsyondan iki petriye ekim yapılmış olup, toplam 8 adet SCAF besiyeri kullanılmıştır. Literatüre baktığımızda araştırmacılar inkübasyon sıcaklığı için 25°C ve 37°C'yi kullanmışlardır. Hatta bir çalışmada 25°C'de daha fazla maya izolatu ürettiği belirtilmiştir. (Monteiro-da-Silva, Araujo ve Sampio-Maia, 2014). Fakat diğer tüm çalışmalarda 37°C seçilmesi dolayısıyla çalışmamızda bu inkübasyon sıcaklığı tercih edilmiştir. Petriler 37°C'de 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. (Martins, Koga-Ito ve Jorge, 2002; Urzúa ve ark., 2008; Gomes, Fidel, Fidel ve de Moura Sarquis, 2010). İnkübasyondan sonra öncelikle sayım yapılmıştır ve üreme olan petrilere örnek alınmıştır.

İkinci yöntemde ise örnekler öncelikle 4000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminden sonra süpernatant kısmı atılmıştır. (Ghannoum ve ark., 2010). Pellet kısmına steril, pH:7 PBS'den 400 µL ilave edilmiştir ve 15 sn vorteklenmiştir. Daha sonra SDA ve SCAF besiyerine yayma plak yöntemine (100 µL) göre ekimleri yapılmıştır. Ekimlerde 2 adet SDA besiyeri ve 2 adet SCAF besiyeri olmak üzere her örnek için toplam 4 adet besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'de 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyondan sonra öncelikle sayım yapılmıştır ve üreme olan petrilere örnek alınmıştır. (Martins, Koga-Ito ve Jorge, 2002; Urzúa ve ark., 2008)

Sayım petrilere maya izolatları alınmıştır. Bunun için bir örneğe ait tüm sayım petrilere bir araya konulmuştur ve gözle değerlendirilmiştir. Göz ile yapılan değerlendirmede koloni rengi, koloni kenar yapısı, koloni yüksekliği gibi koloni yapısı kriterleri dikkate alınarak izolatlar alınmıştır. Alınan izolatlar ilk olarak SDA içeren petri plaklarına ekimleri yapılarak koloniler tek düşürülmüştür. Tek düşen kolonilerden ana stoklar alınmıştır. Ana stoklar SDB içeren tüplere alınmıştır. Ana stok olarak alınan tüplerde geliştirilen izolatlardan lam-lamel arası preparat hazırlanarak izolatların maya olup olmadığı belirlenmiştir.

İzolatlardan *Candida albicans/dublinensis* türlerini belirlemek için GTT yapılmıştır. GTT için 0,5 ml insan serumu kullanılmıştır. İçerisine SDB'deki saf kültürden 10 µL ilave edilerek 37°C'de 2 saat inkübe edildikten sonra lam-lamel arası preparat ile germ tüp oluşumu belirlenmiştir. (Doğan, Gülmez ve Arıkan Akdağlı, 2016)

İzolatların yeni nesil tanımlama yöntemlerinden MALDI-TOF MS ile tanımlanması gerçekleştirilmiştir (Hendrickx, Goffinet, Swinne, Detandt, 2011; Jamal, Ahmad, Khan ve Rotimi, 2014; Sendid ve ark., 2013; Panda ve ark., 2015). Mayaların identifikasyonunda Bruker Microflex (Bruker, Biotyper; Bruker Daltonics, Bremen, Germany) Flex Control 3.0 yazılımı kullanılmıştır. İdentifikasyon hizmet alımı şeklinde T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler

Daire Başkanlığı Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.3. İstatiksel Analizler

İstatiksel analizler SPSS 23 programı kullanılarak yapılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Katılımcılara Uygulanan Anket ve Sonuçları

Çalışmamıza toplam 55 kişi katılmıştır, fakat ilk örnekleme katılan 29 kişinin oral maya yükü belirlenemediği için ikinci örnekleme katılan 31 (5 kişi hem ilk hem ikinci örnekleme katılmıştır) kişinin örnekleri çalışmamızda dikkate alınmıştır ve sonuçlar ikinci örnekleme katılan kişiler üzerinden değerlendirilmiştir.

Katılımcıların demografik özelliklerine baktığımızda, katılımcıların %87,1'i kadın ve %12,9'u erkektir. Katılımcıların yaş ortalamasının $22,10 \pm 0,63$ olduğu belirlenmiştir. Çalışmamıza katılan 2 kadın katılımcının evli olduğu ve diğerlerinin medeni durumun bekâr olduğu belirlenmiştir. Katılımcıların demografik özellikleri ve örnek alımı sırasında uygulanan anketin sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Katılımcıların ağız hijyeni ile ilgili olarak; diş fırçalama sıklığının günde bir olarak ifade edenlerin %9,7 (5 kişi) olduğu, günde iki kere fırçalarını olarak ifade edenlerin %77,4 (24 kişi) ve her yemekten sonra fırçalarını diyenlerin %6,5 (2) oranında olduğu tespit edilmiştir. Diş hekimine her ay giderim diyenlerin oranının %3,2 (1 kişi), üç ayda bir giderim diyenlerin %16,1 (5 kişi), yılda bir giderim diyenlerin %32,3 (10 kişi) ve dişim ile ilgili sıkıntı olmadan gitmem diyenlerin oranının %41,9 (13 kişi) olduğu tespit edilmiştir. “Diş ipi kullanıyormusunuz?” sorusuna ise evet diyenlerin oranın %25,8 (8 kişi) ve hayır diyenlerin oranın ise %67,7 olduğu belirlenmiştir. Ağız çalkalama suyu kullananların oranın %38,7 olduğu, kullanmayanların ise %54,8 (17) olduğu tespit edilmiştir. Diş fırçalarını değiştirme sıklıklarının ayda bir olduğu söyleyen 3 kişi (%9,7), üç ayda bir deyen 14 kişi (%45,2), altı ayda bir diyen 9 kişi (%29,0) ve aklıma geldikçe değiştirim diyen 3 kişinin (%9,7) olduğu tespit edilmiştir. Diş taşı temizliği yaptıranların oranının %38,7 (12 kişi) ve yaptırmayanların oranın %54,8 (17 kişi) olduğu belirlenmiştir.

Katılımcıların ağız sağlığı ile ilgili olarak ise dişleri ile ilgili sağlık problemi olanların oranının %38,7 olduğu, dişleri ile ilgili sağlık problemi olmayanların oranın %54,8 (17) olduğu tespit edilmiştir. Dişlerinde protez olan kişi sayısının 3 olduğu (%9,7) belirlenmiştir. Dişinde dolgu olanların sayısının 20 kişi (%64,5) olduğu ve dolgu olmayanların sayısının 9 kişi (%29,0) olduğu tespit edilmiştir. Dişlerini fırçalama sırasında diş etlerinde kanama olanların oranının %35,5 (11 kişi) ve kanama olmayanlarının oranının %54,8 (17 kişi) olduğu belirlenmiştir. Yirmilik dişlerini çektirenlerin sayısını 5 kişi (%16,1) ve daha önce diş teli kullananların sayısını 4 kişi (%12,9) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. Katılımcıların demografik özellikleri, ağız sağlığı ve hijyeni ile ilgili bilgileri

Soru	Cevap	N (%)
Cinsiyet	Kadın	27 (87,1)
	Erkek	4 (12,9)
Yaş	21	5 (16,1%)
	22	16 (51,6)
	23	8 (25,8)
Medeni durum	Evli	2 (6,5)
	Bekâr	29 (93,5)
Dişlerinizi fırçalama sıklığınız nedir?	Günde bir	3 (9,7)
	Günde iki	24 (77,4)
	Her yemekten sonra	2 (6,5)
	Hiç	-
Diş hekime gitme sıklığınız nedir?	Ayda bir	1 (3,2)
	Üç ayda bir	5 (16,1)
	Yılda bir	10 (32,3)
	Diş ile ilgili sıkıntısı olmadan asla	13 (41,9)
Diş ipi kullanır mısınız?	Evet	8 (25,8)
	Hayır	21 (67,7)
Ağız çalkalama suyu (gargara) kullanır mısınız?	Evet	12 (38,7%)
	Hayır	17 (54,8)
Diş fırçanızı ne sıklıkla değiştirirsiniz?	Ayda bir	3 (9,7)
	Üç ayda bir	14 (45,2)
	Altı ayda bir	9 (29,0)
	Aklıma geldikçe	3 (9,7)
Diş taşı temizliği yaptırır mısınız?	Evet	12 (38,7)
	Hayır	17(54,8)
Halen dişleri ile ilgili sağlık problemi var mı?	Evet	12 (38,7)
	Hayır	17 (54,8)
Dişlerinizde dolgu mevcut mu?	Evet	20 (64,5)
	Hayır	9 (29,0)
Dişlerinde protez var mı?	Evet	3 (9,7)
	Hayır	26 (83,9)

*Katılımcılar, bazı sorulara cevap vermediği için, bazı yüzdeler %100 değildir.

Tablo 4.1. (devamı) Katılımcıların demografik özellikleri, ağız sağlığı ve hijyeni ile ilgili bilgileri

Soru	Cevap	N (%)
Dişlerinizi fırçaladığınızda diş etlerinizde kanama oluyor mu?	Evet	11 (35,5)
	Hayır	17 (54,8)
Yirmilik dişlerinizi çekirttiniz mi?	Evet	5 (16,1)
	Hayır	23 (74,2)
Daha önce hiç diş teli kullandınız mı?	Evet	4 (12,9)
	Hayır	25 (80,6)
Ne sıklıkla sakız çiğnersiniz?	Günde bir	-
	Günde iki	2 (6,5)
	Aklıma geldikçe	22 (71,0)
	Hiç	5 (16,1)
Kullandığınız diş macununun içeriğine dikkat ediyor musunuz?	Evet	17(54,8)
	Hayır	12 (38,7)
En son ne zaman antibiyotik kullandınız?	Son bir ay içinde	5 (16,1)
	Son üç ay içinde	9 (29,0)
	Son altı ay içinde	6 (19,4)
	Bir yıldan uzun süre önce	9 (29,0)
Alkol ne sıklıkla kullanıyorsunuz?	Her gün	-
	Hafta bir	4 (12,9)
	Ayda bir	11 (35,5)
	Hiç	14 (45,2)
Kola ya da asitli içecekler kullanıyorsunuz?	Evet	22 (71,0)
	Hayır	7 (22,6)

*Katılımcılar, bazı sorulara cevap vermediği için, bazı yüzdeler %100 değildir.

