



**ÇOCUKLARDA TÜKÜRÜKTEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA ALBICANS*
VE *CANDIDA NON ALBICANS* PREVELANSININ ÇÜRÜK DÜZEYİ İLE
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tuğçe TALAY

**DOKTORA TEZİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2021

ÇOCUKLARDA TÜKÜRÜKTEN İZOLE EDİLEN *CANDIDA ALBICANS* VE *CANDIDA NON ALBICANS* PREVELANSININ ÇÜRÜK DÜZEYİ İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Tuğçe TALAY

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2021

ÖZET

Bu çalışmada, 6-11 yaş grubundaki çocuklarda tükürükte bulunan *Candida Albicans* ve *Candida Non Albicans* türlerinin tiplendirilmesi ve bunların çürük ile ilişkisi ve prevalansı değerlendirilmiştir. Yaşları 6-11 arasında olan toplam 92 çocuk hasta ICDAS II kriterlerine göre çürüklü ve çürüksüz olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Belirlenen hastalardan sabah 10:00-12:00 saatleri arasında iki saat açlık durumunda iken Pasteur pipetle 2ml tükürük örnekleri toplandı. Toplanan tükürük örnekleri DNA sekans analizi metodu için hazırlanarak her iki gruptan da elde edilen mantar örnekleri tiplendirildi. Sonuç olarak *Candida Albicans*, çürük lezyonlu çocukların tükürüğünden en sık izole edilen *Candida* türü olduğu ve bu türlerin klinik izolatlarının genetik değişkenliğini analiz etmek ve bu mantarın olası genotip ilişkilerini değerlendirmenin önemli olduğu bulgulandı.

Bilim Kodu : 1047
Anahtar Kelimeler : *Candida* türleri, çürük, tükürük, çocuk
Sayfa Adedi : 103
Danışman : Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CANDIDA SPECIES FROM SALIVARY
AND TO EVALUATE RELATION BETWEEN PREVELANS OF CANDIDA SPECIES
AND CARIES STATUS IN CHILDREN

(Ph.D. Thesis)

Tuğçe TALAY

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
March 2021

ABSTRACT

In this study, the typing of *Candida Albicans* and *Candida Non Albicans* species found in saliva in children between the ages of 6 and 11 and their relation to caries and their prevalence were evaluated, divided into the group. 2ml saliva samples were collected with a Pasteur pipette from the identified patients when they were fasting for two hours between 10:00 and 12:00 in the morning. The collected saliva samples were prepared for the DNA sequence analysis method and the fungus samples obtained from both groups were typed. As a result, it was found that *Candida Albicans* is the most common Candida species isolated from the saliva of children with carious lesions and it is important to analyze the genetic variability of the clinical isolates of these species and to evaluate the possible genotype associations of this fungus.

Science Code : 1047
Key Words : Candida species, caries, saliva, child
Page Number : 103
Supervisor : Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım günden itibaren üzerimden emeğini esirgemeyen, her durumda desteğini hep hissettiğim, benim için abim diyebileceğim, bilgisi, birikimi ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan ve birlikte çalıştığım için kendimi her daim şanslı saydığım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ'a,

İçtenliğiyle ve sahiplenışıyle bana her zaman kendimi bu kürsüde değerli hissettiren, kişisel ve mesleki gelişimime katkılarından dolayı Prof. Dr. Neşe Akal'a,

En güzel gezi, yemek rotaları ve keyifli akademik sohbetlerimizle beni aydınlatan, benden güler yüzünü hiç esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Haluk Bodur'a,

Doktora eğitimim boyunca bilgilerini benimle paylaşan, yardımlarıyla her zaman yanımda olan başta Prof. Dr. Alev Alaçam olmak üzere, Prof. Dr. Nurhan Öztaş Kırmızı, Prof. Dr. Ayşegül Ölmez, Doç. Dr. Çağdaş Çınar, Doç. Dr. Didem Atabek ve Doç. Dr. Mehmet Bani' ye,

Doktora eğitiminine başladığım ilk günden itibaren bu yolu omuz omuza yürüttüğüm, her daim yanımda olacağını bildiğim, hayatımdaki en değerli insanlardan biri olan hem dostum ekürim Nihan Cevlek'e,

İyi ve kötü günlerimde her zaman yanımda olup bana yalnız olmadığımı hissettiren çok kıymetli canlarım Şeyma Edikli, Aycan Dal, Arzu Şükran İncioğlu, Nagehan Aktaş, Derya Kotan, Yasemin Akdemir, Kiyun Yoon, ekürim Erdem Palaz, Merve Uslu, İdil Kızılırmak ve diğer beraber çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma,

Tanıştığım andan itibaren hayatımı güzellik ile sevgi ile dolduran, her zaman beni destekleyen, karamsar zamanlarımda yerini umutla dolduran, hayattaki şansım eşim Baran Talay'a ve tez çalışmasının gerek laboratuvar aşamalarında gerek yazım aşamasında hep benimle birlikte bunları deneyimleyen ve uslu durup bana destek olan yüzümü güldüren yaşama sevincim canım oğlum Arhan'a

Dokunuşlarıyla hayatımı değiştiren, her zaman sevgisiyle desteğiyle beni kucaklayan her koşulda yanımda olan can dostum Hande İmamoğlu Er'e,

Varlıklarına her gün şükrettiğim, beni bu günlere getiren, sevgi, güven ve destekleriyle kendimi güçlü hissetmemi sağlayan, her zaman yanımda olan hem canım kardeşim Selin Öksüz, canım annem Zeliha Öksüz, babam Ahmet ÖKSÜZ'e;

Sonsuz teşekkürlerimle.

Bu tez çalışması ID 5833 ve 03/2019-01 kodlu Gazi üniversitesi bilimsel araştırma projesi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa.
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Genel Mikrobiyoloji.....	3
2.1.1. Oral mikroflora.....	5
2.2. Mantarların Genel Özellikleri	6
2.3. Candida	9
2.3.1. Candida'nın kültürü ve biyokimyasal özellikleri	12
2.3.2. Candida türünün patogeneze ve virulans faktörleri	14
2.4. Diş Çürüğü Oluşumundaki Etken Faktörler.....	19
2.4.1. Çürük oluşumunda bireye ait faktörler	22
2.4.2. Oral mikroorganizmalar	27
2.4.3. Çürük oluşumu ile ilgili çevresel faktörler	32
2.5. Çürük Derecelerinin Sınıflandırması	32
2.5.1. International caries detection and assessment system' in gelişimi	34
2.5.2. ICDAS II kriterleri	35
2.6. Çürük Candida İlişkisi.....	37

Sayfa.

3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Etik Kurul Onayı.....	41
3.2. Çalışma İçin Gerekli Hasta Sayılarının Belirlenmesi	41
3.3. Örneklerin Klinikte Toplanması	41
3.4. Mikrobiyolojik İşlemler	42
3.5. Moleküler Çalışmalar.....	43
3.5.1. Mantardan DNA izolasyonu	43
3.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) İle çoğaltma aşaması	45
3.5.3. PZR ürünlerini %1,5'luk Agaroz Jelde yürütülmesi ve görüntülenmesi ..	46
3.5.4. Saflaştırma işlemi.....	47
3.5.5. Saflaştırılmış PZR ürünlerinin kontrolü.....	47
3.5.6. DNA dizi analizi için Sekans reaksiyonu.....	48
3.5.7. Cycle sequencing ürünlerinin temizlenmesi (Sephadex G50-Fine).....	48
3.6. İstatistiksel Yöntem.....	50
4. BULGULAR	51
4.1. Demografik Verilere Göre Bulgular	51
4.2. Candida Türlerine Göre Bulgular.....	53
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ	73
KAYNAKLAR	75
EKLER	93
Ek-1. Etik Kurul Onayı.....	94
Ek-2. Hasta Onam Formu	98
ÖZGEÇMİŞ	102

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. ICDAS II kriterleri	36
Çizelge 2.2. ICDAS II nin restorasyonlu dişler için önerilen kodlama yöntemi.....	37
Çizelge 2.3. ICDAS II ‘de koronal çürükler için ikinci kodlama.....	37
Çizelge 2.4. ICDAS II ‘ de kök çürüğü sınıflaması	37
Çizelge 4.1. Gruplara ve alt gruplara göre hastaların yaşlarının karşılaştırılması.....	52
Çizelge 4.2. Tüm grupların cinsiyete göre dağılımı	52
Çizelge 4.3. Çürüksüz ve çürüklü gruplara göre sonuçların dağılımı	53
Çizelge 4.4. Grup 1 (çürüksüz) ve Grup 2a (orta derecede çürüklü) sonuçlarının Candida türlerine göre dağılımı.....	53
Çizelge 4.5. Grup 1 (çürüksüz) ve Grup 2b (şiddetli derecede çürüklü) sonuçlarının Candida türlerine göre dağılımı.....	54
Çizelge 4.6. Grup 2a (orta derecede çürüksüz) ve Grup 2b (şiddetli derecede çürüklü) sonuçlarının Candida türlerine göre dağılımı	54
Çizelge 4.7. Cinsiyete bağlı olarak çürüksüz ve çürüklü gruplarına göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı	55
Çizelge 4.8. Cinsiyete bağlı olarak çürüksüz (Grup 1) ve orta derecede çürüklü gruplarına (Grup 2a) göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı	55
Çizelge 4.9. Cinsiyete bağlı olarak çürüksüz (Grup 1) ve yüksek derecede çürüklü gruplarına (Grup 2b) göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı	56
Çizelge 4.10. Cinsiyete bağlı olarak çürüksüz (Grup 1) ve yüksek derecede çürüklü gruplarına (Grup 2b) göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı	56
Çizelge 4.11. Yaşa bağlı olarak çürüksüz ve çürüklü gruplarına göre sonuçların dağılımı.....	57

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Mantar hücresi	8
Şekil 2.2. Çürük gelişimini etkileyen faktörler	22



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2. 1. Candida Albicans (A)-Candida Dubliniensis (B)-Candida Glabrata (C)-Candida Tropicalis (D) besi yeri görünümü	13
Resim 2.2. ICDAS II sınıflamasının görseli	36
Resim 3.1. Sabaroud dekstroz agarda üreyen mantar görüntüsü	43
Resim 3.2. Mantarın mikroskop görüntüsü.....	43
Resim 3.3. Thermal cyclers cihazı	46
Resim 3.4. Jel elektroforez cihazı	48
Resim 3.5. 3500 sequencing cihazı.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler Açıklamalar

α	Alfa
β	Beta
>	Büyüktür İşareti
=	Eşittir
<	Küçüktür İşareti
μ	Mikron
μ l	Mikrolitre
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde İşareti
μ mol	Mikromol

Kısaltmalar Açıklamalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
bç	Baz Çifti
cm	Santimetre
dk	Dakika
DMF İndeksi	Çürük, Kayıp, Dolgulu Diş İndeksi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNAaz	Deoksiribonükleaz
ECC	Erken Çocukluk Çürüğü
ER	Endoplazmik Retikulum
g	Gram
gtf	Glikoziltransferaz
Ig	İmmunoglobulin
ICDAS	Uluslararası Çürük Teşhis ve Değerlendirme Sistemi
K	Potasyum
KCl	Potasyum Klorid
KH_2PO_4	Mono-Potasyum Fosfat
mg	Miligram

Kısaltmalar	Açıklamalar
mM	Milimolar
ml	Mililitre
M.Ö.	Milattan Önce
mPa.s	Milipaskal-saniye
NaCl	Sodyum Klorid
Na₂HPO₄	Di-Sodyum Fosfat
n	Örneklem Sayısı (istatistik)
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pH	Hidrojenin Gücü (Power of Hydrogen)
pmol	Pikomol
RNA	Ribonükleik Asit
RPM	Round Per Minute
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SDA	Sabourraud Dekstroz Agar
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
V	Volt
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Diş çürüğü çocukların genel sağlığını etkileyen küresel bir halk sağlığı sorunudur. Erken yaşta iyi ağız sağlığına sahip olmak, çocukların gelişimi ve genel sağlığı için çok önemlidir [1]. Daimi dişlerin çürük risk durumunun, süt dişlenme dönemindeki ağız hijyeni durumuyla yakından ilişkili olduğunu ve yaşamın ilk yıllarında çürükler için risk faktörlerinin anlaşılmasının önemini gösteren yeterli sayıda çalışma bulunmaktadır [2]. Diş çürüğü nedenleri; gelişimsel diş kusurları, *Mutans Streptokok* enfeksiyonu, Laktobasil sayısı, tükürük tampon kapasitesi ve akış hızı, şeker alım sıklığı ve geçmişte çürük lezyonu hikayesi olarak bilinmektedir [3]. Streptokok türleri dışında, yeni kanıtlar çürük lezyonu ile ilişkili mikrobiyotada fungal türlerin de bulunduğunu göstermektedir. Bazı klinik çalışmalarda *Candida Albicans*'ın (*C. Albicans*) çürük lezyonu bulunan çocukların tükürük örneklerinde yüksek oranda tespit edildiği ve çürük risk şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [4,5].

Biyofilmleri oluşturan yüzlerce farklı mikroorganizma türü insan ağız boşluğunda bulunmaktadır. Biyofilm içindeki türler, kommün veya daha farklı etkileşimlerde yaşamaktadırlar. Oral florada bakterilere ek olarak, *Candida* (C.) türleri de sağlıklı insanların oral florasında kommün yaşayan mikroorganizmalar olarak bulunmaktadır. Sağlıklı insan popülasyonunda % 50'lik bir *Candida* taşıyıcılık oranı gözlemlenmektedir [6]. Oral floranın normal koşulları değiştiğinde, kommün yaşayan *Candida* türleri, ağız hastalıkları ile ilişkili diğer mikroorganizmalara benzer olarak fırsatçı patojene dönüşmektedirler. Son yıllarda çocuklardaki *Candida* türleri çürük lezyonlarıyla ilişkilendirilmiştir [7]. Çürük lezyonlu çocuklar ile çürüksüz çocukların karşılaştırılması için toplanan tükürük ve supragingival plak örneklerinde çürük lezyonlu çocuklarda yüksek oranda patojen *Candida* türleri izole edilmiştir. Fakat günümüzde çürük lezyonun başlangıç ve ilerlemesinde ki rolü tam olarak bilinmemektedir [8].

Bugüne kadar oral flora daki *Candida* türleri periodontal hastalıklar ya da oral stomatit gibi oral hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Çocuklarda çürük lezyonları ile *Candida* türleri arasındaki ilişki araştırmacılar tarafından dikkate alınmamıştır [9].

Candida'nın çürük gelişiminde ki patojen etkileri;

- Diş yüzeylerine adezyonu için proteinleri indirgemesi ve oral mukozada kolonize olmak için ekstraselüler matriks sentezi yapması
- Karbonhidratları fermente ederek asit oluşturmaları
- Ekstraselüler enzimler üretmesi şeklinde olmaktadır [10].

Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı Candida'nın çürük lezyonu üzerindeki etkisinin bilinmesi oldukça önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında; 6- 11 yaş grubunda karışık dişlenme dönemindeki çocukların tükürük örneklerinde bulunan *Candida Albicans* ve diğer Non-*Candida* türlerinin tanımlanması ve bunların çürük ile ilişkisini ve prevalansı değerlendirilmiştir. Elde edilen bu sonuçlarla, şuan bilinenin aksine çürük lezyonu oluşumunda sadece oral biyofilmde bulunan bakterilerin rol almadığını aynı zamanda yine sağlıklı bireylerin oral biyofilminde bulunan Candida türlerinin rol oynadığının belirlenmesine katkıda bulunması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Genel Mikrobiyoloji

İnsan vücudunda milyonlarca mikroorganizma yaşamaktadır. Bu mikroorganizmalar sanılan aksine her zaman hastalık yapıcı (patojen) olmamakta, genel insan sağlığının sürdürülmesinde gerekli roller üstlenen yararlı mikroorganizmalar da bulunmaktadır. Vücudumuzdaki organlar ve dokular arasında veya mukozal yüzeylerde yaşayabilen, bulunduğu bölgedeki dokularla yakın ilişkide olabilen bu mikroorganizma topluluğuna vücudun normal florası denmektedir. Normal flora üyesi olarak görülen mikroorganizmalar, vücutta birçok alanda bulunabildiği için bulunduğu bölge belirtilerek söylenmektedir [11].

Konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve günümüzde gelişen tanımlayıcı moleküler teknikler sayesinde, ağız içinde birbirlerine % 70 yakınlıkta olan ve farklı ailesel kökenlerden gelen 700'den fazla bakteri türü bulunduğu bilinmektedir [12].

Floranın bu kadar karışık olması, çoğunun in-vitro kültürlerinin yapılamaması veya tek başlarına izole edilmelerinin zor olması nedeniyle konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ile tür düzeyinde tanımlamalarının yapılması zor olmaktadır [13].

Oral mikrobiota ya da bir diğer adıyla oral mikrobiyom, evrimi sırasında insan konağı ile simbiyotik bir ilişki içerisinde gelişmiştir. Bu mikroorganizma topluluğu, gelişim ve yaşlanma boyunca insan konağına uyum sağlama konusunda olağanüstü bir yeteneğe sahiptir. Kurucu mikroorganizmaların özel mikro-çevresel ortamda büyümeleri, işlevleri ve genel adaptasyonları;

- Besin maddelerinin mevcudiyeti
- Fizikokimyasal koşullar
- Hormonal seviyeler
- Bağışıklık durumu
- Yaş gibi konakçı ile ilgili faktörlere bağlıdır [14].

Floradaki bakterilerin çoğu patojen olmayıp vücuda faydalıdır. Bunlar aynı zamanda patojen türlerin yerleşmesini engellemeye ve bağışıklık sistemimizi daima aktif tutmaya yardımcı olmaktadır.

Kalıcı flora: Belirli bir bölgede devamlı olarak yüksek sayıda bulunan bakteri türlerini belirtmek için kullanılmaktadır. Supragingival plak kalıcı floraya örnek olarak verilebilir.

Ek flora: Devamlı olarak bulunan fakat düşük sayılarda olan floradır. Bu bakteriler çevresel şartlar değiştiğinde kalıcı, yerleşik floraya da dönüşebilmektedir.

Geçici flora: Belirli bir zamanda florada bulunabilen bakterilerden oluşmaktadır. Laktobasillerin normal florada az sayıda iken plak altında oluşan çürük sonucu ortam pH'ı asidik olduğunda sayıları artması geçici floraya örnek olarak gösterilebilir. Sürekli bulunamazlar çünkü gerekli mekanizmaları bulunmamaktadır. Yaşayabilecekleri uygun ortam olduğunda sayıları artmakta ve patojenik duruma gelmektedir.

Mikro flora: Organ ve dokularda daha bölgesel bir alanda yaşayan mikroorganizmaları tarif etmekte kullanılmaktadır. Mikrofloradaki bakteriler kökenlerini ait oldukları asıl kalıcı ağız floarasından almaktadır [15].

Ağız ekolojisindeki mikrofloralar ağız florasından kaynaklanmakta ve bu floradaki bakterilerin çeşitli kombinasyonlarından oluşmaktadır. Ağız boşluğu flora açısından en kompleks mikroroganizma topluluğunun bulunduğu bölgedir [11].

Ağız florası bakterileri, hem birbirleriyle hem de konak ile etkileşim içindedirler ve oldukça hassas bir denge oluşturmuşlardır. Bu dengenin bozulması ve sayıca artmaları veya azalmaları halinde flora üyeleri arasında bir hiyerarşi oluşturmaktadır. Bu durum istenmeyen patolojik değişikliklere yol açabilmektedir [16].

İnsanlığın tarihi boyunca doğanın dengesini sağlayan, insanın ihtiyaç duyduğu ve korunup savaştığı mikroorganizmalar, doğadaki en küçük canlı grubudur. Mikroorganizmalar insanoğlunda bulunan daimi elemanlardır ve bakteri, virüs, parazit ve mantarlar olmak üzere 4 ana gruba ayrılırlar [17].

2.1.1. Oral mikroflora

Ağız boşluğu flora açısından en kompleks ve heterojen mikroorganizmaların bulunduğu bölgedir. Normalde fetüsün ağızında bakteri bulunmamaktadır. Doğumda bebeğin doğum kanalından çıkışı sırasında annenin vajinal florasında yer alan bakteriler yeni doğanın ağız florasını oluşturmaktadır [11].

Oral mikrobiyomun yapısı bebeklik döneminde basittir ve yaşam boyunca yeni türlerin kazanılmasıyla giderek daha karmaşık hale gelmektedir [18]. Oral mikrobiyomun oluşması dişlenme öncesinde başlamaktadır ve ardından süt dişlerinin çıkmasıyla ikinci bir oluşumun gerçekleştiği görülmektedir. Bu süreç maternal mikrobiyomdan etkilenir ve bireyler arasında oldukça kişisel olmaktadır [19].

Oral florayı etkileyen faktörler:

1. Ağızdaki oksijen basıncı
2. Anaerobiyozis ve oksidasyon redüksiyon potansiyeli
3. Anatomik yapı
4. Yaş dönemleri
5. Hormonal durum
6. Ağız hijyeni
7. Tükürük
8. Gingival cep sıvısı
9. Dökülen epitel hücreleri
10. Bakteriler
11. Ağız içinde kullanılan protetik ve ortodontik apareyler
12. Sistemik ve otoimmün bir hastalık varlığı
13. Sigara kullanımı ve bazı kötü alışkanlıklar
14. Beslenme alışkanlıklarıdır [11].

Miller , üç yüz yıldan daha uzun bir süre önce kendi diş plağını mikroskopla gözlemlemesi sonucunda, insan ağız boşluğunda benzeri görülmemiş bir mikroorganizma çeşitliliği olduğunu savunmuştur. İnsan ağızı mikroorganizmalarının seminal hesabına göre, ağızda elde edilen çok sayıda bakteri morfotipinin sınıflandırılmasını imkansız hale getirebileceğini

öne sürmektedir. [20] Bakteri, arkea, virüs, faj ve çeşitli mikro-ökaryotları içeren bu geniş mikrobiyal çeşitlilik, klinisyenler ve mikrobiyal ekolojistler tarafından ağız sağlığı ve hastalıkların önemli etkenlerinin bulunmasını zorlaştırmaktadır. Ayrıca, geniş bir literatür topluluğu, sağlık ve hastalıkta oral mikrobiyomun gözden geçirilmesine ve araştırılmasına odaklanmıştır. Bununla birlikte, çalışmalar ve kohortlar arasında tutarlı bakteriyel belirteçler bulmak çok karmaşık bir işlemdir ve bu bulguların ağızdan elde edilmesi ve hatta sistemik sağlığın etkili tedavisine çevrilmesi önemli bir zorluktur [20].

2.2. Mantarların Genel Özellikleri

Mantarların, tek veya çok hücreli, dallanan iplikli yapılara da farklılaşabilen, doğada ve insan vücudunda yaygın olarak bulunan, serbest yaşayan, ökaryotik yapıda bir mikroorganizma türü olduğu bilinmektedir [21].

İki yüz binden fazla mantar türü olmasına rağmen, bunların sadece % 0,1'inden azı insan hastalıkları ile ilişkilendirilebilmiştir ve bu alandaki ilk kayıt Hindu Kutsal Yazıtları'ndadır (M.Ö. 2000-1000) [22].

Mantarlar genel özelliklerine ve oluşturdıkları hastalık tiplerine göre çeşitli gruplarda incelenebilen, geniş bir hastalık çeşitliliğine sahip mikroorganizmalardır. Mantar türlerinden *Candida*, 500'den fazla türü içermektedir. İnsanlardan alınan örneklerden yaklaşık 20 tür keşfedilmiştir. Genellikle kommensal ilişkide olarak mikro floranın bir parçası sayılmaktadır, ancak immün sistemde sorun olduğunda konakçılarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilmektedir [23].

Üreme özellikleri ve morfolojilerine dayanarak mantarlar; maya ve küf olmak üzere iki grupta incelenir. Bazı mantarların hem küf hem de maya şekilleri bulunmaktadır [17].

Mantarlar yaşam döngülerinde organik maddeleri çözerek yaşamlarını sürdürmektedirler. Konakla ilişkili yaşam biçimleri ise;

- Saprofit (Çürükçül) : Saprofitler ölü veya çürümekte olan organik madde üzerinde yaşamaktadır.

- Simbiyont (Ortak yaşam) : Simbiyonlarda her iki taraf için de fayda sağlayan bu ilişkide organizma ve konak birlikte yaşamaktadır.
- Kommensal (Ortakçı): Kommensallerde yakın ilişkideki konak ile mantardan, mantar yarar sağlarken konak yarar veya zarar görmemektedir.
- Paraziter: Parazitlerin konakla olan beraber yaşamlarında, parazitler bu birliktelikten yarar sağlamakta, konak ise genellikle zarar görmektedir.

olarak sınıflandırılmaktadır [21].

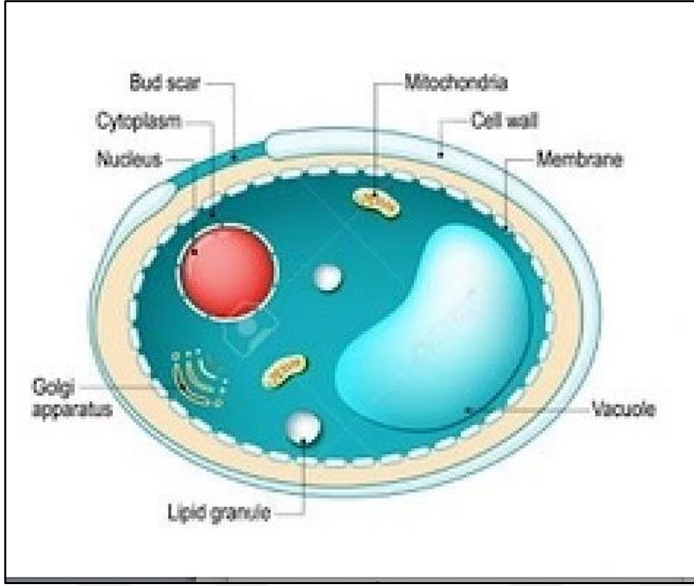
Mikrobiyolojide küf ve maya formlarında incelenen, ökaryotik hücre tipinde olan mantarların tek ve çok hücreli formları bulunmaktadır. Mayaların (3-10µm) bakterilerden, küflerin ise mayalardan daha büyük boyutta oldukları bilinmekle beraber, küflerin morfolojilerinden dolayı tam boyutları ölçülememektedir [24].