Katılımcıların ağız maya yükünü ve çeşitliliğini etkileyeceği düşündüğümüz diğer parametreler de katılımcılara anket formunda sorulmuştur. Günde iki kez sakız çiğnerim diyenlerin oranın %6,5 (2 kişi), aklıma geldikçe sakız çiğnerim diyenlerin oranının %71,0 (22 kişi) ve hiç sakız çiğnemem diyenlerin oranın %16,1 (5 kişi) olduğu tespit edilmiştir. Kullandığı diş macunu içeriğine dikkat eden kişi sayısının 17 (%54,8) ve kola ya da asitli içecekler tüketenlerin sayısının 22 (%71,0) olduğu belirlenmiştir. Haftada bir alkol tüketirim diyenlerin oranının %12,9 (4 kişi), ayda bir alkol tüketirim diyenlerin oranının %35,5 (11 kişi) ve alkol tüketmem diyenlerin oranını %45,2 (14 kişi) olduğu tespit edilmiştir. Son olarak en son antibiyotik kullanımları ile ilgili olarak; son bir ay içerisinde antibiyotik

kullananların 5 kişi (%16,1) ve son altı ay içerisinde antibiyotik kullananların 6 kişi (%19,4) olduğu belirlenmiştir. Son üç ay içerisinde antibiyotik kullananların ve bir yıldan uzun süre önce antibiyotik tüketenlerin oranlarının ise aynı ve 9 kişi (%29,0) olduğu belirlenmiştir.

4.2.Oral Maya Yüğü

Araştırmaya katılan kişilerin oral yükünün belirlenmesinde kullanılan dilüsyon ekimi ile yapılan sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir. Tablo 4.3'de ise oral yükün belirlenmesinde kullanılan santrifüj yöntemine ait sonuçlar sunulmuştur.

Katılımcıların ağız maya yükü belirlenmesinde kullanılan dilüsyon yönteminde, 29 kişiden örnek alınmış olup, katılımcılardan sadece 3 kişide maya yükü olduğu belirlenmiştir. İlk örneklemede maya yükü tespit edilen üç kişi ikinci örneklemeye katılmamıştır. İkinci örneklemede santrifüj yöntemiyle yapılan ekimlerde toplam 31 kişiden örnek alınmış olup (bunların 5 kişisi ilk örneklemeye de katılan kişilerdi), katılımcıların 12 tanesinde maya yükü tespit edilmiştir. Hem ilk hem de ikinci örneklemeye katılan 5 kişiden dilüsyon yöntemiyle maya yükü tespit edilemezken, santrifüj yöntemiyle ekimde 5 kişiden 2'sinde maya yükü tespit edilmiştir. Bu yüzden toplam 55 farklı kişiden örnek alınmıştır. Sonuçlar değerlendirilirken ikinci örneklemeye katılan katılımcıların sonuçları değerlendirilmiştir.

Katılımcıların ağız maya yükü için kullanılan dilüsyon yönteminde SCAF besiyerinde bir kişide 4 koloni, iki kişide ise 1'er koloni olmak üzere maya yükü tespit edilmiştir. Bu nedenle yöntem değişikliğine gidilmiş ve ikinci örneklemede toplanan örnekler ilk olarak santrifüjlenmiş ve sonra ekimleri yapılmıştır. Ek olarak hem SCAF hem de SDA besiyeri birlikte kullanılmıştır. Sonuç olarak SCAF besiyerinde maya yükünün $0,72\pm 1,01$ ile $1,87\pm 0,01$ log kob arasında değiştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte aynı örneklerden SDA besiyerinde ise bakteri ve maya toplam yükünün $1,79\pm 0,0$ ile $>3,00$ log kob arasında değiştiği belirlenmiştir. Maya yükleri ile katılımcıların anket sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($P=0,05$).

Tablo 4.2. Katılımcıların oral maya yükünü belirlemede kullanılan dilüsyon yöntemi ile maya yükü (log kob) ve alınan izolat sayıları

Katılımcı No	Yöntem	SCAF log kob (koloni sayısı)	SCAF İzolat Sayısı
--------------	--------	------------------------------	--------------------

1*	Dilüsyon	0	0
2	Dilüsyon	0	0
3	Dilüsyon	0	0
4	Dilüsyon	0	0
5	Dilüsyon	0	0
6	Dilüsyon	0	0
7	Dilüsyon	0	0
8	Dilüsyon	0	0
9	Dilüsyon	0	0
10	Dilüsyon	0	0
11	Dilüsyon	0	0
12	Dilüsyon	0,00±0,01 (1 koloni)	1
13	Dilüsyon	0	0
14	Dilüsyon	0	0
15	Dilüsyon	0	0
16	Dilüsyon	0	0
17	Dilüsyon	0	0
18	Dilüsyon	0,30±0,01 (4 koloni)	4
19	Dilüsyon	0	0
20	Dilüsyon	0	0
21	Dilüsyon	0,00±0,01 (1 koloni)	1
22	Dilüsyon	0	0
23	Dilüsyon	0	0
24	Dilüsyon	0	0
25	Dilüsyon	0	0
26	Dilüsyon	0	0
27	Dilüsyon	0	0
28	Dilüsyon	0	0
29	Dilüsyon	0	0
Toplam			6

*Her iki örnelemeye katılan katılımcılar

Tablo 4.3. Katılımcıların oral maya yükünü belirlemede kullanılan santrifüj yöntemi ile maya yükü (log kob) ve alınan izolat sayıları

Katılımcı No	Yöntem	SCAF	SDA	SCAF İzolat	SDA İzolat	SDA Bakteri
--------------	--------	------	-----	-------------	------------	-------------

				Sayıs	Maya Sayısı	Sayısı
1*	Santrifüj	1,87±0,01	1,95±0,04	9	6	4
5	Santrifüj	0	>3,00	0	0	13
7	Santrifüj	1,33±0,18	1,79±0,04	5	8	0
20	Santrifüj	0	>3,00	0	0	13
25	Santrifüj	0	>3,00	0	0	13
30	Santrifüj	0	>3,00	0	0	13
31	Santrifüj	0	>3,00	0	0	16
32	Santrifüj	0,95±0,11	>3,00	7	11	0
33	Santrifüj	0	>3,00	0	0	16
34	Santrifüj	0	>3,00	0	0	7
35	Santrifüj	0	>3,00	0	1	0
36	Santrifüj	1,16±0,06	>3,00	5	4	2
37	Santrifüj	0	>3,00	0	0	0
38	Santrifüj	0	>3,00	0	0	11
39	Santrifüj	0	>3,00	0	0	10
40	Santrifüj	0	>3,00	0	0	4
41	Santrifüj	0	>3,00	0	0	0
42	Santrifüj	0,78±0,01	>3,00	5	5	0
43	Santrifüj	0	>3,00	0	0	10
44	Santrifüj	1,32±0,03	>3,00	5	4	6
45	Santrifüj	0	>3,00	0	0	13
46	Santrifüj	0,01±0,01	>3,00	1	0	13
47	Santrifüj	1,71±0,01	>3,00	8	8	2
48	Santrifüj	0	>3,00	0	0	7
49	Santrifüj	1,68±0,01	>3,00	7	7	3
50	Santrifüj	0	>3,00	0	0	14
51	Santrifüj	0,90±0,42	>3,00	5	4	1
52	Santrifüj	0,72±1,01	>3,00	5	5	0
53	Santrifüj	0,75±0,64	>3,00	5	4	1
54	Santrifüj	0	>3,00	0	0	4
55	Santrifüj	0	>3,00	0	0	12
Toplam				67	67	134

*Her iki örnelemeye katılan katılımcılar

Sayım petriyelerinden farklı koloni morfolojisine sahip koloniler gözle değerlendirilerek izolat alınmıştır. SCAF besiyerinden alınan izolatların maya olduğu belirlenirken, SDA besiyerinden alınan izolatların büyük çoğunluğunun bakteri olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak yükü belirlemede SDA besiyeri daha iyi belirlemiş gibi görünse de bu besiyerinde büyük çoğunlukla bakteriler üremiştir. Bu nedenle ağız maya yükü çalışmasında maya yükü belirlenecek ise antibiyotikli bir besiyerinin kullanılması önerilmektedir. Samaranayake, MacFarlane ve Williamson (1987) 150 kişiden ağız çalkalama suyu örnekleri toplamışlar ve bunları Pagano–Levin agar ve SDA besiyerine ekimlerini yapmışlardır. Sonuç olarak

Pagano–Levin agar besiyerinin mayaları elde etmede SDA besiyerine göre biraz daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışma; çalışmamızda olduğu gibi ağız maya yükü veya izolasyonu için daha spesifik bir besiyeri kullanılması gerektiğini göstermektedir.