Tıbbi mikrobiyolojide nitelendirilen mantarların büyük çoğunluğu doğada maya ya da küf şeklinde bulunmaktadır. Bazı mantarların çevresel şartlara göre hem küf hem de maya şeklinde doğada bulunabilme özelliği vardır ve bu özellik dimorfizm (çift biçimlilik) olarak adlandırılmaktadır. Bu özelliğe sahip en bilinen tür ise *Candida Albicans* 'tır [25].

Dimorfik mantarlar, organizmada (37°C-insan vücut sıcaklığı) yani parazit yaşam biçiminde maya formundayken, doğada (25°C oda sıcaklığı) yani saprofit yaşam biçiminde küf halde bulunmaktadır.

Mantar hücrelerinin çekirdekleri zarla çevrilidir ve birden fazla kromozom ve çekirdekçik içerirken, sitoplazmaları 80S ribozom, golgi aygıtı, endoplazmik retikulum ve mitokondri organellerini içermekte, hücre zarı ise sterol içermektedir (Şekil 2.1).

Mantar hücre yapısında kloroplast veya klorofil yer almamaktadır. Bakteri hücre duvarı peptidoglikandan oluşurken mantarların hücre duvarı (mannan, kitoz, kitin ve glukandan zengin) kitinden (N-asetilglükozaminin homopolimerinden oluşur) oluşmaktadır. Bu yapıdan dolayı peptidoglikan sentezini inhibe eden antibiyotikler mantarlar üzerinde etkisizdir [24,26].



Şekil 2.1. Mantar hücresi [27].

Beslenme şekillerine göre sınıflandırıldığında heterotrof gruba dahil olan mantarlar, solunum şekillerine göre aerob veya fakültatif anaerob özelliktedir. Bununla birlikte mantarlarda ototrof beslenme ve anaerob solunuma rastlanmamaktadır [28].

Mantarlarda üreme, çevre şartlarına ve mantar türüne göre değişen eşeyli, eşeysiz sporla (haploid hücreler) gibi farklı şekillerde gerçekleşebilmektedir. Küfler art arda dizilerek hif (hifa) adı verilen hücre iplikçiklerini (uzantılarını) oluştururlar. Bu hiflerin dallanma ve budaklanma yaparak bir araya gelerek oluşturduğu karmaşık hif toplulukları miçel (misel / miselyum) olarak adlandırılır. Hiflerinde enine bölmeler bulunanlara septalı, bulunmayanlarına ise septasız (düz) hifler olarak adlandırılır ve septasız hif hücreleri çok çekirdeklidir. Mayaların çok azı bölünme, genel olarak tomurcuklanma, sporla ve eşeyli çoğalmaktadır [28,29].

Mantarların üremesinde görev alan, rengi, biçimi ve düzenlenişi farklılık gösteren “konidia” adı verilen aseksüel sporlar tıbbi açıdan önemi olan çoğu mantarın tanımlanmasında kullanılmaktadır. Örneğin *Candida Albicans*’ın tanımlanmasında tomurcuklanmayla oluşan blastosporlar ile kalın duvarlı, yuvarlak ve oldukça dirençli olan konidiasporlar dikkate alınmaktadır [26].

Mantarların en verimli üreme ortamları nemli ortamdır. Kuru ortama uyum sağlamak için patojen mantarlar spor formlarını oluşturmaktadır. Mantarların spor formları ortam

şartlarına dirençlidir. Spor formunda yaşamlarını çok uzun süre sürdürebilmektedirler. Mantarların çoğu düşük sıcaklıklara dirençli olsalar ve fizyolojik fonksiyonlarını 0°C'ye kadar devam ettirebilseler de uygun üreme sıcaklıklarına göre mantarlar;

- Psikrofilik (0 – 20°C)
- Mezofilik (20 – 45°C)
- Termofilik (45 – 60°C)

olarak üç gruba ayrılmıştır. Mantarların üreyebilmesi için gerekli optimum ortam pH'ı 6 ila 6,5 aralığındadır [28].

Bütün mantarların bir karbon kaynağına ihtiyacı vardır ve bu yüzden çoğunlukla çürüyen ya da çürümekte olan yapılar üzerinde bulunurlar. Dolayısıyla çoğu mantar türünün doğal yaşam alanı dış ortamdır. İnsanların normal florasında var olan mantar türlerinden *Candida Albicans* ise bu durumun istisnasıdır [26].

Mantarların sebep olduğu enfeksiyona “mikoz” adı verilmektedir ve mantarlar genel özelliklerine ve sebep oldukları enfeksiyon tiplerine göre farklı başlıklar altında ele alınabilmektedir [17]. Mantarlardan *Candida*, vücudun pek çok farklı yerinde görülen mantar türleri arasında en sık rastlanılan türdür ve sıklıkla oral florada gözlenmektedir [30].

2.3. Candida

Candida, alt türüne ve çevre koşullarına göre gerçek veya yalancı (pseudo) hif oluşturarak tomurcuklanma ile üreyen, büyüklüğü 5µ olan, oval veya yuvarlak formdaki mantar türüdür [31]. İlk olarak M.Ö. 4. Yüzyılda Hippocrates ve Galen ağızda oluşan pamuk lezyonunu bir oral lezyon olarak tanımlamıştır [32].

1839'da tifo sebebiyle ölen hastanın özofagus mukozasından elde ettiği organizmayı bir tifoya sebep olan bir parazit olarak düşünen Bernhard Rudolph Konrad von Langenbeck “*Typhus Leichen*” (tifüs cisimcikleri) olarak adlandırmıştır. Günümüzde bu organizmanın mantar olduğu bilinmektedir [33]. 1841'de Emil Berg'in yaptığı; sağlıklı bebeklere “*aftöz membran materyal*” inokule ederek sağlıklı bebeklerde pamukçuk oluşumunu gözlemlediği çalışmasında; sonuca göre pamukçuğun mantara kaynaklı geliştiğini belirtmiştir [32].

Bugünkü adıyla *Candida Albicans*'ı ilk olarak 1842'de Gruby bir "*Sporotrichum*" türü olarak tanımlamış, 1843'te Charles Robin de ilk kez "*Oidium Albicans*" olarak adlandırmıştır. Ardından 1888'de Hansen bir "*Monilia*" türü olarak tanımlamış ve 1890'da Zoph "*Monilia Albicans*" olarak adlandırmıştır. Bu mantara 1943'ten beri çok fazla aynı anlama gelen isim atfedilse de 1923 yılında Roth Berkhout bu organizmanın bir monilia türü olmadığını kanıtlayarak bu türün "*Candida*" olarak adlandırılmasını önermiştir ve 1954'te Paris'te düzenlenen 8. Botanik Kongresi'nde ise günümüz mantar sınıflandırmasında da kullanılmakta olan "*Candida Albicans*" ismi kabul görmüştür [33,34].

Fenotipik tanımlama yöntemiyle belirlenen klamidyospor üretme ve germ tüp oluşturma özellikleri gibi fenotip özellik benzerliğinden dolayı A serotipindeki ana kökene ait mantarlar *Candida Albicans* olarak tanımlanmıştır. Fakat daha sonra A serotipine dahil bazı mantar türlerinin farklı özellikleri olduğu görülmüştür. *Candida Dubliniensis* 1995'te yeni bir tür olarak adlandırılana kadar *Candida Albicans*'tan ayırt edilememesi, ilgili organizmanın doğru tanımlanamamasına sebep olmuştur ve bu yüzden de bu yeni türle ilgili yapılmış olabilecek yanlış tanımlamaları ortadan kaldıracı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda % 0,8 ila % 16,5 arasında değişen oranlarda yanlış tanımlamalar yapıldığı belirlenmiştir.

Şimdiye kadar tanımlanmış otuzdan fazla türü olan *Candida* cinsi mantarların doğal konakları insandır ve insanda oluşturdıkları enfeksiyonlara genel olarak "*kandidoz veya monilyaz*" verilmektedir. *Candida*'nın insanlardaki mantar enfeksiyonlarına en sık sebep olan türleri *Candida Albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* iken en az sebep olanlar ise *C. albidus*, *C. catenulate*, *C. chiropterorum*, *C. ciferrii*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. haemulonii*, *C. humicola*, *C. inconspicua*, *C. kefyr*, *C. lambica*, *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. pelliculosa*, *C. pintolopesii*, *C. pulcherrima*, *C. rugosa*, *C. utilis* ve *C. zeylanoides*'tir [15].

İnsanlardaki mantar enfeksiyonlarında en çok karşılaşılan tür *Candida Albicans*'tır. *Candida Albicans* sağlıklı bireylerin % 40'ından fazlasının orofarinks bölgesinden izole edilebilir ve alt gastrointestinal sistemin standart kommensali olarak kabul edilmektedir. Ayrıca vajina ve rektal alan gibi mukozalarda ve deride de kommensal olarak bulunabilirler. *Candida Albicans* ağız, üst solunum yolu, sindirim ve genital bölge mukozalarının normal flora üyesi olan, yaklaşık 3-5µ boyutunda, tek tomurcuk taşıyan oval bir maya türüdür [21,26].

İnsan enfeksiyonlarında tanımlanan diğer *Candida* türleri ise *Candida Dubliniensis*, *Candida Glabrata*, *Candida Krusei*, *Candida Lusitaniae*, *Candida Parapsilosis*, ve *Candida Tropicalis*'tir [35].

Normal koşullarda bütün üyeleri maya formunda olan *Candida* cinsi mantarlar ökaryotik hücre tipine sahiptir. Bununla birlikte *Candida Albicans* ve *Candida Dubliniensis*, tomurcuklanan blastospor şeklinden gerçek hif şekline kadar değişen morfolojik yapılarıyla “dimorfizm” özelliği göstermektedirler. Tomurcuklanma ile üretilen aseksüel (cisiyetsiz/eşeysiz) mantar spor hücreleri “*blastospor*” olarak adlandırılır. Bu hücreler daha küçük, yuvarlak veya oval biçimli gibi çok çeşitli formlarda olabilmektedir [36].

Blastospor yüzeyinin özel bir bölgesinden yeni bir hücrenin oluşmasıyla gelişen tomurcuk yapısı uygun boyutlara ulaştığı zaman hücrede çekirdek bölünmesi gerçekleşmektedir. Bölünen bu hücreler arasında porlu yapıya sahip bir septum meydana gelmekte ve hücreler arası sitoplazma ve organel transferine imkan sağlamaktadır. Septumlarla bölünme sonucu oluşan ve çok sayıda hücre birimi içeren mikroskobik ince borulara “*hif*” adı verilmektedir. Blastospordan hif oluşumuna geçişin ara basamağında “çimlenme borusu” olarak adlandırılan yapı vardır. Çimlenme borusu blastosporun ucundan başlayarak devamlı olarak gelişen ve septumla ayrılmaksızın doğrusal olarak şekillenerek “*yalancı hif*”lerin oluşumun sağlamaktadır. Küflerin, dolayısıyla da *Candida*’ların temel yapı taşları olan hiflerin bir araya gelerek oluşturdukları yapılar miçel (misel/miselyum) olarak adlandırılmaktadır. Bu yapı aynı zamanda küf kolonisi olarak da değerlendirilmektedir [24,37].

Sağlıklı bireylerde bulunduğu ısı koşuluna göre maya ve hif formunda bulunabilen *Candida Albicans* üreme ve gastrointestinal sistemde bulunan kommensal yaşayan dimorfik bir mantar türüdür. Maya ve hif fomları (gerçek veya yalancı hif) arasındaki bu morfolojik değişim çevre şartları, beslenme durumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olmaktadır. Bu özelliklerine bifazik denmektedir [15]. *Candida Albicans*’ın bu morfoloji değiştirme becerisi ve maya formda invaziv özellik göstermezken hif formunda invaziv özellik göstermesi öne çıkan virulans faktörleridir [35]. Oldukça geniş bir pH aralığı (2-8) ve aerobik inkübasyon koşullarında üreyebildikleri gibi mikroaerofilik ve anaerobik inkübasyon koşullarında da üreyebildikleri gösterilmiştir [38].

Konak savunmasının sistemik veya lokal olarak azaldığı koşullarda fırsatçı patojen olan *Candida Albicans*; ağızda fazla üremesi sonucu beyazımsı lezyonlar şeklinde görülen pamukçuk tablosuna neden olmaktadır. Deri tutulumunda kronik mukokutanöz kandidiazis, vajinal bölge tutulumunda vajinit ve bunlarla birlikte pek çok farklı hastalığa sebep olabilmektedir [26].

Mikroorganizmanın hastalık yapabilme kabiliyetine patojenite denilmektedir. Mikroorganizmanın vücutta hastalığa sebep olabilmesinin ön koşulu konakta üreme ve çoğalmayı başarabilmesidir, sadece mevcudiyeti enfeksiyon oluşturmak için yeterli değildir [39,40]. Mantar-konak etkileşimi; konak direncinin baskın geldiği durumlarda enfeksiyonun önlenmesi ile ya da subklinik düzeyde (latent/gizli enfeksiyon) ve/veya klinik düzeyde bulguların gözlemlendiği enfeksiyonlar ile sonuçlanmaktadır [40]. Bu etkileşim mantarın hastalık yapıcı özellikleri ve konağın duyarlılık durumuna göre sonuçlanmakta olup, *Candida*’ların sebep olduğu, konağa zarar vermeden varlığını sürdüren (kommensal) ancak konak savunması düştüğü anda çevre dokulara invaze olarak zarar verebilen, fırsatçı enfeksiyonların altında yatan gerçeği göstermektedir [41,42].

Candida’ların türü ve kökenine ilişkin belli faktörler konak direncini aşabilmek için birlikte rol oynamaktadır. Bu yüzden yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için *Candida*’ların patojenik aktivitesinde rol oynayan faktörlerin iyi bilinmesi çok önemlidir [42,43].

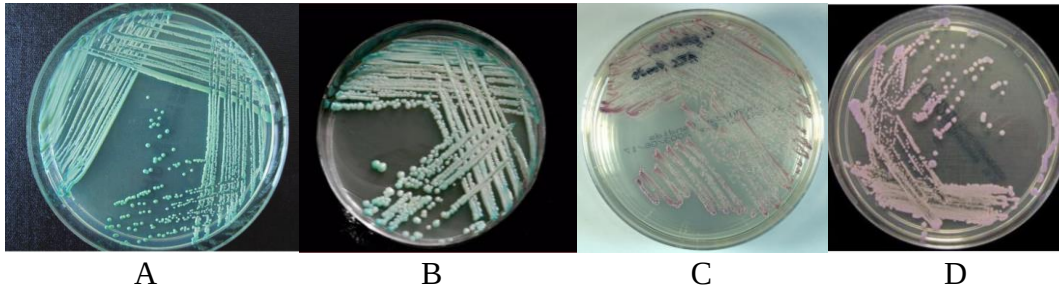
2.3.1. *Candida*’nın kültürü ve biyokimyasal özellikleri

Bu mikroorganizmaların izolasyonu sorunsuzdur. İçerisinde antifungal bulunmayan neredeyse tüm besiyerlerinde üreyebilmektedirler. Sabouraud dextrose agar ve Patetes dextrose agar, *Candida*’ların laboratuvar kültürlerinde kullanılan en yaygın besiyerleridir. Bunlar mantarlar için özel besiyerleridir ve içeriğindeki yüksek şeker konsantrasyonu (% 3 dextrose ya da sükröz) ile asidik pH’ı (pH=4.0) birçok bakteri türünün üremesi için uygun olmamaktadır. Ayrıca bu besiyerlerine çeşitli antibiyotiklerin eklenmesi ile mayalar için seçicilik dereceleri artırılabilir. *Candida*’lar aerobik solunum yaparlar; ancak ilk izolasyonun % 10 CO₂’li atmosferde yapılması önerilmektedir. 20-38°C ısıya sahip, pH’ı 2,5-7,5 arasında olan aerobik besiyerlerinde krem renginde, yumuşak, “S” tipli, ekmek mayası kokulu koloniler oluşturmaktadırlar. Bunun istisnası ise pütürlü yüzeyli, mat sarı/beyaz renkli ve dağınık koloniler oluşturduğu gözlenen *Candida Krusei*’dir. Klinik

örneklerden üretilen kültürler için gerekli inkübasyon süresi 48-72 saattir. Pasaj kültürleri için gereken inkübasyon süresi ise daha kısadır. Bununla birlikte inkübasyon süresi birkaç haftaya çıkarıldığında dev kolonilerle karşılaşmıştır ve bu kolonilerin zamanla büzülme gösterdiği belirlenmiştir [44,45].

Klinik örneklerden üretilen kültürlerin laboratuvar tanısında birden çok türün (özellikle maya mantarlarında) aynı anda izole edilebilmesi için kullanılan yöntemlerde son on yılda önemli aşama kaydedilmiştir. Kromojenik besiyeri (kromojenik substrat içeren Chrom Agar) kullanımı bu yöntemlerden biridir ve hem *Candida* kolonilerinin renk ve şekillerine göre türlerinin tanımlanması (özellikle *Candida Albicans*, *Candida Krusei* ve *Candida Tropicalis*) hem de izolasyon amacıyla kullanılmaktadır. 37°C'deki kromojenik besiyerinde 48-72 saatlik inkübasyon süresi sonucunda gözlenen *Candida* türlerinden;

- *Candida Albicans* açık yeşil rekli
- *Candida Dubliniensis* koyu ve mat yeşil renkli
- *Candida Glabrata* pembe ve mor renkli
- *C. tropicalis* koyu mavi / lacivert renklidir (Resim 2.1).



Resim 2. 1. *Candida Albicans* (A)-*Candida Dubliniensis* (B)-*Candida Glabrata* (C)-*Candida Tropicalis* (D) besi yeri görünümü [46].

Bunların arasında *Candida Dubliniensis*'in ayırıcı tanısı sadece rengine göre yapılamamaktadır. Çünkü nadir de olsa *Candida Albicans*'ın orta/koyu yeşil renkli kolonilerinin de gözlenebildiği, -70°C'de tutulan bazı *Candida Dubliniensis* kolonilerinin ise açık yeşil renkte gözlemlendiği bildirilmiştir [47,48].

Nitrati asimile edebilen bir *Candida* türü yokken tamamı glikozu fermente edebilmektedir. *Candida*'lar fermente edildiklerinde oluşan metabolik son ürünler aseton, etanol ve organik asitlerce (asetik, formik, laktik asit vb.) zengindir [49].

Candida Albicans;

- Glikoz, galaktoz ve maltozu fermente eder
- Laktoz, mellibioz, rafinoz, melisitoz ve inülini fermente edemez
- Glikoz, galaktoz, maltoz, süktroz, trehaloz, D-ksiloz ve D-manniti asimile eder
- Laktozu, rafinozu ve sellobiozu asimile edemez.
- Sikloheksidine duyarlıdır ve süktrozdan asit üretmez [44].

Candida Dubliniensis;

- Galaktoz glikoz, maltoz, süktroz, mannitol, sorbitol, 2-keto-glukonat ve glukozamini asimile eder.
- Arabinoz, ksiloz, riboz, sorboz, α -metil-D glukozid, sellobioz, laktoz, mellibioz, melezitoz, rafinoz, gliserol, eritritol, glukronat, DL-laktat, levülinat, glukonat ve potasyum nitratı asimile edemez [31].

Candida Albicans ve *Candida Dubliniensis* genel biyokimyasal özellikleri açısından birbirlerine benzeseler de *Candida Albicans* α -metil-D-glukozidi ve ksilozu asimile edebilirken *Candida Dubliniensis*'in edememesi ve intraselüler β -glukozidaz aktivitesinin negatif olması gibi bazı reaksiyonlarda farklılıklar göstermektedirler [50].

2.3.2. *Candida* türünün patogenezi ve virulans faktörleri

Yeni terapötik yaklaşımlar geliştirilebilmesi açısından *Candida*'ların patojenik aktivitesinde rol oynayan faktörlerin iyi anlaşılmasının önemi gittikçe artmaktadır. *Candida*'ların türüne ve kökenine bağlı olan faktörler konağın bağışıklığını yenmek için birlikte rol oynamaktadırlar. [42].

Mantarlar, virulans faktörleri sayesinde, konak dokularına invaze olarak konak dokusunun bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. Yüzeyel veya yaygın kandidiyaz enfeksiyonlarının oluşumunda birden çok virulans faktörün etken olduğu, tek bir virulans faktörün konak direncini aşmada yeterli olmadığı bildirilmiştir [51,52].

Bu virulans faktörler şunlardır:

1. Aderans: Konaktile mikroorganizmalar arasında özgüntbağlantının gerçekleşmesidir. Candida'ların kolonizasyonunun ve enfeksiyon oluşturma sürecinin ilk basamağı mukozadaki epitel ve endotel hücrelerine yapışmasıdır. *Candida Albicans*'ın mantarlar içerisinde sık karşılaşılan tür olarak öne çıkaran özelliklerinin başında mukoza yüzeylerine yapışma yeteneği gelmektedir. Aderans, mikroorganizmanın yüzeyindeki adezinler ile konak epitel-endotel hücre yüzeyindeki reseptörlerin birbirleri ile etkileşimi sonucu oluşmaktadır [53].
2. Biyofilm: Canlı veya cansız bir yüzey yapışarak kendi ürettikleri ekstrasellüler polimer yapıdaki jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir [53]. Bazı Candida türleri slime benzeri yapılar oluşturarak kalın bir film tabakası meydana getirirler. Bu faktör % 40 oranında karbohidrat ve % 27 oranında protein içeren glikokaliks yapısında, hücre duvarı dışında bulunan bir maddedir. Bu sayede canlı veya cansız yüzeye tutunarak sürekli bir enfeksiyon odağı haline gelen kolonizasyon oluşturabilmektedirler [54]. Candida türleri arasında slime üretimi en sık *Candida Albicans*'ta görülmektedir [39,55] Yapışma ve kolonizasyon için mantarın slime faktörü, konağın da fibrin ve fibronektinlerinin gerekli olduğu ileri sürülmüştür. Ancak, son yıllarda yapılan araştırmalarda musin, fibronectini ve mannanı bağlayan tükürük veya serum proteinlerinin Candida biyofilmi oluşmasını kolaylaştırmadığı hatta akrilik yüzeylerde Candida biyofilmi oluşmasının karmaşık bir olay olduğu bildirilmiştir [56].
3. Morfolojik Değişim: Candida'ların, yaşamlarını devam ettirebilmesi için değil, farklı ortam koşullarında çoğalabilmesi için geliştirdiği bir mekanizmadır.
 - Hif formunun dokuya maya formundan daha kolay invaze olabilmesi,
 - Fagositler tarafından sindirilmesinin daha zor olması,
 - Aktif semptomlu enfeksiyonlarla ilişkili olması
 - Plastik yüzeylere yapışmayı sağlayan fibril yapısında yüzey oluşturabilmesi nedeniyle Candida'nın virulans faktörleri arasında yer aldığı bildirilmiştir.

Ancak maya formun virulansının daha fazla olduğunu belirten görüşler de vardır. Bazı yazarlar enfeksiyon oluşturma kabiliyeti bakımından iki form arasında fark gösterememişlerdir [52,57].

4. Fenotipik Değişim: Patojenin mukozaya adezyonunun değişmesini veya immun sistemden korunmasını, hücre yüzey antijenlerini değiştirerek sağlamakta ve bu sayede

patojen, vücudun çeşitli bölgelerine invaze olabilmektedir. İlk olarak Soll ve diğerleri tarafından bazı *Candida Albicans* türlerinde (yaklaşık % 2-4'ü) genellikle beyaz ve opak fenotip olmak üzere iki renk tipi görüldüğü ve bu özelliğin hücre ve koloni yapısı olarak tanımlandığı belirlenmiştir [39,47,58]. *Candida Albicans* türlerinin çoğu beyaz fenotiptedir. Beyaz fenotipte tomurcuklu yuvarlak hücrelerle düzgün yüzeyli beyaz kolinler oluşmakta opak fenotipte ise tomurcuklu hücrelerle kenarları çıkıntılı yassı ve geniş yüzeyli koloniler oluşmaktadır. Beyaz ve opak fenotip hücrelerinin ısıya duyarlılıkları, generasyon süreleri ve hif oluşturma şekilleri arasında farklılıklar gözlenmektedir. Beyaz-opak geçiş sisteminin mekanizması şimdiye kadar tam olarak belirlenemese de *C.Albicans* 'ın epitel hücrelere adezyonunda, konak direncine karşı dayanıklılığında, antifungal ajanlara karşı duyarlılığında ve patogeneğinde (virulans faktör olarak) etkin olduğu bilinmektedir [59].

5. Hücre duvarı - Mannoprotein Yapısı: Konak ile *Candida Albicans* arasındaki tutunma mekanizması karmaşık olsa da *Candida Albicans* 'ın mannoprotein yapıdaki bağlantı reseptörlerinin konak hücre proteinlerine (fibrinojen, fibronektin ve laminin) bağlandığı çalışmada gösterilmiştir [60]. Hücre duvarı bileşeni olan mannoproteinler (% 93 karbonhidrat, % 7 protein) endoplazmik retikulumda sentezlenip golgi aygıtı ve sekretuvar viziküller ile plazma membranından salınmakta ve endotel-epitel hücrelerine bağlanmayı sağlamaktadır. Hücre yüzeyindeki miktarı arttıkça adezyonun da arttığı bildirilmiştir. Enfeksiyon esnasında bir antijen olarak tanımlanması sayesinde hücresel ve humoral bağışıklık yanıtının oluşumunda etkin rol oynamakta ve bununla birlikte aşı olarak kullanılabilirlikleri de tartışılmaktadır [32,61-66].
6. Enzimler: *Candida* 'lar konağın hücre zarının yapısında değişikliğe neden olarak dokuya invaze olmasını sağlayan fosfolipaz ve proteinaz gibi konak hücre zarındaki lipid ve proteinleri hedefleyen enzimlere sahiptirler ve bu enzimler iki grupta incelenmektedir [54,67-70].