Kraneveld ve ark. (2012) yaşı 58–80 arasında olan 82 Hollandalı yetiştikinden tükürük örneği almışlardır. Topladıkları tükürük örneklerinin *Candida* spp. ve bakteriler için ITS bölgesi (*Candida*) ve 16S rDNA geninin (bakteri) kullanarak kantitatif PCR analizi ile belirlemişlerdir. Hollandalı yaşlı erişkinlerde tükürük örneklerinin %0,06 ortalama yükü ile 0–8,60 kob/mL *Candida* spp. yükü tespit etmişlerdir. Li ve ark., (2012) huzurevinde kalan yaşlı yetiştikilerin ağız fungus yükünü belirlemişlerdir. Çalışmaya katılan 18 katılımcının dil dorsumunda >4 log kob fungus bulunduğunu ve 35 tanesinde >5 log kob fungus yükünü aştığını belirlemişlerdir. Bu çalışmalarda ağız fungus yükünün belirlenmesinde PCR yöntemi kullanılmış olup, katılımcılarını yaşlı bireyler oluşturmaktadır. Çalışmamızda ise genç bireyler değerlendirilmiş olup, ağızda maya yükü geleneksel yöntemlerle belirlenmiştir ve kültüre edilemeyen türler kaçırılmıştır. Ek olarak çalışmamızda sadece maya yükü belirlenirken, diğer çalışmalarda ise toplam fungus yükü değerlendirilmiştir, dolayısıyla biz bu çalışmalara göre maya yükünü daha az tespit ettik.

Monteiro–da–Silva, Araujo ve Sampio–Maia, (2014) yaptıkları çalışmada Portekiz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ndeki yüksek lisans programı beşinci sınıfta bulunan 40 sağlıklı öğrencinin katılımıyla ağız mikrobiyotasında bulunan fungal yükü araştırmışlardır. Örnekleme yöntemleri çalışmamızdaki yöntemle büyük oranda benzeyen bu çalışmada farklı olarak ekimler Sabouraud Glucose Agar'a yapılmıştır. Ayrıca petrilerin yarısını 25°C'de yarısını ise 37°C'de 7 gün süre ile inkübe etmişlerdir. Mayaları tanımlamak için API sistemini (API/ID32C) (BioM'erieux, Marcy L'Etoile, Fransa) kullanmışlardır. Bizim çalışmamıza benzer olarak onlar da katılımcılarının %20'sinin ağız fungus yükünün 1,70–2,60 log kob/mL arasında olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar; 37°C'ye göre 25°C'de inkübasyonda fungusları daha iyi tespit ettiklerini bildirmişlerdir. 25°C'de inkübe edildiğinde örneklerin %100'ünde küf ve %92,5'inde maya ürediğini belirlerken, 37°C'de inkübe edilen petrilerin %42,5'inde küf ve %45'inde ise maya ürediğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, bu çalışmanın önermesine uygun olarak petrilerimiz 37°C'de inkübe edilmiştir.

Literatür ile çalışmamız sonuçları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bunun nedenleri arasında birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında yaş grubu, demografik özellikler, kişilerin ağız sağlığı ve hijyeni, örneklem yöntemleri ve sayım yöntemi farklılıkları bulunmaktadır.

4.3. İzolatların İdentifikasyonu

Oral maya yükü sayım petrilerinden elde edilen izolatlar geleneksel yöntemlerden lam-lamel arası preparat ve GTT sonuçları değerlendirilerek tanımlanmıştır. Ayrıca izolatlar yeni tanımlama sistemlerinden olan MALDI-TOF MS yöntemi kullanılarak tanımlanmıştır. İzolatların geleneksel tanımlama yöntemine göre ve MALDI-TOF MS yöntemine göre isimlendirilmeleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Sayım petrilerinden 500 adet izolat alınmıştır. Bu izolatlardan yalnızca 140 tanesinin maya olduğu lam-lamel arası hazırlanan preparatlar ile belirlenmiştir ve Tablo 4.4.'te izolat kodları ile belirtilmiştir. Maya olduğu belirlenen izolatlara GTT yapılmıştır. GTT ile 108 izolatın muhtemel *Candida albicans/dublinensis* olabileceği belirlenmiştir. 140 izolat daha sonra MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. İzolatların 54 tanesi *C. albicans*, 5 tanesi *C. albicans (africana)*, 46 tanesi *C. dublinensis*, 28 tanesi *C. parapsilosis*, 3 tanesi *C. inconspicua*, 3 tanesi *Pichia manshurica* ve 1 tanesi *Wickerhamomyces subpelliculosus* olarak tanımlanmıştır. 12 izolatın geleneksel yöntemle isimlendirilmesi ile MALDI-TOF MS ile isimlendirilmesi arasında fark bulunmuştur. MALDI-TOF MS sonucunda; geleneksel yöntem ile *Candida albicans/dublinensis* olabileceği düşünülen 108 izolattan 5 tanesi *C. parapsilosis*, 2 tanesi *C. inconspicua* olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca MALDI-TOF MS sonucunda; GTT negatif olan 32 izolattan 2 tanesinin *C. dublinensis* ve 3 tanesinin ise *C. albicans* olduğu bulunmuştur. GTT ile MALDI-TOF MS sonuçları arasında 140 izolattan 12 tanesinin isimlendirilmesinde uyumsuzluk görülmüştür. Standart yöntemle yapılacak tanımlamalardan sonra hangi isimlendirme yönteminde yanlışlık olduğu tespit edilebilir.

Tablo 4.4. İzolatların isimlendirilmesi

Katılımcı no	İzolat Kodu	GTT (+/-)	Geleneksel Yöntemlere Göre İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS Skoru*
1	101	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.427
1	102	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.900

1	103	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.828
1	104	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.723
1	105	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.809
1	106	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans_(africana)</i>	1.676
1	107	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans_(africana)</i>	1.471
1	108	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.744
1	109	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.703
1	111	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.674
1	112	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.964
1	114	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.74
1	116	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.601
1	117	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.422
1	119	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.736
7	120	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.825
7	121	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.590
7	122	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.773
7	123	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	2.169
7	124	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.861
7	125	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.765
7	126	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.536
7	127	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.751
7	128	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.728
7	129	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.565
7	130	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.797
7	131	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.506
7	132	-	-	<i>Candida dubliniensis</i>	1.666
36	133	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.755
36	134	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.937
36	135	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.808
36	136	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	2.004
36	137	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.821
36	138	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.598
36	139	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.561
36	140	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.679
36	143	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.478
42	144	-		<i>Pichia manshurica</i>	1.919
42	145	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1.650
42	146	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.887
42	147	-		<i>Pichia manshurica</i>	1.871
42	148	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.687
42	149	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.753
42	150	-		<i>Pichia manshurica</i>	2.110

*2.300-3.000 Yüksek olasılıklı tür tanımlama; 2.000-2.299 Güvenli cins tanımlama, olası tür tanımlama; 1.700-1.999 Olası cins kimliği; 0.000-1.699 Güvenilir olmayan tanımlama geleneksel yöntem ile MALDI-TOF MS sonucu farklı

Tablo 4.4. (devamı) İzolatların isimlendirilmesi

Katılımcı no	İzolat Kodu	GTT (+/-)	Geleneksel Yöntemlere Göre İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS Skoru*
42	151	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.652
42	152	-		<i>Candida inconspicua</i>	1.774

42	153	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.903
44	154	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.859
44	155	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.828
44	156	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.703
44	157	-		<i>Candida albicans</i>	1.964
44	158	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.773
44	161	-		<i>Candida dubliniensis</i>	2.169
44	164	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida inconspicua</i>	1.706
44	167	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.908
44	168	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1.785
47	169	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	2.004
47	170	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.447
47	171	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.905
47	172	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida inconspicua</i>	1.720
47	173	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.920
47	174	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.908
47	175	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1.785
47	176	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.905
47	177	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.972
47	178	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.886
47	179	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.848
47	181	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans_(africana)</i>	1.911
47	182	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.761
47	184	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.888
47	185	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.682
47	186	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.601
49	187	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.722
49	188	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.769
49	189	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.806
49	190	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.578
49	191	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.750
49	192	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.847
49	193-1	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.641
49	193-2	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.896
49	194	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.783
49	197	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.903
49	198	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.938
49	199	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.784
49	201	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.761
49	202	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.654
51	203	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.606
51	204	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.438
51	205	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.765

*2.300-3.000 Yüksek olasılıklı tür tanımlama; 2.000-2.299 Güvenli cins tanımlama, olası tür tanımlama; 1.700-1.999 Olası cins kimliği; 0.000-1.699 Güvenilir olmayan tanımlama geleneksel yöntem ile MALDI-TOF MS sonucu farklı

Tablo 4.4. (devamı) İzolatların isimlendirilmesi

Katılımcı no	İzolat Kodu	GTT (+/-)	Geleneksel Yöntemlere Göre İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS Skoru*
51	206	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.330
51	207	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	2.025

51	209	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.659
51	210	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	2.189
51	211	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.617
51	212	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.867
52	213	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.728
52	214	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	2.123
52	215	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.685
52	216	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1.882
52	217	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.584
52	218	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.689
52	219	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.842
52	220	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.665
52	221	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.808
52	222	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.946
53	223	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.837
53	224	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.899
53	225	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.757
53	226	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.944
53	227	-		<i>Candida albicans</i>	2.072
53	228	-		<i>Candida albicans</i>	1.690
53	229	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.983
53	230	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	2.017
53	231	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans (africana)</i>	1.694
32	301	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.844
32	302	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.615
32	303	-		<i>Candida parapsilosis</i>	2.007
32	304	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.706
32	305	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.933
32	306	-		<i>Candida parapsilosis</i>	2.036
32	307	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.917
32	308	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.504
32	309	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.971
32	310	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.842
32	311	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.895
32	312	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.812
32	313	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.849
32	314	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.836
32	315	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.761
32	316	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.827
32	317	-		<i>Candida parapsilosis</i>	2.043
32	318	-		<i>Candida parapsilosis</i>	1.862
35	342	-		<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i>	1.959

*2.300-3.000 Yüksek olasılıklı tür tanımlama; 2.000-2.299 Güvenli cins tanımlama, olası tür tanımlama; 1.700-1.999 Olası cins kimliği; 0.000-1.699 Güvenilir olmayan tanımlama geleneksel yöntem ile MALDI-TOF MS sonucu farklı