- Fosfolipazlar ve Lizofosfolipazlar: Lizofosfolipazlar lizofosfogliseridleri, fosfolipazlar ise fosfogliseridleri hidrolize etmektedir ve hücre dışı fosfolipazlar birçok mikroorganizma tarafından salgılanmaktadır. Bu enzim özellikle konak hücre zarındaki fosfolipidlerin yapısını ve hücre yüzey özelliklerini bozarak hücreyi patlatmaktadır [71,72]. Bununla birlikte bu enzimin miktarı da varlığı kadar önemlidir [73]. İlk kez 1960'larda yumurta sarısı veya lesitin içeren agarlı besiyerinde üretilmiş mayaların lipidleri parçalaması sonucu ortaya çıkan son ürünleri analiz edildiğinde karşılaşılan fosfolipaz enzimleri sayesinde *Candida*

Albicans suşlarının hücre dışı fosfolipaz enzimi salgıladığı belirlenmiştir [68,74]. 1975'te Pugh ve Cawson, buldukları lesitin temelli bir sitokimyasal yöntemi bu enzimin tespitinde kullanmışlardır. Sonrasında yine Pugh ve Cawson, bu yöntemle ilişkili olarak tavuk koryoallantoik zar modelini kullanmış ve *Candida* invazyonunun mikroskopik düzeydeki detaylarını ve fosfolipaz üretimi yapan bölgeleri incelemişlerdir. İnvazyonun *Candida Albicans* blastosporlarının hücre membranına tutunmasıyla başladığı ve bu süreçte blastosporların hücresel yapılarının değişerek hifleri oluşturduğu ve hiflerin membrana temas ettiği alanlarda yüksek fosfolipaz aktivitesi gözlemlenmiştir. Bu sebeple de Pugh ve Cawson, fosfolipaz enziminin *Candida Albicans*'ın dokuya tutunmasında ve invaze olmasında önemli rolü olduğunu bildirmişlerdir. [75].

- Proteinazlar: Patojen *Candida*'ların salgıladığı peptid bağlarını hidrolize eden bu enzim dokuda harabiyete meydana getirerek mayanın konak savunmasına karşı direnç göstermesini, mukozada devamlı kalarak yayılmasını sağlamaktadır [39]. Nitrojen kaynağı olarak sadece protein içeren besiyerlerinde üretilen bazı *Candida* türlerinin proteinaz salgıladıkları bildirilmiştir. Proteinazın çoğunlukla *Candida Albicans* (en sık), *Candida Parapsilosis* (orta derecede) ve *Candida Tropicalis* (daha az) türleri tarafından üretildiği, bununla birlikte klinikte rastlanan diğer *Candida* türleri (*Candida Dubliniensis*, *Candida Glabrata*, *Candida Lusitaniae*, *Candida Krusei*) tarafından da üretilbildiği gözlenmiştir. *Candida Dubliniensis* ile yapılan çalışmalarda ise çelişkili sonuçlar elde edilmiştir [41,76].

7. Toksinler: *C. albicans* toksinleri molekül ağırlıklarına göre ikiye ayrılmaktadır;

- Yüksek molekül ağırlıklı toksinler (glikoprotein ve kandid toksin): Protein ve glikoz yapısındaki bu maddeler toksik olmasalar da kolonizasyonda yapıştırıcı olarak görev yapmaktadırlar. Enfeksiyonu ve yayılmayı kolaylaştırıcı etkileri yanında nötrofil işlevlerini bozmaktadır.
- Düşük molekül ağırlıklı toksinler: Ölümcül etkinlikleri bulunmaktadır [42].

2.3.3. *Candida* Türlerinin Tanısı

Moleküler ve geleneksel yöntemler *Candida* türlerinin tanısını yapmada kullanılmaktadır.

Geleneksel yöntemleri oluşturan prosedürler: Ekimin yapıldığı besiyerinde üreme gözlemlendiğinde;

- Mayanın hif veya yalancı hif oluşturup oluşturmadığının
- Klamidospor varlığının
- Karbonhidrat asimilasyonunun
- Nitrat asimilasyonunun
- Şeker fermentasyonunun
- Enzimsel ve diğer metabolik aktivitelerinin araştırılmasıdır.

Moleküler yöntemleri oluşturan prosedürler: Sinyal ve nükleik asit amplifikasyonudur [77].

Türüne göre değişmekle birlikte ekilen besiyerinde 24-72 saat aralığında *Candida* kolonilerinin oluştuğu göz önüne alındığında *Candida* türlerini üretmenin zor olmadığı söylenebilir. Germ tüp testi, kültürde oluştuğu gözlenen maya kolonilerinin tanısında başvurulacak ilk basamaktır. 37°C² deki tavşan veya insan serumunda iki saat boyunca inkübe edilen *Candida Albicans* ve *Candida Dubliniensis* hücrelerinin germ tüp ve takiben gerçek hif oluşturduğu bildirilmiştir [78]. CHROMagar, yaygın maya türlerinin hızlı tahmini bir şekilde tanımlanmasında son derece faydalıdır. CHROMagar *Candida* gibi mayaların seçici izolasyonuna izin veren ve aynı anda *Candida Albicans*, *Candida Tropicalis* ve *Candida Krusei* kolonilerini tanımlayan bir diferansiyel kültür besiyeridir [79]. Maya türlerinin tanımlanmasında kullanılan klasik yöntemler, zaman alıcıdır ve teknik olarak karmaşıktır. Maya enfeksiyonlarının artan insidansı, bu patojenlerin tanımlanması için hızlı ve doğru manuel ve otomatik ticari sistemlerin geliştirilmesini teşvik etmiştir. İdeal olarak, bu ürünler aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır:

- Her tür klinik örnekten izole edilmiş mayaların hızlı ve kesin tanımlanması
- Birden çok izolatin hızlı işlenmesine izin vermek için kullanım ve aşılama kolaylığı
- Örneklerden daha az sıklıkla elde edilen izolatları tanımlama yeteneği olması [80].

Candida Dubliniensis'in önemi, onu *Candida Albicans*'tan ayırt etmedeki zorlukta da yatmaktadır. İki türü ayırmanın kesin bir yolu, türün antijenlerini tespit etmeye dayalı Api ID 32C gibi moleküler yöntemler kullanmaktır [81]. Api ID 32C sistemi 29 asimilasyon testi, karbonhidratlar, organik asitler ve amino asitler için substratlar içeren 32 kuyucuklu

tek kullanımlık tek kullanımlık plastik bir şerit, bir duyarlılık testi (sikloheksimid), bir kolorimetrik test (eskülin) ve bir negatif kontrol test içermektedir [82].

2.4. Diş Çürüğü Oluşumundaki Etken Faktörler

Diş çürüğü, oral kavitedeki mikroorganizmalar tarafından diyetle alınan karbonhidratların bakteriyel fermentasyonu ile ortaya çıkardıkları asidik yan ürünlerce dişin organik ve inorganik yapılarının bozulması sonucu meydana gelen enfeksiyöz ve multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.2) Diş sert dokularında oluşan bu yıkım mikroskobik düzeyden makroskobik düzeye kadar değişen oranlarda meydana gelebilmektedir [83,84].

Diş çürüğünün oluşum mekanizması incelendiğinde, diş sert dokularını oluşturan organik matriks ile inorganik kalsiyum fosfat kristalleri arasındaki elektrostatik bağlantının H^+ iyonlar tarafından fiziko-kimyasal düzeyde bozulması ve kalsiyum fosfat kristallerinin yıkımıyla başlayıp sonrasında dokuda sırasıyla submikroskobik, mikroskobik ve makroskobik seviyede madde kaybı meydana getirdiği gözlenmiştir [85].

Plak bakterilerinin alınan fermente karbonhidratları metabolize etmesi sonucu oluşan asitler ortam pH'ını düşürmekte ve bu sayede termodinamik olarak nötral veya hafif asidik pH'ta daha stabil olan karbonik hidroksiapatit minerallerini çözmemektedir ve bu süreç demineralizasyon olarak tanımlanmaktadır. Minede oluşan erken dönem demineralizasyonların geleneksel yöntemler ve radyografik tetkiklerle belirlenemediği bilinmektedir [83,86].

Ortam pH'ı düşük olduğunda, plak sıvısı gibi diş çevresindeki sıvılarda doymuş veya aşırı doymuş koşulların sağlanabilmesi için fazladan kalsiyum ve fosta ihtiyacı olmaktadır. Bu mineraller açısından tükürüğün de belli koşullarda bir kaynak olduğu bilinse de pH 5,5 ve altına düştüğünde ortam minerallere doymamış hale gelmekte ve bunun sonucunda diş sert dokularından bu minerallerin çözünmeye başladıkları gözlenmektedir [87].

Remineralizasyon; kalsiyum, fosfat ve florun diş içerisine diffüze olması ile henüz kavite oluşmamış lezyon içerisindeki kristallerin yeniden tamir olması sonucunda demineralizasyon süreci geri dönmesidir [88]. Bu demineralizasyon remineralizasyon

döngüsü düzenli olarak gerçekleşmektedir. Eğer demineralizasyon süreci baskın hale geçerse çürük oluşumu başlamaktadır. Sonuç olarak diş çürüğü oluşumunun temelinde bu demineralizasyon-remineralizasyon süreçleri etkin olmaktadır [89].

Tükürüğün yıkayıcı ve tamponlayıcı etkisi ve ağız hijyenine yönelik florlu diş macunu ile fırçalama gibi koruyucu uygulamalar diş dokusunda demineralizasyonun önlenmesine ve diş dokusundan kaybolan mineral yapının geriye kazandırılmasına yardımcı olur. Bu durum remineralizasyon olarak adlandırılır. Ağız içerisinde demineralizasyon ve remineralizasyon arasında bir denge vardır. Bu dengenin demineralizasyon lehine gelişmesi diş çürüğü oluşumu ile sonuçlanır [90]. Diş çürüğü başlangıçta geriye dönüşümlüdür ve biyofilm tabakası kaldırıldığı sürece kavite oluşsa bile herhangi bir aşamada durdurulabilir. Hastalık hem daimi hem de süt dişlerinde krona ve kökte meydana gelebilir [83].

Çürük oluşumunda rol alan ana etkenler konak, mikroorganizmalar, diyet ve zamandır. (Şekil 2.2) Bu faktörlerden herhangi biri bulunmadığı zaman diş çürüğü oluşmayacaktır. Çürük için geliştirilen modern yaklaşımlara göre ise sosyal, davranışsal ve psikolojik faktörler de en az biyolojik faktörler kadar önem taşımaktadır [91].

Diş çürüğünde diş sert dokularının kaybı bu dokuların sertliğinin kaybıyla başlayıp minerallerin kısmi olarak çözünmesiyle devam etmektedir ve bu aşamalardan dolayı erozyon ve abrazyon gibi diş sert doku kayıplarından ayrılmaktadır [92].

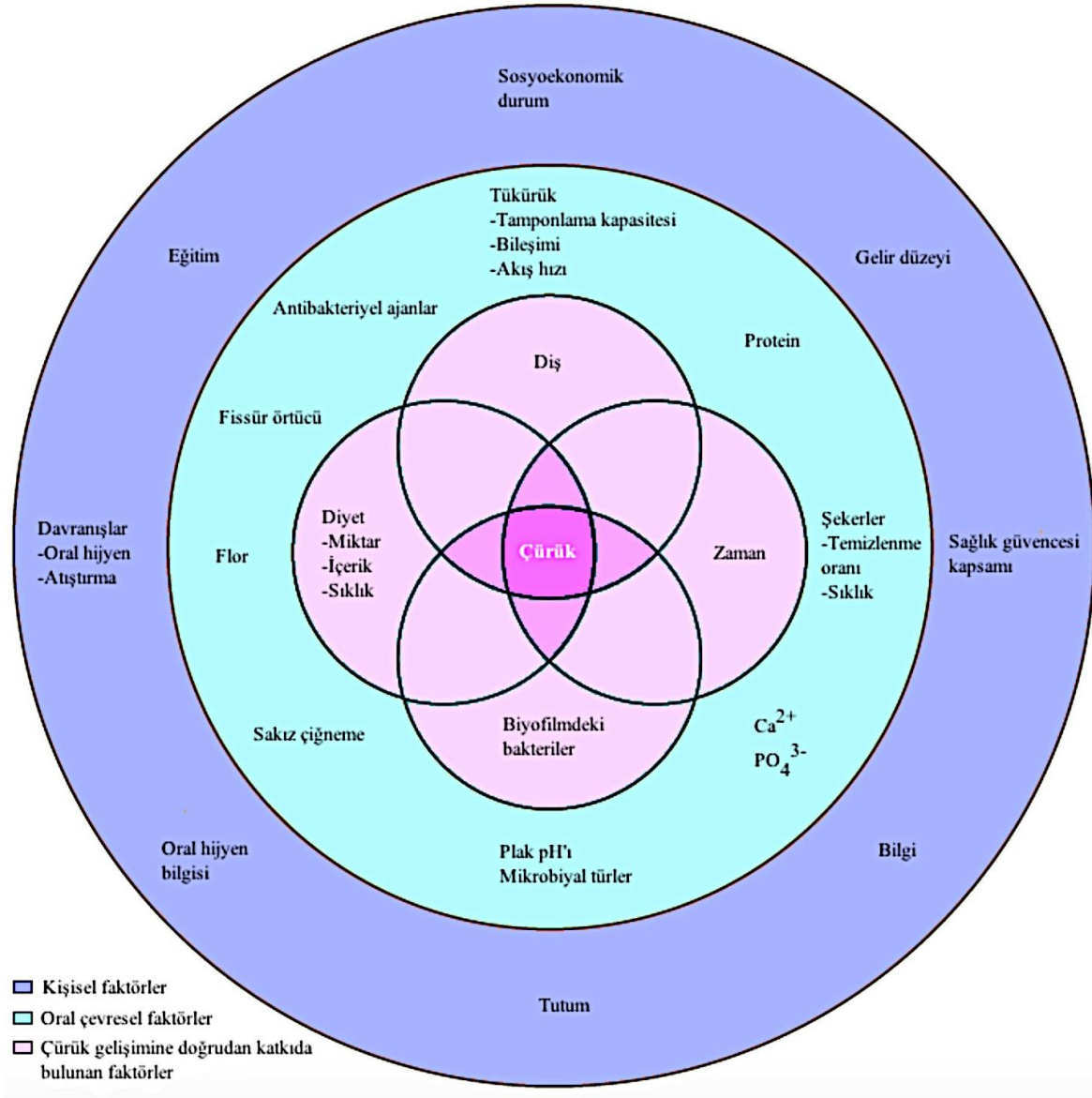
Diş çürüğü oluşumunda rol oynayan etkenlerden bazıları;

- Karbonhidratların / şekerli yiyeceklerin normalden fazla tüketimi
- Tükürük akış hızını ve / veya tamponlama kapasitesini azaltan ilaçların kullanımı
- Diş çürüğüne sebep olan bazı sistemik hastalıklar
- Kötü / yetersiz oral hijyen
- Enfeksiyonlar
- Genetik yatkınlık
- Kalsiyum, flor gibi minerallerin yetersiz alımı
- Yetersiz D vitamini alımı
- Aşırı soğuk / aşırı sıcak gıdaların tüketimidir [93].

Bakteri plağı ile çürük oluşumu bir bütün olarak değerdendirilmelidir. Bakteri plağı oluşumunu etkileyen faktörler;

- Tükürük yapısı
- Diş morfolojisi ve okluzyonu
- Dişlerin pozisyonu ve apraşıklığı
- Uyumsuz restorasyonlar
- Ortodontik apareyler
- Oral hijyen alışkanlığı
- Beslenme alışkanlığı
- Bağışıklık sistemi
- Fluor kullanımı
- Eğitim seviyesi
- Sosyoekonomik düzeydir [94,95].

Mine çözünürlüğünü ve diş sert dokularının çürüğe karşı direncini ise hidroksiapatit kristallerinin tipi, boyutu ve birbirine yakınlığı gibi faktörler etkilemektedir [86].



Şekil 2.2. Çürük gelişimini etkileyen faktörler [83].

2.4.1. Çürük oluşumunda bireye ait faktörler

Dişe Ait Faktörler

Çürük oluşumunda etkili faktörlerden dişe ait olan faktörler olarak; dişin konumu, yapısı, anatomisi, dizilimi ve sürdükten sonra geçen sürenin çürüğün ilerlemesinde etkili olduğu belirtilmiştir [83]. Bununla birlikte Zero yapmış olduğu çalışmada minenin kristal yapısının ve mine çözünürlüğünün de dişin çürüğe karşı dayanıklılığını etkileyen faktörlerden olduğunu belirtmiştir [86].

Dişler sürdükten sonra maturasyon sürecine girdikleri için çürük oluşumuna karşı başlangıçtaki yapısına göre daha dayanıklı hale gelirler [96]. Asitlere karşı yeterince dayanıklı olmayan apatit kristallerinin hayat boyu devam eden demineralizasyon–remineralizasyon süreci sırasında diş yapısından uzaklaşıp bunların yerine çürüğe karşı daha dayanıklı olan flor apatit kristalleri yerleşmesi de dişlerin zamanla çürüğe karşı daha dayanıklı hale geldikleri iddiasını desteklemektedir [83].

Tükürüğe Ait Faktörler

Tükürük; majör (parotis, submandibuler ve sublingual) ve minör (oral mukozaya yayılmış olarak) tüm tükürük bezlerinin salgıları tarafından oluşturulmaktadır [97]. Oral kavite ve tüm organizma için önemli bir yapı olan, su ve makromoleküller olmak üzere iki ana bileşenden oluşan tükürük, içeriğinde birçok fonksiyonel ve immün komponenti barındırmakta, aynı zamanda da sindirim fonksiyonunda rol almaktadır [98,99].

Viskozitesi 19 - 35 milipaskalsaniye (mPas) arasında olan ve yoğunluğu 1003–1009 g/ml arasında değişen tükürük hipotonik bir yapıdadır [98]. Normal şartlar altında renksiz, tatsız, transparan ve visköz yapıda olan tükürüğün % 99'u su, %1'i ise enzimler, serum elemanları, inorganik iyonlar ve salgısal glikoproteinlerden oluşmaktadır [99]. Tükürüğün organik içeriği proteinler, glikoproteinler, mukopolisakkaritler ve enzimler tarafından oluşturulur. Ağız içine günlük ortalama olarak 1-1,5 litre aralığında tükürük salgılanmakta ve bu uyarılmamış tükürük salgısı ortalama olarak % 65'i submandibular, % 20'si parotis, % 7 ila 8'i sublingual ve geriye kalanı da oral mukozaya yayılmış minör tükürük bezlerinden gelmektedir. Uyarılmış tükürükte ise parotis bezinin katkısı % 50'nin üzerine çıkmaktadır. Sempatik ve parasempatik uyarılar sonucu salgılanan tükürük miktar ve içerik bakımından birbirinden farklıdır. Sempatik uyarı sonucunda visköz yapıda ve organik maddelerden zengin bir salgı oluşurken, parasempatik uyarı sonucunda ise başta potasyum olmak üzere inorganik iyonlardan zengin ve hacimli bir salgı oluşmaktadır [98].

Tükürüğün Fonksiyonları

Tükürüğün fonksiyonları tükürüğün sıvı karakteri ve özel içeriği ile ilişkilidir.

Tükürüğün sıvı karakteri ile ilişkili fonksiyonları;

- Ağız boşluğunun temizlenmesi
- Mukozanın kayganlaştırılarak konuşmanın kolaylaştırılması
- Çiğneme ve yutmanın kolaylaştırılması
- Lokmanın oluşturulması
- Gıda maddelerinin çözünmesi
- Gıda ve bakterilerin temizlenmesi
- Kalıntıların seyreltilmesidir

Tükürüğün özel içeriği ile ilişkili fonksiyonları;

- Tamponlama aktivitesi ile asidik ortamın nötralize edilmesi
- Hidroksiapatit için kalsiyum fosfat konsantrasyonunun sağlanması
- Mine pelikül oluşumuna katılmasıdır [100].

Aynı zamanda tükürük bileşenleri sindirim fonksiyonuna, mukozal örtülemeye ve antimikrobiyal aktivitenin sağlanmasına yardımcı olmakta ve bu sebeple de ağız sağlığının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu yüzden tükürük fonksiyonunu olumsuz yönde etkileyen değişimler ağız içindeki yumuşak ve sert dokuların bütünlüğünü ve sindirim sistemi fonksiyonlarını bozabilirler [100].

Tükürük yapısında bulunan amilaz (pityalin) karbonhidrat sindiriminde önemli rol oynamaktadır. Karbonhidrattan zengin diyet sonucunda belirgin bir şekilde arttığı gözlenen amilolitik aktivite insan tükürüğünde α -amilaza bağlıdır. Trigliseritlerin parçalanmasında görev alan lipaz enzimi dilin posterior kısmındaki Von-Ebner bezlerinden salgılanmaktadır. Yağdan zengin diyet sonucunda, pankreatik lipaz ile birlikte Von Ebner bezlerinden salgılanan lipaz miktarında da artış görülmüştür [101].

Tükürüğün yapısında duktal sistemden salgılanan iyodit ve asiner hücrelerden salgılanan ve bakteriyel proteinlerdeki tirozini parçalayan peroksidaz gibi mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen ve mukozayı enfeksiyonlara karşı koruyan pek çok madde yer almaktadır [102].

Birçok mikroorganizmanın inhibisyonunda ve destrüksiyonunda önemli göreve sahip olan ve bakteriyel hücre zarının yapısındaki polisakkaritleri hidrolize ederek etkisini gösteren lizozim, tükürükteki bir diğer antibakteriyel proteindir. Oral kavite hastalıklarında aktivitesi artan aminopeptidaz, tükürük bezlerinde histolojik yöntemlerle gösterilmiştir. Çeşitli ağız hastalıklarında aminopeptidaz enziminin aktivitesinin değişiklik gösterdiği ve oral kavitedeki bradikinin gibi fizyolojik olarak aktif peptitlerin inaktivasyonunda rol oynayabileceği düşünülmektedir [101].

Tükürüğün bir diğer savunma mekanizması ise özellikle IgA başta olmak üzere immunglobulinlerdir. IgA'nın yanı sıra IgG ve IgM de tükürükte görülmektedir. Mukozanın dış yüzeylerini mikroorganizmalara karşı koruyan IgA, tükürük bezlerinin stromasındaki bağ dokusunda yer alan plazma hücrelerinden salgılanmaktadır. Parotis ve submandibuler bezlerin seröz hücrelerinde immunofloresan yöntemlerle lokalize edilebilmiş, demire bağlı protein olan laktoferrin de antibakteriyel özellik göstermektedir. Tükürük, sayısız antibakteriyel etkinlik gösterse de non-karyojenik mikrofloraya ait bazı bakterilerin üremesine olan katkısı sağlamaktadır [101].

Tükürük Akış Hızı

Tükürük akış hızı, tükürüğün içeriğini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Tükürük bezlerinin büyüklüğü, susuzluk, ilaç kullanımı, çevresel uyaranlar, vücut pozisyonu ve ışığa maruz kalma gibi birçok faktörden etkilenen tükürük akış hızının artması sonucunda fosfat ve magnezyum seviyeleri düşerken, sodyum, klorid ve bikarbonat seviyeleri artar ve bu durum tükürüğün tamponlama fonksiyonu için kritik öneme sahiptir [103].

Yetişkinlerde normal uyarılmış tükürük akış hızı 1 ila 3 ml/dk aralığında değişiklik gösterirken, düşük uyarılmış tükürük akış hızı 0,7-1 ml/dk'dır. Uyarılmış tükürük akış hızı 0,7 ml/dk'dan daha düşük ise bu tükürük akış miktarı hiposalivasyon olarak tanımlanır. Normal uyarılmamış tükürük akış hızı 0,25 ila 0,35 ml/dk aralığında değişiklik gösterirken, düşük uyarılmamış tükürük akış miktarı ise 0,1-0,25 ml/dk'dır. Uyarılmamış tükürük akış hızı 0,1 ml/dk'dan daha düşük ise bu tükürük akış miktarı hiposalivasyon olarak tanımlanır. Uyku sırasında tükürük akış hızı sıfıra yaklaşmaktadır [104].

Tükürük akış hızını artıran başlıca etkenler arasında;

- Çiğneme
- Diş çıkarma
- Koku
- Sindirim sıvılarının salgılanması
- Yiyeceklerin hazırlanması yer almaktadır [105].

Tükürük akış hızını azaltan başlıca etkenler arasında;

- Anksiyete
- Diyabet
- Heyecan
- İlaç kullanımı
- Sjögren sendromu
- Otoimmün hastalıklar
- Radyoterapi
- Romatizmal hastalıklar
- Sarkoidoz
- Susuzluk yer almaktadır [105].

Tükürük akış miktarının azaldığı durumlarda ağız kuruluğu meydana gelmektedir.

Ağız kuruluğu;

- Çiğneme ve yutma güçlüğüne
- Konuşmada zorlanmaya
- Tekrarlayan mantar enfeksiyonlarına
- Tükürük bezi enfeksiyonlarına
- Yaygın ve hızlı ilerleyen çürüklere neden olabilmektedir [106].

Radyoterapi sonrası tükürük salgısının azaldığının bilinmesi ve tükürük azalmasına bağlı olduğu bilinen rampant çürük lezyonlarına radyoterapi görmüş hastalarda sıklıkla rastlanıyor olması tükürük salgısı ile diş çürükleri arasındaki ilişkiyi net bir şekilde göstermektedir [106].

Tükürük Tamponlama Kapasitesi

Tükürüğün en önemli fonksiyonlarından biri olan tamponlama kapasitesi; oral floradaki bakteriler tarafından karbonhidratların metabolize edilmesi sonucu açığa çıkan asitlerin tükürük tarafından nötralize edilebilmesine verilen addır. Tükürüğün tamponlama kapasitesi, tükürük pH'nın fizyolojik sınırlar içerisinde tutulmasında ve oral dokuların bakterilerin açığa çıkardığı asitlere karşı korunmasında etkin rol oynamaktadır [99].