Tablo 4.4. (devamı) İzolatların isimlendirilmesi

Katılımcı no	İzolat Kodu	GTT (+/-)	Geleneksel Yöntemlere Göre İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS İdentifikasyonu	MALDI-TOF MS Skoru*
46	400	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1.808

12	469	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1.902
18	470	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.660
18	471	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans_(africana)</i>	1.443
18	472	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.766
18	473	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.871
21	474	+	<i>C. albicans/C. dublinensis</i>	<i>Candida albicans</i>	1.886

*2.300-3.000 Yüksek olasılıklı tür tanımlama; 2.000-2.299 Güvenli cins tanımlama, olası tür tanımlama; 1.700-1.999 Olası cins kimliği; 0.000-1.699 Güvenilir olmayan tanımlama geleneksel yöntem ile MALDI-TOF MS sonucu farklı

31 kişiden yapılan maya yükü çalışmasında katılımcıların %38,71'inin (12 kişi) maya taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Bunlardan sadece 3 kişide *C. albicans*, 2 kişide *C. albicans* ve *C. dublinensis*, 2 kişide sadece *C. dublinensis*, 1 kişide *C. parapsilosis*, *C. inconspicua* ve *Pichia manshurica*, 1 kişide *C. albicans*, *C. dublinensis* ve *C. inconspicua*, 1 kişide *C. dublinensis* ve *C. parapsilosis*, 1 kişide ise sadece *C. parapsilosis* belirlenmiştir. Katılımcılardan birinde SDA besiyerinden alınan izolat ise MALDI-TOF MS ile *Wickerhamomyces subpelliculosus* olarak tanımlanmıştır.

C. parapsilosis taşıyıcısı olduğu belirlenen kişilerin *C. albicans* taşıyıcısı olmadığı, fakat *C. dublinensis* taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. İki kişiden (%6,45) izole edilen *C. inconspicua* türü taşıyıcılarından birinde *C. parapsilosis* ile birlikte taşıdığını, diğerinde ise hem *C. albicans* hem de *C. dublinensis* ile birlikte taşıdığı belirlenmiştir.

Kleinegger, Lockhart, Vargas ve Soll, (1996) Iowa eyaletinde yaşayan 172 kişiyi beş gruba ayırarak (0,5-1,5 yaş arası A1 grubu, 2-7 yaş A2 grubu, 15-18 yaş arası A3 grubu, 30-45 yaş arası A4 grubu ve 60 yaş ve üzeri A5 grubu) ağızda bulunan *Candida* yükünü Southern blot hibridizasyon tekniği kullanarak belirlemişlerdir. A1 grubundaki bireylerin %44'ünün ve A2 grubundaki test edilen bireylerin sadece %24'ünün taşıyıcı olduğunu belirlemişlerdir. A3 grubunda *Candida* taşıyıcılığının %40, grup A4'te %53'e ve grup A5'te %59 olduğunu bildirmişlerdir. Yaş ile birlikte *Candida* taşıyıcılığının arttığını bildirmişlerdir. Kleinegger, Lockhart, Vargas ve Soll, (1996) tarafından yapılan çalışmada çalışmamızı oluşturan yaş grubu bulunmamakla birlikte A2 ve A3 grubu arasındaki değer arasında bir oran çalışmamızda bulunmuştur. Bu nedenle çalışmayla sonuçlarımız benzerdir.

Martins, Koga-Ito ve Jorge, 2002'de yaptıkları çalışmada São José dos Campos/UNESP diş kliniklerinden 25 ile 55 yaş arasındaki 68 sağlıklı katılımcıdan örnek toplamışlardır. Çalışmamızda kullanılan örnekleme yöntemine benzer bir yöntem kullanarak topladıkları örnekleri santrifüjleme sonrası ekimlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmamıza benzer olarak SCAF besiyerine ekim yapmışlar, farklı olarak ise CHROM agar *Candida*

(CHROM agar, Paris, Fransa) üzerine de ekimlerini yapmışlardır. Maya izolatlarını, Samaranayake ve MacFarlane'e ve Sandvén'e göre CHROM agar'da üreme ve germ tüpü testi, hif, yalancı hif (pseudohyphae) ve klamidospore oluşturması, karbonhidrat fermantasyonu ve asimilasyon ile tanımlamışlardır. *Candida* türlerini 42 kişiden (%61,76) izole ettiklerini bildirmişlerdir. En sık izole edilen türlerin ise *C. albicans*, bunu takiben *C. tropicalis* (%20,42), *C. glabrata* (%6,12) ve *C. kefyr* (%2,04) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda genç sağlıklı bireylerin maya yükü belirlendiği için *Candida* türleri ile taşıyıcılık oranı %35,48 olarak belirlenmiştir.

Liguori ve ark. (2007) tarafından 2004-2005 yılları arasında toplam 78 oral durulama çözültisi analiz edilmiştir. Fenotipik olarak 63 örnekte maya olduğu, 15 örnekte ise maya olmadığını belirlemişlerdir. En sık izole ettikleri türlerin *C. albicans* (48 suş, %76,2), ardından *C. glabrata* (6 suşlar, %9,5), *C. tropicalis* (5 suş, %7,9), *C. krusei* (2 suş, %3,2), *C. parapsilosis* (1 suş, %1,6) ve *C. famata* (1 suş, %1,6) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise en sık izole edilen iki türden biri olan *C. albicans* 6 kişide ve 3 kişide *C. parapsilosis* izolatı tanımlanmış olup diğer *Candida* türleri elde edilememiştir.

Urzúa ve ark., 2008'de yaptıkları çalışmada agresif ve kronik periodontitisli hastalarda ve sağlıklı bireylerde subgingival bölgede ve mukozalarında bulunan maya mikrobiyotasını araştırmışlardır. 28 sağlıklı birey, 20 agresif periodontitisli (AP) ve 26 kronik periodontitisli (CP) hastadan örnek toplamışlardır. Örnekleri kişilerin durumuna göre belirledikleri bölgelerden swab ile almışlar ve SDA besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yaptıktan sonra 37°C'de 24 saat süre ile inkübe etmişlerdir. Sayım petrilerinden izolat alarak, izolatların germ tüpü, klasik testler ve CHROM agar *Candida* ile tanımlanması yapılmıştır. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* suşlarını ayırt etmek için izolatlar ksiloz içeren SDA da 42°C'de inkübe edilmiştir. Gerekliğinde Fungichrom ve API ID 32C test kitlerini kullanmışlardır. Geleneksel tanımlama testi sonuçlarının belirsiz olduğu durumlarda ITS1–5.8S rDNA-ITS2 bölgesinin ITS1 ve ITS4 primerlerinin dizilendirilmesi ile tamamlamışlardır. Sağlıklı bireylerin bulunduğu grupta toplam 10 taşıyıcının tamamı mukozada maya kolonizasyonunu göstermiştir, ancak bu kişilerin sadece bir tanesinin (%10) subgingiva içinde maya kolonizasyonu belirlenmiştir. AP'li dokuz hastanın %100'ünde mukozada, sadece 4'ünde (%44) subgingivada maya bulunduğunu tespit etmişlerdir. Son olarak CP'li 18 hastanın 17'sinde (%94,4) mukozada, sekizinde (%44,4) subgingivada maya kolonize olduğunu bildirmişlerdir. Üç gruptan toplam 3396 izolat almışlardır ve bu izolatların *C. albicans* (%87,5), *C. dubliniensis* (%8,4) ve *C. glabrata* (%2,6) olduğunu ve geri kalan %0,5'lik kısmın ise diğer türler olduğunu (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* ve

Rhodotorula) tespit etmişlerdir. Peters, Wu, Hayes ve Ahn (2017) 15 periodontal hastalığı olan ve 15 sağlıklı bireyde oral yıkama örneği toplamışlar ve örneklerde bulunan fungusları ITS genine göre tanımlamışlar. Toplanan örneklerden 81 cins ve 154 tür izole ettiklerini ve *Candida* ile *Aspergillus* cinslerinin katılımcıların tümünde bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca katılımcıların %97'sinden *Penicillium*, %93'ünden *Schizophyllum*, %90'ından *Rhodotorula* ve %83'ünden *Gibberella* cinslerinin bulunduğu belirlemişlerdir. Periodontal hastalığı olanlar ile ağız sağlığı iyi olan katılımcılar arasında genel oral mikrobiyom çeşitliliği veya bileşiminde önemli farklılıklar bulunmadığını bildirmişlerdir. Daha önce yapılan kültür temelli çalışmalarda periodontal hastalıklar ile ilişkili bulunan *Candida* cinsinin, Peters, Wu, Hayes ve Ahn (2017) periodontal hastalığı olan katılımcılar ile ağız sağlığı iyi olan katılımcılar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğini ($P=0,52$) bildirmişlerdir. İki çalışmada da moleküler teknikler kullanılarak hem hasta hem de sağlıklı bireylerde ağızda bulunan küfler belirlenmiştir. Çalışmamızda ise sadece sağlıklı genç bireylerin maya yükü belirlenmiştir. Bu nedenle en sık izole edilen maya hem çalışmalarda hem de çalışmamızda *Candida* türleri olmuştur.

Ghannoum ve ark. (2010) 20 sağlıklı yetişkin (21–60 yaş arası) bireyde oral boşlukta bulunan fungusları PBS ile ağız yıkama yaparak ITS primerleri kullanarak tanımlamıştır. Katılımcıların %75'inden *Candida* spp. türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Örneklerden 74 kültüre edilebilir ve 11 kültüre edilemeyen fungus cinsi belirlemişlerdir. En sık izole edilen cinsin *Candida* olduğunu belirtmişler ve bunu *Cladosporium* (%65), *Aureobasidium* (%50), *Saccharomycetales* (%50), *Aspergillus* (%35), *Fusarium* (%30) ve *Cryptococcus* (%20) cinslerinin takip ettiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda sadece mayalar değerlendirilmiş olup, sadece kültüre edilebilen 140 maya izolatından 136 tanesinin *Candida* cinsi mayalar olduğu belirlenmiştir.