Tükürük tamponlama kapasitesi, diş dokularının kaybına neden olacak intrinsek ve ekstrinsek asitleri nötralize ederek çürükten korunmada büyük fayda sağlamakta ve dolayısıyla tükürük tamponlama kapasitesi yüksek olan bireyler çürük oluşumuna karşı daha dayanıklı olmaktadır. Tükürük tamponlama kapasitesi temel olarak karbonik asit bikarbonat, fosfat ve protein tamponlama sistemine dayanmaktadır. Uyarılmış tükürükte karbonik asit-bikarbonat tampon sistemi öne çıkarken, uyarılmamış tükürükte ise en önemli tampon komponenti inorganik fosfat tampon sistemidir. Bu tamponlama sistemi, amonyağın tampon görevi gören aminler oluşturmaya yardımcı olmakta ve plağın içine işleyerek asitleri nötralize etmektedir. Tükürüğün bikarbonat dışındaki tamponlama etkisinin % 90'ını düşük molekül ağırlıklı peptidler üstlenmektedir [107].

İlk salgılandığında tükürüğün pH'ı hafif asidiktir. Tükürük uyarıldığında akış hızıyla artmakta buna paralel olarak bikarbonat miktarı da artarak tükürüğün tamponlama kapasitesini artırmaktadır. Azalan tükürük pH'ını yükselten en önemli tampon bikarbonattır, bununla birlikte primer/sekonder fosfat şeklinde inorganik fosfatlar ve az da olsa tamponlama kapasitesi olan bazı organik bileşenler de tamponlama mekanizmasında rol oynamaktadır [107].

2.4.2. Oral mikroorganizmalar

Oral kavitedeki mikroorganizmaların çürük oluşturabilmeleri için; diş yüzeyine tutunabilme, asit üretebilme, düşük pH'lı ortamlarda canlı kalabilme, farklı pH'larda üreyebilme, intraselüler ve ekstraselüler polisakkarit yapabilme, sakkarozu metabolize edebilme gibi özelliklere sahip olmaları gerekmektedir [108].

Dental plakta doğal olarak bulunan karyojenik bakteriler nötral pH'ta dental plağın küçük bir bölümünü oluşturmakta ve dişe oldukça zayıf tutunmaktadırlar. Nötral pH'ta demineralizasyon ve remineralizasyon dengededir ancak, fermente olabilen karbonhidratların yoğun olarak alımı sonucunda plak pH'ı kritik pH'ın altına düşerse, bu düşüşe bağlı olarak mikrobiyal ekoloji değişmekte ve *Streptococcus Mutans* (*Streptokok Mutans*) ve Laktobasiller çoğalarak bu dengenin demineralizasyon lehine değişmesine sebep olmaktadır [109].

Streptokok Mutans, Laktobasiller ve Aktinomiçesler diş çürüğü oluşumunda etkisi olan başlıca bakteri gruplarıdır. Diş çürüğünün başlangıcından *Streptokok Mutans*'ın, dentin çürüklerinden Laktobasillerin, kök yüzeyindeki çürük lezyonlarından ise *Aktinomiçeslerin* ise sorumlu oldukları düşünülmektedir. Diş çürüğü görülme sıklığı ile *Streptokok Mutans* ve Laktobasiller arasında pozitif korelasyon gözlendiği bilinmektedir. Karyojenik bakterilerin süt dişlenme döneminde varlığı ve miktarı ile bu dönemdeki çürük insidansı ve bununla birlikte daimi dişlenme dönemindeki çürük insidansının birbiriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [110].

Hastalık oluşturan bir bakterinin tüm özelliklerini gösteren *Streptokok Mutans*'ın, insanlarda diş çürüğünü oluşturan en önemli bakteri olduğu, bununla birlikte oral kavitedeki miktarıyla diş çürüğü prevalansı arasında ilişkili olduğu ve eliminasyonu halinde hastalığın ortadan kalktığı bildirilmiştir [111].

Streptococcus Mutans

Streptokok Mutans, tükürük ve dental plaktan en yaygın izole edilebilen mikroorganizmadır. *Streptokok Mutans*'ın dental plağa ve mine yüzeyine yapışma özelliği ile asit oluşturma kapasitesi olmak üzere iki önemli virulans faktörüne sahiptir ve bu sayede diş çürüğünün başlangıç ve ilerleme aşamalarında önemli rol oynamaktadır. *Streptokok Mutans* diyetle alınan sükrözü fermente ederek laktik asit açığa çıkarmakta ve bu sayede mine matriksinin çözünmesine sebep olmaktadır. Bununla birlikte diyetle yeterince karbonhidrat bulunmadığında karbonhidrat deposu görevi gören intraselüler polisakkarit sentezi yapmaktadır. Diğer yandan suda çözünmeyen ekstraselüler dekstranlar üreterek diğer bakterilerin de diş yüzeyine yapışabilmesini sağlamaktadır [112].

Yapılan bir epidemiyolojik çalışmalara göre *Streptokok Mutans*, bebeklerde görülen biberon çürüklerinin, çocuk ve gençlerde görülen mine çürüklerinin ve yaşlılarda görülen kök çürüklerinin etyolojilerindeki birincil patojendir. *Streptokok Mutans*lar diş çürüklerinin başlangıç evresinde minedeki fissürlere ve hatta dentine invaze olabilmektedirler [113].

Yapılan araştırmalar *Streptokok Mutans*'ın insan hayatının erken dönemlerinden itibaren oral florada gözlendiğini ortaya koymuştur. Yüksek çürük riskli toplumlarda *Streptokok Mutans* ile enfekte olunan dönem 1 yaş iken, daha az riskli toplumlarda bu dönem 2,5–3 yaşa rastlamakta ve ortalama olarak bireylerin 1,5–3 yaş aralığında bu mikroorganizma ile enfekte oldukları belirtilmiştir. Erken dönemlerde *Streptokok Mutans* ile enfekte olmuş olan çocuklarda ilerleyen yaşlarda yüksek çürük riski söz konusu olacaktır [113,114].

Henüz dişleri sürmemiş olan bebeklerin oral florasında *Streptokok Mutans*, ya hiç görülmemekte ya da geçici olarak bulunmaktadır. Bunun sebebi ise bu mikroorganizmanın kolonize olabilmek için diş yüzeyi gibi sert yüzeylere ihtiyaç duymasısıdır [115,116].

Süt dişlerinde çürük oluşumu ile *Streptokok Mutans* prevalansı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar, *Streptokok Mutans*'ın süt dişlerindeki kolonizasyonunun geciktirilmesi ya da tamamen engellenmesi halinde çocuklardaki diş çürüğü görülme sıklığının etkin bir biçimde azalacağını ortaya koymuşlardır [117]. Bununla birlikte *Streptokok Mutans*'ın süt dişlerinde kolonize olmasının önüne geçilmesi daimi dişlenme döneminde de çürük oluşumunun engellenmesine katkıda bulunmaktadır [118].

Anne ve çocukları arasındaki *Streptokok Mutans* seviyesi ve çürük skorları arasında benzerlik olduğunu gösteren birçok araştırma mevcuttur. Tükürüğünde yüksek oranda *Streptokok Mutans* olan anne ile bebeği arasında sık tükürük teması olması durumunda, bebeğin erken dönemde *Streptokok Mutans* ile enfekte olma riskinin artırdığı gözlenmiştir [119,120].

Laktobasiller

Katalaz ve spor oluşturmayan gram pozitif çubuklar olan Laktobasillerin oral kavitede ve çürük lezyonlarında rastlanılan türleri; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius* ve *Lactobacillus viridescens*'dir. Bu

türler arasında diş hekimliği açısından önem arzedenler ise karyojenik özellikleri sebebiyle *Lactobacillus Acidophilus* ve *Lactobacillus casei*'dir. Oral floranın % 1'ini oluşturan Laktobasiller asidojeniktir fakat diş yüzeyine afiniteleri bulunmamaktadır. Bu sebepten dolayı çürüğün başlangıç evrelerinden ziyade ileri evrelerinde etkinlik göstermekte ve çürüksüz ağızlarda kolonize olmamaktadırlar. Glikoz metabolizmasının son ürünü olarak laktik asit üreten Laktobasillerin oral floradaki seviyeleri, yaygın çürük lezyonlarının olması, diyetle alınan karbonhidratın artması, protez ve ortodontik aparey gibi retansiyon alanlarının bulunması ile pozitif korelasyon göstermektedir [121].

Laktobasiller, diş çürüğünü oluşturan etiyopatojenik mekanizmada *S.Mutans* ile birlikte çalışarak çürük oluşumunda kilit rol oynamaktadır. Diş çürüğü oluşma riskinin, tükürükte bulunan karyojenik bakteri oranı doğru orantılı olarak arttığı bilinmektedir [122]. Ancak yapılan çift kör randomize bir çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* isimli bir bakterinin diş çürüğü oluşumunu engellediği tespit edilmiştir. Prebiyotik besinlerde ve yoğurta bu türün, *Streptokok Mutans* gibi bakterilerin gelişmesini engellediği için bu etkiyi gösterdiği düşünülmektedir [123].

Aktinomiçesler

Hareketsiz ve spor oluşturmayan gram pozitif çubuk ve flamanlar olan Aktinomiçesler, her türlü glikozu fermente etmekte ve bunun sonucunda da çoğunlukla laktik asit, daha az miktarda asetik ve suksinik asit ile eser miktarda formik asit üretmektedirler. Aktinomiçeslerin gingivitis ve kök yüzeyi çürükleriyle ilişkili oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca, koronal çürüklerin oluşumunda da rol aldıkları düşünülmektedir. En sık rastlanan Aktinomiçes türleri; *A. arbovis*, *A. israeli*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus* ve *A. viscosus*'tur. Bu türler arasında diş hekimliği açısından önem arzedenler ise çürük oluşumunda etkili olduğu bilinen *A. naeslundii* ve *A. viscosus*'tur. Bu iki tür tüm bireylerin supragingival plaklarında bulunmaktadır [124].

Bakteri Plağı

Dental plak; diş yüzeyine sıkıca yapışan, tükürük, dil, dudak ve yanak ile mekanik olarak temizlenmeyedudak, dil, yanak ve tükürük ile mekaniksel olarak temizlenmeyen, su spreyi ile uzaklaştırılamayan, protein ve polisakkaritler içeren, sarı/beyaz ya da gri/beyaz renkli

organik yapılardır. Yapışkan protein ve polisakkaritlerden oluşan bu kitleler içinde çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır [125].

Dental plaktan önce pelikül oluşumu gözlenmektedir. Dişlerin sürmesi ve ağız boşluğuna açılmasından hemen sonra diş yüzeyleri kazanılmış mine pelikülü ile kaplanmaktadır. Mine pelikülünde bulunan hücresiz bazal tabaka tükürükte bulunan bazı proteinler yoluyla hidroksiapatite bağlanmaya yatkındır. Temizlenen diş yüzeyi tükürüğe maruz kaldığında hızla pelikül oluşmaktadır [126].

Mine yüzeyinin korunması ve remineralizasyonunda çeşitli mekanizmalarla rol oynayan pelikül, aynı zamanda ağızdaki bakterilerin diş yüzeyine tutunmasına da yardımcı olmaktadır. Bakteriler elektrostatik kuvvetler, hidrofobik iyon ve Van Der Waals kuvvetleri ile peliküle yapışmakta ve bunun sonucunda da plağın hem kitlesi hem de kalınlığı artmaktadır. Bu bilgiler ışığında bakteri plağının pelikül ve mikroorganizmalar olmak üzere iki bileşenden oluştuğu söylenebilir [126].

Bakteri plağı oluşumu üç safhada gerçekleşmektedir:

- Başlangıç kolonileri safhası: Bu safha dişin mekanik olarak temizlenmesinden sonraki ilk sekiz saat içinde ortaya çıkmaktadır. İlk iki saat içinde hücresiz, yapısız organik film tabakası pelikül, diş yüzeyini tamamen örtebilir. Dişe bitişik yanak ve dil mukozası ile tükürükten kaynaklanan bakteri birikintileri pelikül üzerinde depolanır. Bu safhada oluşan plağa “genç plak” adı verilir [86].
- Üreme safhası: İlk 8 ila 48 saat aralığındaki dönemdir. Başlarda tek tabaka halindeki mikroorganizmalar ilk günün sonunda tüm yüzeyi kaplayarak plaktaki besin maddelerini ve hücreleri kullanırlar. *Streptokok Mutans* başta olmak üzere bir grup mikroorganizma ortamdaki karbonhidratlardan dental plağın matriksini oluşturarak plağın dişe sıkı şekilde yapışmasına yardım eden ekstraselüler polisakkaritleri yaparlar [127]. Bakterilerin diş yüzeyinden dışa doğru olacak şekilde vertikal bir büyüme göstermeleri sonucunda oluşan bu Streptokok hasır, spiraller ve filamentöz bakteriler gibi diş yüzeyine direkt olarak yapışamayan mikroorganizmaların da tutunmasına olanak sağlamaktadır [128].
- Yeniden şekillendirme safhası: “Olgun plak” olarak da adlandırılan bu safha dişin mekanik olarak temizlenmesinden iki gün sonra başlamakta ve tekrar mekanik temizlik

yapılana kadar devam etmektedir. Bu evrede mikroorganizmaların sayısı nispeten sabit kalsa da plağın mikrobiyal kompozisyonu değişmektedir. Başlangıçta plağın neredeyse tamamına hakim olan aerob *Streptokoklar* plak kalınlaştıkça üst tabakalardaki mevcudiyetini sürdürse de diğer bölgelerde yerini anaerob ve flamentöz bakterilere bırakmaktadır. Bu süreçte özellikle Aktinomiçes türlerinin arttığı gözlenmektedir [128].