Monteiro–da–Silva, Araujo ve Sampio–Maia, (2014) yaptıkları çalışmada Portekiz Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi'ndeki yüksek lisans programı beşinci sınıfta bulunan 40 sağlıklı öğrencinin katılımıyla ağız mikrobiyotasında bulunan fungal türleri belirlemişlerdir. Örneklerden en çok izole edilen fungusların *Candida* spp. (%67,5), *Rhodotorula* spp. (%75), *Penicillium* spp. (%85), *Aspergillus* spp. (%75), *Cladosporium* spp. (%72,5), *Trichoderma* spp. (%10), *Scedosporium* spp. (%7,5), *Alternaria* spp. (%5) ve *Rhizopus* spp. (%2,5) olduğunu bildirmişlerdir. İzole edilen *Candida* türlerinin ise *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* olduğu bildirmişlerdir. Yaş, cinsiyet, oral kontraseptif ilaçların kullanımı ve alkol alışkanlıkları gibi değişkenlerin ağız boşluğunda belirlenen fungusların prevalansını ve konsantrasyonunu etkilediğini ($P<0,05$); oral hijyen

veya diş çürüğü gibi durumların ise *Candida* spp., *Rhodotorula* spp., *A. fumigatus* veya *Trichoderma* spp. prevalansını etkilemediğini ($P<0,05$) tespit etmişlerdir. Çalışmada sık izole edilen iki *Candida* türü çalışmamızda da sık izole edilen türlerdir. Bununla birlikte çalışmamızda maya yükü ile katılımcıların demografik özellikleri ve ağız hijyeni ile ilgili olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Li ve ark., (2012) huzurevinde kalan yaşlı yetişkenlerin ağız mikrobiyomunda *Candida albicans* cinsinin en sık tespit edildiğini, ardından *Candida dubliniensis* (78 katılımcı), *Malassezia restricta* (57 katılımcı) ve *Candida tropicalis* (45 katılımcı) tespit edildiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak yaşlıların ağız boşluğunun *Candida* türleri ile sınırlı olmayan çeşitli fungus türlerinin yerleştiğini ve dağılımının çeşitli sağlık durumlarından (ateşlenme gibi) etkilendiğini bildirmişlerdir. Zakaria ve ark. (2017) 75-99 yaş arasındaki 181 erkek ve 229 kadın katılımcının tükürükteki fungus popülasyonunu PCR bazlı moleküler teknikle değerlendirmişlerdir. Araştırmaya katılan katılımcıların önceden antibiyotik kullanmamış olanlarını seçmişlerdir. Sonuç olarak katılımcıların %98,4'ünün *C. albicans* taşıyıcısı olduğu, tükürük fungus yükünün >4 log kob/mL üzerinde olan katılımcıların %54'ünde *C. glabrata* ve %38,1'inde *C. dubliniensis* taşıyıcısı olduklarını belirlemişlerdir. *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. dubliniensis* türlerinin Japon toplumunda yaşayan yaşlıların oral mikrobiyomunda baskın olarak bulunduğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızda genç sağlıklı bireylerin değerlendirilmiş olması sebebiyle ağızda bulunan maya türlerinde farklılıklar bulunmaktadır. Bununla birlikte, hem önceki çalışmalarda hem de çalışmamızda yaş grubu değişmesine rağmen baskın türler arasında *C. albicans* ile *C. dubliniensis* olduğu görülmektedir.

Quiles-Melero, Garcia-Rodriguez, Gómez-López ve Mingorance (2012) *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* türlerinin hızlı tanımlanmasında MALDI-TOF MS sistemini değerlendirmişlerdir. 103 izolatı (referans suş ve klinik izolat) hem MALDI-TOF MS hem de ITS1 gen bölgesine göre tanımlamışlardır. Sonuçta iki yöntem arasındaki uyumun %100 olduğunu, *C. parapsilosis* grubu içindeki türlerin hızlı ve güvenilir bir şekilde ayırt edilmesinde yararlı olabileceğini bildirmişlerdir. Sendid ve ark. (2013) klinik örneklerden izole edilen mayaların tanımlaması için MALDI-TOF MS ve geleneksel yöntemlerin performansını karşılaştırmışlardır. Toplam 1207 maya izolatını tanımlamışlardır. Referans yöntem olarak ITS gen bölgesi ile tanımlamışlardır. Sonuç olarak geleneksel yöntem ve MALDI-TOF MS ile tanımlamada %91,5 (1105) izolat uyumlu gözlenirken, %6,1'inin (74) izolatın yanlış tanımlandığını bildirmişlerdir. Moleküler tanımlama, bu 74 izolatın 73 tanesinin MALDI-TOF MS tarafından doğru bir şekilde

tanımlandığını bildirmişlerdir. İki teknik arasındaki uyum, yakından ilişkili türlerin (*C. albicans*-*C. dubliniensis*; *C. inconspicua*- *C. norvegensis*; *C. parapsilosis*-*C. metapsilosis*-*C. orthopsilosis*) tanımlanması dâhil, tıbbi açıdan önemli maya türlerinin tanımlanmasında %98-100 doğrulukta olduğunu bildirmişlerdir. *C. famata*, *C. lambica* ve *C. magnoliae* veya *Geotrichum* türlerine ait izolatların sadece %2,3'ünün MALDI-TOF MS ile tanımlanabildiğini ve *Trichosporon* spp. türlerinin ise MALDI-TOF MS ile tanımlanamadığını bildirmişlerdir. MALDI-TOF MS yönteminin geleneksel tanımlama yöntemlerine göre mayaların tanımlanmasında güvenilir, hızlı ve maliyet açısından düşük olduğunu ve alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Jamal, Ahmad, Khan ve Rotimi (2014) MALDI-TOF MS ile VITEK 2 sisteminin klinik maya izolatlarını tanımlamadaki performanslarını karşılaştırmışlardır. 188 klinik maya izolatını Bruker Biotyper ve VITEK MS ile analiz etmişlerdir. VITEK 2, VITEK MS ve Bruker Biotyper MS sistemlerinin doğru tanımlama yüzdelerinin sırasıyla %94,1 (177/188), %93,0 (175/188) ve %92,6 (174/188) olduğunu bildirmişlerdir. VITEK MS tarafından üç izolat tanımlanmamışken, dokuz *C. orthopsilosis* izolatını *C. parapsilosis* olarak yanlış tanımlanmıştır, bunun nedenin ise bu türün veritabanında olmamasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. On bir izolatın Bruker Biotyper tarafından tanımlanmamış veya yanlış tanımlanmış ve 14 tanesinin daha doğru bir şekilde tanımlanmasına rağmen, skorunun <1,7'de altında olduğunu ve sonuçların güvenilir olmadığını belirtmişlerdir. Taj-Aldeen ve ark. (2014) Katar'daki bir hastanede 1 Ocak 2004 ile 31 Aralık 2010 arasındaki dönemi kapsayan retrospektif bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Kandidemisi olan 187 hastadan elde edilen 201 izolatın MALDI-TOF MS ile moleküler teknikte tanımlama ile aynı sonuçları verdiğini belirlemişlerdir. Geleneksel yöntemle tanımlama da ise 21 izolatın (%10,4) sadece cins düzeyinde tanımlanabildiğini bildirmişlerdir. Yukarıda çalışmalarda, MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlama çalışmalarının hızlı, ucuz ve yüksek oranda doğru tanımlama gücüne sahip olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da MALDI-TOF MS ile tanımlamayı yukarıda belirtilen avantajlardan dolayı seçtik, fakat yine literatürde bahsedildiği gibi referans bir yöntem ile çalışmayı gerçekleştiremedik. Referans yöntem ile çalışmasını planladık, fakat proje bütçesi ile ilgili sıkıntılardan dolayı diğer metotları uygulayamadık. Çalışmamızla ilgili ileride yapılacak referans yöntem ile bu eksiklik giderilecektir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak 18–25 yaş arası genç sağlıklı bireylerin ağız maya yükü belirlenmiştir. Ağız maya yükünün genç sağlıklı bireylerde SCAF besiyerinde $0,72 \pm 1,01$ ile $1,87 \pm 0,01$ log kob; SDA besiyerinde ise bakteri ve maya yükünün $1,79 \pm 0,0$ ile $>3,00$ log kob arasında değiştiği belirlenmiştir.

Araştırmamızda iki farklı ekim yöntemi kullanılmıştır. İlk örneklemede alınan ağız çalkalama sularının seri dilüsyonları hazırlanarak, her dilüsyondan iki SCAF besiyerine ekim yapılmıştır. Fakat maya yükü elde edilememiştir. İkinci örneklemede santrifüjleme yöntemi kullanılmıştır ve toplanan ağız çalkalama suları öncelikle 4000 rpm’de 20 dk santrifüjlenmiş ve supernatant kısmı atılmıştır. Pellet kısmına 400 µL PBS eklenerek iki adet SCAF ve iki adet SDA besiyerine ekimleri yapılmıştır. Sonuç olarak petrilere sayım sonuçları alınmıştır. Ek olarak santrifüjleme yönteminde iki besiyerinden alınan izolatları değerlendirdiğimizde SCAF besiyerinden elde edilen izolatların maya olduğu, ama SDA besiyerinden elde edilen izolatların ise genellikle bakteri izolatları olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle ağız örneklerinden maya yükünün belirlenmesinde santrifüjleme yönteminin kullanılması ve maya izolasyonu yapılabilmesi için antibiyotikli (SCAF gibi) ya da spesifik (CHROMAgar *Candida* gibi) bir besiyerinin kullanılması önerilmektedir.

MALDI-TOF MS ile izolatların %38,57’sinin (54 tane) *C. albicans*, %3,57’sinin (5 tane) *C. albicans (africana)*, %32,86’sinin (46 tane) *C. dublinensis*, %20’sinin (28 tane) *C. parapsilosis*, %2,14’ünün (3 tane) *C. inconspicua*, %2,14’ünün (3 tane) *Pichia manshurica* ve %0,72’sinin (1 tane) *Wickerhamomyces subpelliculosus* türleri olduğu tespit edilmiştir. MALDI-TOF MS ile geleneksel yöntemlerle tanımlamada 12 izolatın isimlendirilmesinde uyumsuzluk görülmüştür. Bununla birlikte MALDI-TOF MS ile tanımlanan izolatların 39 tanesinin skoru $<1,7$ olup güvenilir olmayan tanımlama içersindedir. İzolatların tür düzeyinde doğru tanımlanması ve güvenilir olmayan tanımlamaların belirlenebilmesi için daha ileri hem geleneksel hem de moleküler tekniklerle tanımlamaların yapılması gerekmektedir.

Günümüzde mikrobiyom çalışmalarında NGS çalışmaları hız kazanmıştır. Çalışmamız ise geleneksel kültüre dayalı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda kültüre edilemeyen türler ağız maya yükünün belirlenmesinde kaçırılmıştır. Ek olarak literatürde bulunan çalışmalar çoğunlukla hastalıklı bireyler arasında gerçekleştirilmiştir ve yaş aralığı çok geniştir. Bu nedenle yaş aralığı dar olan ve katılımcıların özelliklerinin daha kapsamlı belirlenebileceği NGS çalışmalarının yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aas, J. A., Barbuto, S. M., Alpagot, T., Olsen, I., Dewhirst, F. E., Paster, B. J. (2007). Subgingival plaque microbiota in HIV positive patients. *Journal of clinical periodontology*, 34(3), 189–195. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01034.x>
- Angeletti, S. (2017). Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI–TOF MS) in clinical microbiology. *Journal of microbiological methods*, 138, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.09.003>
- Bachtiar, E. W., Bachtiar, B. M., Jarosz, L. M., Amir, L. R., Sunarto, H., Ganin, H., Meijler, M. M., Krom, B. P. (2014). AI–2 of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* inhibits *Candida albicans* biofilm formation. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 94. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00094>
- Bader, O. (2013). MALDI–TOF MS based species identification and typing approaches in medical mycology. *Proteomics*, 13(5), 788–799. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200468>
- Bandara, H. M. H. N., Panduwawala, C. P., Samaranayake, L. P., (2019). Biodiversity of The Human Oral Mycobiome in Health and Disease. *Oral diseases*, 25(2), 363371. <https://doi.org/10.1111/odi.12899>
- Byadarahally Raju, S., Rajappa, S. (2011). Isolation and Identification of *Candida* from The Oral Cavity. *ISRN Dentistry*, 2011, Article ID 487921, 7 page. <http://dx.doi.org/10.5402/2011/487921>
- Canabarro, A., Valle, C., Farias, M. R., Santos, F. B., Lazera, M., Wanke, B. (2013). Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*, 48(4), 428–432. <https://doi.org/10.1111/jre.12022>
- Casado, P. L., Otazu, I. B., Balduino, A., de Mello, W., Barboza, E. P., Duarte, M. E. L. (2011). Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant dentistry*, 20(3), 226–235. doi: 10.1097/ID.0b013e3182199348
- Cassagne, C., Normand, A. C., L'Ollivier, C., Ranque, S., & Piarroux, R. (2016). Performance of MALDI–TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses*, 59(11), 678–690. <https://doi.org/10.1111/myc.12506>
- Chalupová, J., Raus, M., Sedlářová, M., Šebela, M. (2014). Identification of fungal microorganisms by MALDI–TOF mass spectrometry. *Biotechnology advances*, 32(1), 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.002>
- Cho, T., Nagao, J. I., Imayoshi, R., Tanaka, Y., (2014). Importance of Diversity in The Oral Microbiota Including *Candida* species Revealed by High–Throughput Technologies. *International Journal of Dentistry*, Article ID 454391, 5 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/454391>
- Criseo, G., Scordino, F., Romeo, O. (2015). Current methods for identifying clinically important cryptic *Candida* species. *Journal of microbiological methods*, 111, 50–56.

<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.02.004>

- Doğan, Ö., Gülmez, D., Akdağlı, S. A. (2016). Fungemi Olgularında Hızlı Bir Ön Tanımlama Testi: Pozitif Kan Kültürü Şişesinden Yapılan Doğrudan Germ Tüp Testinin Değerlendirilmesi. *ANKEM Derg.* 30(3), 102–108.
- Dupuy, A. K., David, M. S., Li, L., Heider, T. N., Peterson, J. D., Montano, E. A., Dongari-Bagtzoglou, A., Diaz, P. I., Strausbaugh, L. D. (2014). Redefining the human oral mycobiome with improved practices in amplicon-based taxonomy: Discovery of *Malassezia* as a prominent commensal. *PLoS ONE*, 9(3), e90899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090899>
- Falagas, M. E., Roussos, N., Vardakas, K. Z. (2010). Relative frequency of albicans and the various non-albicans *Candida spp.* among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(11), 954–966. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010.04.006>
- Feller, L., Lemmer, J. (2008). Necrotizing periodontal diseases in HIV–seropositive subjects: pathogenic mechanisms. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 10(1), 10–15.
- Fitzpatrick, S. G., Katz, J. (2010). The association between periodontal disease and cancer: a review of the literature. *Journal of dentistry*, 38(2), 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.10.007>
- Gainza–Cirauqui, M. L., Nieminen, M. T., Novak Frazer, L., Aguirre-Urizar, J. M., Moragues, M. D., Rautemaa, R. (2013). Production of carcinogenic acetaldehyde by *Candida albicans* from patients with potentially malignant oral mucosal disorders. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 42(3), 243–249. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2012.01203.x>
- Garg, N., Luzzatto–Knaan, T., Melnik, A. V., Caraballo-Rodríguez, A. M., Floros, D. J., Petras, D., Gregor, R., Dorrestein P. C., Phelan, V. V., (2017). Natural Products as Mediators of Disease. *Natural Product Reports*, 34(2), 194–219. DOI:10.1039/C6NP00063K
- Ghannoum, M. A., Jurevic, R. J., Mukherjee, P. K., Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., Gillevet, P. M. (2010). Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS pathogens*, 6(1), e1000713. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000713>
- Gholizadeh, P., Eslami, H., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Aghazadeh, M., Kafil, H. S. (2016). Role of oral microbiome on oral cancers, a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 552–558. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.082>
- Gomes, C., Fidel, S., Fidel, R., de Moura Sarquis, M. I. (2010). Isolation and taxonomy of filamentous fungi in endodontic infections. *Journal of Endodontics*, 36(4), 626–629. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.01.016>
- Healy, C. M., Moran, G. P. (2019). The microbiome and oral cancer: More questions than answers. *Oral oncology*, 89, 30–33. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2018.12.003>

- Hendrickx, M., Goffinet, J. S., Swinne, D., Detandt, M. (2011). Screening of strains of the *Candida parapsilosis* group of the BCCM/IHEM collection by MALDI–TOF MS. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 70(4), 544–548. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.04.006>
- Hong, B. Y., Lee, T. K., Lim, S. M., Chang, S. W., Park, J., Han, S. H., Zhu, Q., Safavi K. E., Fouad A. F., Kum, K. Y. (2013). Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing. *Journal of Endodontics*, 39(9), 1136–1140. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.05.001>
- Huffnagle, G. B., Noverr, M. C. (2013). The emerging world of the fungal microbiome. *Trends in microbiology*, 21(7), 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.04.002>
- Ikebe, K., Morii, K., Matsuda, K., Hata, K., Nokubi, T. (2006). Association of candidal activity with denture use and salivary flow in symptom-free adults over 60 years. *Journal of oral rehabilitation*, 33(1), 36–42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2006.01527.x>
- Imabayashi, Y., Moriyama, M., Takeshita, T., Ieda, S., Hayashida, J. N., Tanaka, A., Maehara, T., Furukawa, S., Ohta, M., Kubota, K., Yamauchi, M., Ishiguro, N., Yamashita, Y., Nakamura, S.. (2016). Molecular analysis of fungal populations in patients with oral candidiasis using next-generation sequencing. *Scientific reports*, 6, 28110. <https://doi.org/10.1038/srep28110>
- Jabra–Rizk, M. A., Ferreira, S. M. S., Sabet, M., Falkler, W. A., Merz, W. G., Meiller, T. F. (2001). Recovery of *Candida dubliniensis* and other yeasts from human immunodeficiency virus-associated periodontal lesions. *Journal of clinical microbiology*, 39(12), 4520–4522. DOI:10.1128/JCM.39.12.4520-4522.2001
- Jamal, W. Y., Ahmad, S., Khan, Z. U., Rotimi, V. O. (2014). Comparative evaluation of two matrix–assisted laser desorption/ionization time–of–flight mass spectrometry (MALDI–TOF MS) systems for the identification of clinically significant yeasts. *International Journal of Infectious Diseases*, 26, 167–170. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.05.031>
- Jia, G., Zhi, A., Lai, P. F. H., Wang, G., Xia, Y., Xiong, Che Z. N., Ai, L. (2018). The oral microbiota–a mechanistic role for systemic diseases. *British dental journal*, 224(6), 447–455. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.217>
- Kleinegger, C. L., Lockhart, S. R., Vargas, K., Soll, D. R. (1996). Frequency, intensity, species, and strains of oral *Candida* vary as a function of host age. *Journal of clinical microbiology*, 34(9), 2246–2254.
- Kraneveld, E. A., Buijs, M. J., Bonder, M. J., Visser, M., Keijser, B. J., Crielaard, W., Zaura, E., (2012). The Relation Between Oral *Candida* Load and Bacterial Microbiome Profiles in Dutch Older Adults. *PloS one*, 7(8), e42770. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042770>
- Krom, B. P., Kidwai, S., Ten Cate, J. M. (2014). *Candida* and other fungal species: forgotten players of healthy oral microbiota. *Journal of dental research*, 93(5), 445–451. <https://doi.org/10.1177%2F0022034514521814>
- Kwamin, F., Nartey, N. O., Codjoe, F. S., Newman, M. J. (2013). Distribution of *Candida* species among HIV–

- positive patients with oropharyngeal candidiasis in Accra, Ghana. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 7(01), 041–045. <https://doi.org/10.3855/jidc.2442>
- Li, H., Takeshita, T., Furuta, M., Tomioka, M., Shibata, Y., Shimazaki, Y., Makimura, K., Yamashita, Y. (2012). Molecular characterization of fungal populations on the tongue dorsum of institutionalized elderly adults. *Oral diseases*, 18(8), 771–777. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2012.01944.x>
- Li, L., Redding, S., Dongari–Bagtzoglou, A. (2007). *Candida glabrata*, an emerging oral opportunistic pathogen. *Journal of dental research*, 86(3), 204–215. <https://doi.org/10.1177%2F154405910708600304>
- Liguori, G., Lucariello, A., Colella, G., De Luca, A., Marinelli, P. (2007). Rapid identification of *Candida* species in oral rinse solutions by PCR. *Journal of clinical pathology*, 60(9), 1035–1039.
- Martins, C. A. D. P., Koga–Ito, C. Y., Jorge, A. O. C. (2002). Presence of *Staphylococcus spp.* and *Candida spp.* in the human oral cavity. *Brazilian Journal of microbiology*, 33(3), 236–240. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822002000300009>
- Maurya, V., Srivastava, A., Mishra, J., Gaiind, R., Marak, R. S., Tripathi, A. K., Singh, M., Venkatesh, V. (2013). Oropharyngeal candidiasis and *Candida* colonization in HIV positive patients in northern India. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 7(08), 608–613. <https://doi.org/10.3855/jidc.2801>
- Metwalli, K. H., Khan, S. A., Krom, B. P., Jabra–Rizk, M. A., (2013). *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and The Human Mouth: A Sticky Situation. *PLoS Pathogens*, 9(10), e1003616. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003616>
- Meurman, J. H., Uittamo, J. (2008). Oral micro-organisms in the etiology of cancer. *Acta Odontologica Scandinavica*, 66(6), 321–326. <https://doi.org/10.1080/00016350802446527>
- Monteiro–da–Silva, F., Araujo, R., Sampio–Maia, B. 2014. Interindividual variability and intraindividual stability of oral fungal microbiota over time. *Medical mycology*, 52(5), 498–505. <https://doi.org/10.1093/mmy/myu027>
- Mukherjee, P. K., Chandra, J., Retuerto, M., Sikaroodi, M., Brown, R. E., Jurevic, R., Salata, R. A, Lederman, M. M., Gillevet, P. M., Ghannoum, M. A. (2014). Oral mycobiome analysis of HIV–infected patients: identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi. *PLoS pathogens*, 10(3), e1003996. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003996>
- Nejad, B. S., Rafiei, A., Moosanejad, F. (2011). Prevalence of *Candida* species in the oral cavity of patients with periodontitis. *African Journal of Biotechnology*, 10(15), 2987–2990.
- Panda, A., Ghosh, A. K., Mirdha, B. R., Xess, I., Paul, S., Samantaray, J. C., Srinivasan, A., Khalil, S., Rastogi, N., Dabas, Y. (2015). MALDI–TOF mass spectrometry for rapid identification of clinical fungal isolates based on ribosomal protein biomarkers. *Journal of microbiological methods*, 109, 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.12.014>

- Patel, P. K., Erlandsen, J. E., Kirkpatrick, W. R., Berg, D. K., Westbrook, S. D., Loudon, C., Cornell, J. E., Thompson, G. R., Vallor, A. C., Wickes, B. L., Wiederhold, N. P., Redding, S. W., Patterson, T. F. (2012). The changing epidemiology of Oropharyngeal Candidiasis in patients with HIV/AIDS in the era of antiretroviral therapy. *AIDS Research and Treatment*, 262471. <https://doi.org/10.1155/2012/26247>
- Perera, M., Al-Hebshi, N. N., Perera, I., Ipe, D., Ulett, G. C., Speicher, D. J., Tsute C., Johnson, N. W. (2017). A dysbiotic mycobiome dominated by *Candida albicans* is identified within oral squamous-cell carcinomas. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1), 1385369. <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1385369>
- Pereira, D. F. A., Seneviratne, C. J., Koga-Ito, C. Y., Samaranayake, L. P. (2018). Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen? *Oral diseases*, 24(4), 518–526. <https://doi.org/10.1111/odi.12691>
- Persoon, I. F., Buijs, M. J., Özok, A. R., Crielaard, W., Krom, B. P., Zaura, E., Brandt, B. W. (2017). The mycobiome of root canal infections is correlated to the bacteriome. *Clinical oral investigations*, 21(5), 1871–1881. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1980-3>
- Persoon, I. F., Crielaard, W., Ozok, A. R. (2017). Prevalence and nature of fungi in root canal infections: A systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, 50(11), 1055–1066. <https://doi.org/10.1111/iej.12730>
- Peters, B. A., Wu, J., Hayes, R. B., Ahn, J. (2017). The oral fungal mycobiome: characteristics and relation to periodontitis in a pilot study. *BMC microbiology*, 17(1), 157. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1064-9>
- Pulcrano, G., Iula, D. V., Vollaro, A., Tucci, A., Cerullo, M., Esposito, M., Fabio, R., Catania, M. R. (2013). Rapid and reliable MALDI–TOF mass spectrometry identification of *Candida* non-albicans isolates from bloodstream infections. *Journal of microbiological methods*, 94(3), 262–266. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.07.001>
- Quiles-Melero, I., Garcia-Rodriguez, J., Gómez-López, A., Mingorance, J. (2012). Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis*. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 31(1), 67–71. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1277-z>
- Rautemaa, R., Ramage, G., (2011). Oral candidosis – Clinical Challenges of A Biofilm Disease. *Critical Reviews in Microbiology*, 37(4), 328–336, DOI:10.3109/1040841X.2011.585606
- Reichart, P. A., Samaranayake, L. P., Philipsen, H. P. (2000). Pathology and clinical correlates in oral candidiasis and its variants: a review. *Oral diseases*, 6(2), 85–91. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2000.tb00106.x>
- Samaranayake, L. (2009). Commensal oral *Candida* in Asian cohorts. *International journal of oral science*, 1(1), 2. <https://doi.org/10.4248/ijos.08006>

- Samaranayake, L. P., MacFarlane, T. W., Williamson, M. I. (1987). Comparison of Sabouraud dextrose and Pagano–Levin agar media for detection and isolation of yeasts from oral samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 25(1), 162–164.
- Samaranayake, Y. H., Samaranayake, L. P. (1994). *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. *Journal of medical microbiology*, 41(5), 295–310. <https://doi.org/10.1099/00222615-41-5-295>
- Sankari, S. L., Gayathri, K., Balachander, N., Malathi, L. (2015). *Candida* in potentially malignant oral disorders. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 7(Suppl 1), S162–S164. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.155886>
- Scannapieco, F. A. (2013). The oral microbiome: its role in health and in oral and systemic infections. *Clinical Microbiology Newsletter*, 35(20), 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2013.09.003>
- Schorling, S. R., Kortinga, H. C., Froschb, M., Mühlshlegel, F. A. (2000) The Role of *Candida dubliniensis* in Oral Candidiasis in Human Immunodeficiency Virus–Infected Individuals, *Critical Reviews in Microbiology*, 26:1, 59–68, DOI:10.1080/10408410091154183
- Sendid, B., Ducoroy, P., François, N., Lucchi, G., Spinali, S., Vagner, O., Damiens, S., Bonnin, A., Poulain, D., Dalle, F. (2013). Evaluation of MALDI–TOF mass spectrometry for the identification of medically-important yeasts in the clinical laboratories of Dijon and Lille hospitals. *Medical mycology*, 51(1), 25–32. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.693631>
- Shelburne, S. A., Ajami, N. J., Chibucos, M. C., Beird, H. C., Tarrand, J., Galloway-Peña, J., Albert, N., Chemaly, R. F., Ghantaji, S. S., Marsh, L., Pemmaraju, N., Andreeff, M., Shpall E. J., Wargo, J. A., Rezvani, K., Alousi, A., Bruno, V. M., Futreal, P. A., Petrosino, J. F., Kontoyiannis, D. P. (2015). Implementation of a pan-genomic approach to investigate holobiont–infecting microbe interaction: A case report of a leukemic patient with invasive mucormycosis. *PLoS ONE*, 10(11), e0139851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139851>
- Sztukowska, M. N., Dutton, L. C., Delaney, C., Ramsdale, M., Ramage, G., Jenkinson, H. F., Nobbs, A. H., Lamont, R. J. (2018). Community development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* mediated by inlj and als3. *MBio*, 9(2), e00202–18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00202-18>
- Tamai, R., Sugamata, M., Kiyoura, Y. (2011). *Candida albicans* enhances invasion of human gingival epithelial cells and gingival fibroblasts by *Porphyromonas gingivalis*. *Microbial pathogenesis*, 51(4), 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2011.06.009>
- Taj-Aldeen, S. J., Kolecka, A., Boesten, R., Alolaqi, A., Almaslamani, M., Chandra, P., Meis, J. F., Boekhout, T. (2014). Epidemiology of candidemia in Qatar, the Middle East: performance of MALDI–TOF MS for the identification of *Candida* species, species distribution, outcome, and susceptibility pattern. *Infection*, 42(2), 393–404. <https://doi.org/10.1007/s15010-013-0570-4>
- Tawfik, S. A., Azab, M. M., Ahmed, A. A. A., Fayyad, D. M. (2018). Illumina MiSeq sequencing for

- preliminary analysis of microbiome causing primary endodontic infections in Egypt. *International journal of microbiology*, 2018, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2018/2837328>
- Thompson, G. R. , Patel, P. K., Kirkpatrick, W. R., Westbrook, S. D., Berg, D., Erlandsen, J., Redding, S. W., Patterson, T. F. (2010). Oropharyngeal candidiasis in the era of antiretroviral therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 109(4), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.11.026>
- Urzúa, B., Hermosilla, G., Gamonal, J., Morales-Bozo, I., Canals, M., Barahona, S., Cocco, C., Cifuentes, V. (2008). Yeast diversity in the oral microbiota of subjects with periodontitis: *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* colonize the periodontal pockets. *Sabouraudia*, 46(8), 783–793. <https://doi.org/10.1080/13693780802060899>
- Vargas, K. G., Joly, S. (2002). Carriage frequency, intensity of carriage, and strains of oral yeast species vary in the progression to oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive individuals. *Journal of clinical microbiology*, 40(2), 341–350. DOI:10.1128/JCM.40.2.341-350.2002
- Wade, W. G. (2013). Characterisation of the Human Oral Microbiome. *Journal of Oral Biosciences*, 55(3), 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.job.2013.06.001>
- Ward, T. L., Knights, D., Gale, C. A. (2017). Infant fungal communities: current knowledge and research opportunities. *BMC medicine*, 15(1), 30. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0802-z>
- Wu, J., Peters, B. A., Dominianni, C., Zhang, Y., Pei, Z., Yang, L., Ma, Y., Purdue, M. P., Jacobs, E. J., Gapstur, S. M., Li, H., Alekseyenko, A. V., Hayes R. B., Ahn J., (2016). Cigarette Smoking and The Oral Microbiome in A Large Study of American Adults. *The ISME journal*, 10(10), 2435–2446.
- Yaman, G., Akyar, I., Can, S. (2012). Evaluation of the MALDI–TOF MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 73(1), 65–67. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.01.013>
- Zakaria, M. N., Furuta, M., Takeshita, T., Shibata, Y., Sundari, R., Eshima, N., Ninomiya, T., Yamashita, Y. (2017). Oral mycobiome in community-dwelling elderly and its relation to oral and general health conditions. *Oral diseases*, 23(7), 973–982. <https://doi.org/10.1111/odi.12682>
- Zarei Mahmoudabadi, A., Drucker, B., Mandall, N., O'Brien, K., Theaker, E. (2000). Isolation and identification of *Candida* species from the oral cavity using CHROMagar Candida. *Iranian Biomedical Journal*, 4(2), 57–61.
- Zipperer, A., Konnerth, M. C., Laux, C., Berscheid, A., Janek, D., Weidenmaier, C., Burian, M., Schilling, N. A., Slavetinsky, C., Marschal, M., Willmann, M., Kalbacher, H., Schitteck, B., Börtz-Oesterhelt, H., Grond, S., Peschel, A., Krismer, B. (2016). Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*, 535(7613), 511–516.



EKLER

EK 1. Anket Örneği

Veri numarası:

Bölüm:

Tarih:

1) Cinsiyet:

2) Yaş:

3) Medeni durum:

4) Dişlerinizi fırçalama sıklığınız nedir?

- A) günde bir
- B) günde iki
- C) her yemekten sonra
- D) hiç

5) Diş hekime gitme sıklığınız nedir?

- A) ayda bir
- B) üç ayda bir
- C) yılda bir
- D) diş ile ilgili sıkıntısı olmadan asla

6) Diş ipi kullanır mısınız?

- A) Hayır
- B) Evet

7) Ağız çalkalama suyu (gargara) kullanır mısınız?

- A) Hayır
- B) Evet

8) Halen dişleri ile ilgili sağlık problemi var mı?

- A) Hayır
- B) Evet

9) Dişlerinizde dolgu mevcut mu?

- A) Hayır
- B) Evet

10) Dişlerinde protez var mı?

- A) Hayır
- B) Evet

11) Ne sıklıkla sakız çiğnersiniz?

- A) günde bir
- B) günde iki
- C) aklıma geldikçe
- D) hiç

12) Diş fırçanızı ne sıklıkla değiştirirsiniz?

- A) ayda bir
- B) üç ayda bir
- C) altı ayda bir
- D) aklıma geldikçe

13) Dişlerinizi fırçaladığımızda diş etlerinizde kanama oluyor mu?

- A) Hayır
- B) Evet

14) Yirmilik dişlerinizi çektirdiniz mi?

- A) Hayır
- B) Evet

15) Diş taşı temizliği yaptırır mısınız?

- A) Hayır
- B) Evet

16) Kullandığımız diş macununun içerğine dikkat ediyor musunuz?

- A) Hayır
- B) Evet

17) Daha önce hiç diş teli kullandınız mı?

- A) Hayır
- B) Evet

18) En son ne zaman antibiyotik kullandınız?

- A) son bir ay içinde
- B) son üç ay içinde
- C) son altı ay içinde
- D) bir yıldan uzun süre önce

19) Alkol ne sıklıkla kullanıyorsunuz?

- A) her gün
- B) hafta bir
- C) ayda bir
- D) hiç

20) Kola ya da asitli içecekler kullanıyorsunuz?

- A) Hayır
- B) Evet

İmza

Ek 2. Etik Kurul İzni



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 18920478-050.01.04-E.1800031135
Konu : Başvuru İncelemesi

27/02/2018

Sayın Prof. Dr. Müşerref OTKUN

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Ağızda Maya Yükünün Belirlenmesi ve İzole Edilen Candida Cinsi Mayaların Tanımlanması" başlıklı 2011-KAEK-27/2018-E.1800020086 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 21.02.2018 tarih ve 04-07 nolu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

Karar Tarihi: 21.02.2018
Karar No : 2018-04

Karar07)2011-KAEK-27/2018-E.1800020086 no'lu araştırma Etik Kurul üyeleri tarafından değerlendirilmiştir; Proje araştırmacılarından Dr. Gülçin ÖZCAN ATEŞ'in sunumunun dinlenmesinin ve raportörün hazırladığı değerlendirilmenin okunması sonrasında yapılan oylamada "**ETİK KURUL ONAYINI ALIR.**" kararı verilmiştir. Kurum izni Etik Kurul Başkanlığına teslim edildiğinde çalışmaya başlanabilir. (Prof. Dr. Müşerref OTKUN projede yer aldığından dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamıştır.)

e-İmzalıdır

Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU
Kurul Başkanı

Belge Doğrulamak İçin: <https://ubys.comu.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index> adresinden TAM73AP kodu girerek belgeyi doğrulayabilirsiniz.

Adres : 18 Mart Üniversitesi Terzioğlu Yerleşkesi
Çanakkale

Bilgi İçin İrtibat : Faize Oturan - Sekreter

Telefon :

Belgegeçer No :

İnternet Adresi :

e-posta :



1800031135 numaralı belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince Hakkı Engin Aksulu tarafından 27.02.2018 tarihinde güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek 3. Kurum İzni



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
Çanakkale Sağlık Yüksekokulu Müdürlüğü

Sayı : 78179085-044-E.1800054305
Konu : Çalışma Yapma

11/04/2018

Sayın Prof. Dr. Müşerref OTKUN

İlgi : Dr. Gülçin Özcan Ateşin 09.04.2018 tarihli ve 1800053454 sayılı yazısı.

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "*Ağızda Maya Yükünün Belirlenmesi ve İzole Edilen Candida Cinsi Mayaların Tanımlanması*" başlıklı çalışmayı yapma talebi Müdürlüğümüzce uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-İmza

Prof. Dr. Gülbu TANRIVERDİ
Yüksekokul Müdürü

[Belge Doğrulamak İçin: https://ubys.com.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index](https://ubys.com.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index) adresinden EFPFA9 kodu girerek belgeyi doğrulayabilirsiniz.

Adres : Terzioğlu Kampüsü Çanakkale Sağlık
Yüksekokulu

Bilgi İçin İletişim : Sadi İpek - Bilgisayar İşletmeni

Telefon :

Belgeçizme No :

İnternet Adresi :

e-posta :



1800054305 numaralı belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince Gülbu Tanrıverdi tarafından 11.04.2018 tarihinde güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

1/1

ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı: Gülçin ÖZCAN ATEŞ



İletişim Bilgileri

Adres: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Çanakkale.

Mail: gulcinozcan@comu.edu.tr, gulcinozcan87@gmail.com

2. Doğum Tarihi: 14.05.1987

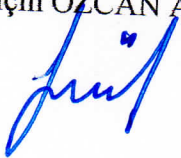
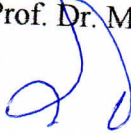
3. Unvanı: Dr

4. Öğrenim Durumu: Doktora Mezunu

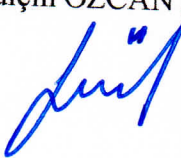
Derece	Alan	Üniversite	Yıl (Not)
Lisans	Biyoloji	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2006-2010 (3,36/4,00)
Yüksek Lisans	Gıda Mühendisliği	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2010-2013 (4,00/4,00)
Yüksek Lisans	Tıbbi Mikrobiyoloji	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2016-2019 (3,03/4,00)
Doktora	Biyoloji	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2013-2017 (4,00/4,00)

Ek 4. Spiralli Tez Kontrol Formu

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	X	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	X	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	X	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	X	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	X	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	X	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	X	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	X	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	X	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	X	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlenin en sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	X	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	X	

Tarih: 16/01/2020 Gülçin ÖZCAN ATEŞ 	Tarih: 16/01/2020 Prof. Dr. Müşerref OTKUN 
---	--

Ek 5. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Spiralli/Ciltli Tez Yazım Kontrol Listesi

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kapak sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Onay sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Teşekkür sayfası	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Türkçe özet	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İngilizce özet	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Şekiller dizini	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tablolar dizini	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Yöntem ve Gereç	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Bulgular	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tartışma	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sonuç ve Öneriler	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tez planı	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tarih: 16/01/2020 Gülçin ÖZCAN ATEŞ 	Tarih: 16/01/2020 Prof. Dr. Müşerrefi OTKUN 