2.4.3. Çürük oluşumu ile ilgili çevresel faktörler

Diş çürüğü oluşumu için diyetle şeker alımı gerektiği ve bu şekerlerin en önemlilerinin de sükroz olduğu ile ilgili birçok kanıt bulunmaktadır. Sükroz hem karyojenik bakteriler için önemli bir besin kaynağıdır hem de bu bakterilerin diş yüzeyine tutunmalarına yardımcı olmaktadır. Sükrozun diğerlerinden ayrılmasının sebebi bakteri plağının gelişmesinde oynadığı bu roldür [129].

Diyetle alınan farklı gıdaların karyojenik potansiyellerinin birbirinden farklı olmasına, bu gıdaların alım sıklığı, şeker içeriği, viskozitesi ve yapışkanlığı gibi özellikleri sebep olmaktadır [130]. Karyojenik etki gösteren gıdalar olduğu gibi, başta peynir olmak üzere bazı gıdaların da diş çürüğü oluşumunu engellemeye yardımcı olduğu düşünülmektedir. Ancak bu konu hala tartışmalıdır ve açıklığa kavuşmamıştır [131].

Özellikle monosakkarit ve disakkarit gibi ufak moleküllü olan karyojenik gıdalar bakteri plağı içine girerek buradaki asidojen mikroorganizmalar tarafından enerji metabolizmasında kullanılmakta ve bunu sonucunda da organik asitlere parçalanarak çürük oluşumunu başlatmaktadırlar. Aynı zamanda bu organik asitler, tükürükteki bikarbonat ve fosfat iyonları tarafından nötralize edilmekte ve bu sayede ortam pH'ı yükselmektedir. Tükürüğün sıvı özelliği de asidik ortamı seyreltmektedir [127].

2.5. Çürük Derecelerinin Sınıflandırması

Çürük teşhis etmekteki temel amaç, hastaların invaziv ya da non-invaziv tedavi ihtiyacının tespiti ve çürük gelişimi açısından risk grubunda olan bireylerin belirlenmesidir. Çürüğün teşhisi, çürüğün gelişimini önleyecek ya da durduracak koruyucu yaklaşımların uygulanabilmesini mümkün kılmaktadır. Doğru bir çürük teşhisi yapılması aşağıdaki nedenlerden dolayı önemlidir;

1. Uygulanacak tedavinin eksiksiz ve doğru olarak planlanması,
2. Hekimlerin, hastaları ve istekleri konusunda bilgilendirilmesi ve de hastaların en doğru şekilde aydınlatılması,
3. Halk sağlığı ve sağlık hizmetlerinin planlanmasında toplum için bilgi teminidir

Çürük teşhisini etkileyen faktörleri sıralayacak olursak; hastanın anamnezi, klinik ve radyolojik muayene, hastanın diet alışkanlıkları ve tükürük özellikleri sayılabilir [132].

Çürük teşhisinde, detaylı hasta anamnezi ışığında, yardımcı araç ve yöntemler kullanılarak yapılan ilgili dişin klinik muayenesi önem taşımaktadır. Diş hekimliğinde bu amaçla kullanılan pek çok çürük teşhis yöntemi bulunmaktadır. Doğru ve erken konulan bir çürük teşhisi sayesinde dişe uygulanacak olan tedavinin daha koruyucu, invaziv olmayan ya da minimal invaziv olan bir yaklaşımda olması sağlanabilecektir [90].

Diş yüzeylerinin gözle ve ayna, sond yardımıyla dokunsal olarak muayene edildiği görsel muayene yöntemi en yaygın olarak kullanılan çürük teşhis yöntemidir[133]. Görsel muayenede önemli noktalar; iyi bir aydınlatma, ayna ve sondun doğru kullanılması, iyi bir izolasyonla beraber diş yüzeylerinin kurutulmuş olmasıdır. Görsel muayenede, diş dokusunun renk, saydamlık ve sertlik gibi özelliklerindeki değişiklikler klinik olarak gözlemlenir [134,135].

Bu yöntem kullanılarak yapılan muayene esnasında bakterilerin yayılımına sebep olmamak için keskin uçlu bir sond yerine künt uçlu bir sondun kullanımı ve uygulanan basıncın şiddetine dikkat edilmelidir. Aksi bir durumda lezyonun ilerlemesine neden olunabilir [132].

Göz ve sond kullanılarak yapılan muayene prosedüründe standardizasyonu sağlamak için kullanılan sınıflandırmaları sıralayacak olursak, bunlar;

- Nyvad,
- Uluslararası Görsel Skorlama Sistemi (Universal Visual Scoring System, UniVISS)
- Uluslararası Çürük Teşhis ve Değerlendirme Sistemi (International Caries Detection and Assessment System, ICDAS)

Bu sınıflandırmaların her biri için farklı skorlama kriterleri bulunmaktadır. Skorlama kriterleri farklı olsada temel amaçları uluslararası alanda kabul gören değerlendirme ölçütlerinin oluşturulması ve de klinisyenler, epidemiyologlar ve araştırmacılar için kanıta dayalı bir çürük tespit imkanının sunulmasıdır [134,136-138].

2.5.1. International caries detection and assessment system (ICDAS)' in gelişimi

ICDAS adı verilen sistem, mevcut sınıflandırmaların özelliklerinin geliştirilmesi ve birleştirilmesi ile geliştirilmiştir. ICDAS planlamasının amacı, diş sağlığı ve diş çürüğünün uygun tanı, prognoz ve klinik yöntemi konusunda hem bireysel hem de halk sağlığı boyutunda kararlar verebilmek için daha kaliteli bilgi elde etmektir. Bu sayede ICDAS, uzun vadede sağlıklı sonuçlar elde edebilmek için gerekli olan çürük yönetimine kaynak oluşturabilir [139].

ICDAS kriterlerinin 2005 yılında yapılan değerlendirilmesi sonrasında mevcut kriterlerin çürük değerlendirmesindeki eksiklikleri tespit edilerek geliştirilmiş ve ICDAS kriterleri oluşturulmuştur. 2005 senesinde kabul edilen bu sınıflandırmada üzerinde plak olmayan temiz diş yüzeyinde hem kuru hem de nemli şartlarda, klinik ve histopatolojik durum arasında ilişki kurulmasına imkan sağlayan, güvenilir çürük teşhisinin yapılabilmesi amaçlanmıştır [140].

Klinik çürük teşhisiyle ilgili tüm literatürlerin sistematik bir incelemesi sonucunda çürük sürecinin nasıl ölçüldüğü ve çürüğün ölçülmesine yönelik araştırma kriterleri arasında tutarsızlıklar olduğu görülmüştür. Çürük sınıflamasını araştırabilmenin, uygulayabilmenin ve bu konuda eğitim verebilmenin geleceği için bu tutarsızlıkların giderilmesi gerekmektedir. Bu sebeple, çürük sürecini ölçmek için tek tip bir sistem geliştirilmenin gerekli olduğuna karar verildi. Tüm çalışmaların sonucunda elde edilen kanıtların birleştirilmesiyle geliştirebilecek entegre ve tek tip bir sistem, farklı çalışmalardan elde edilen çürük verilerinin karşılaştırılabilirliğini sağlayabilir. Bu sayede hastalığın mevcut hali en etkin şekilde değerlendirilebilir, en doğru tanı, prognoz ve tedaviye karar verilebilir. Bu doğru değerlendirmeler neticesinde önemli tedavi yöntemleri geliştirilebilir [139,141,142].

Sistematik bir literatür incelemesi sonucunda araştırma kriterleri arasında tutarsızlıklar olduğu belirlenmiştir. Bunun sonucunda mevcut sistemlerin sadece kavite olmuş lezyonlar için uygulanabileceğini gösterilmiştir [143,144]. Bunun yanısıra, yalnızca kavite olmuş lezyonları bir sonuç ölçütü olarak görmenin modası geçmemiştir [143,145].

Çürük lezyonların erken bir aşamada tespit edilmesi halinde koruyucu tedavilerle kontrol edilmeleri mümkündür. Tedavi maliyeti de böylelikle düşmektedir [144,146]. Yeni ve entegre sistem daha geniş bir bilgi sağlamaktadır. Böylelikle her aşamada çürük tespit

edilebilir ve çürük aktivitesi izlenebilir. Ayrıca çürük lezyon üzerindeki materyalin etkisi net bir şekilde belirlenebilmektedir [139].

Tüm bu ihtiyaçların bir sonucu olarak, aşağıdaki soruların cevaplarını ele almak için bir ihtiyaç vardır. “Çürük sürecinin hangi aşaması ölçülmeli?”, “Seçilen her aşama için tanımlamalar nelerdir?”, “Farklı diş yüzeylerinde her bir aşamayı tespit etmek için en iyi klinik yaklaşım nedir?” ve “Hangi denetçi eğitimi protokolleri? en yüksek düzeyde denetçi güvenilirliği sağlayabilir mi? ” Bunlar ICDAS'ın tartışmasını başlatan ilk sorulardır. 2002 yılında İskoçya'da yapılan ilk kongre bu sürecin ilk ayağı oldu. Bu kongrede, mevcut sistemlerin sorunları ve yeni sistemin sahip olması gereken özellikler tespit edildi. Sonrasında Michigan'da, ilk oturumda belirlenen entegre sistemin kriterlerini geliştirmek için ikinci bir oturum yapıldı. Oturum sonucunda, ICDAS kriterleri (ICDAS I) oluşturulmuş oldu. Bu kriterler iki gruba ayrılır: çürük tespit kriterleri ve çürük aktivite kriterleri. Komite, ICDAS çürüğü tespit kriterlerinin daha geniş kullanıma hazır olduğunu, ancak çürük aktivite kriterlerinin halen genişlemekte olan bir araştırma ortamının bir parçası olduğunu bildirdi. Üçüncü bir toplantı 2003'te Indiana'da, söz konusu kriterleri değerlendirmek amacıyla yapıldı ve Danimarka'da da dördüncü bir toplantı yapıldı. Bu nedenle, ICDAS II çalıştayını ICDAS kriterlerinde kaydedilen ilerlemeyi paylaşmak ve daha geniş bir uluslararası uzmanlık girdisi elde etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir [138] .

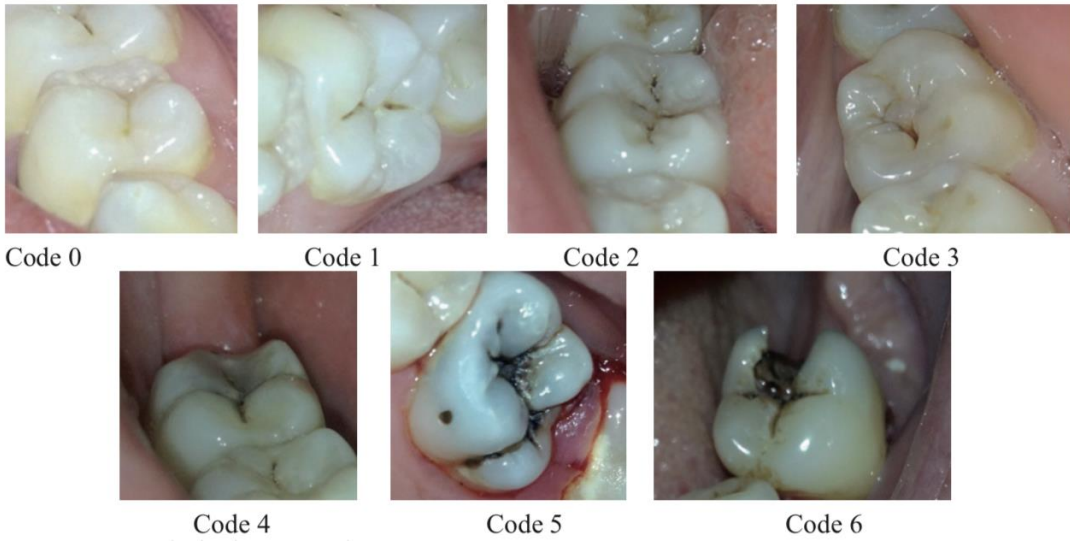
2.5.2. ICDAS II kriterleri

ICDAS, yüzey özelliklerine dayanarak yüzey değişikliklerini ve çürük lezyonlarının potansiyel histolojik derinliğini ölçmektedir. ICDAS kriterleri iki kategoriye ayrılır: koronal primer çürük ve kök çürüğü. Çürük tespit kodlaması ve çürük aktivite kodlaması ayrı yapılmalıdır. ICDAS II sistemi, birincil koronal çürüklerin tespit kriterleri için iki basamaklı kodlamaya sahiptir. Birincisi, dişlerin restorasyonu ile ilgilidir ve 0 ila 9 arasında değişen bir kodlamaya sahiptir (Çizelge 2.2). İkinci kodlama 0-6 arasındadır (Çizelge 2.3). Kök çürüğünün kodlaması kod E-kod 0-kod 1-kod 2 şeklindedir (Çizelge 2.4) [135].

Çizelge 2.1. ICDAS II kriterleri

Skor 0	Sağlıklı diş yüzeyi (5sn süreyle hava kurutması ardından çürük bulgusu olmaması)
Skor 1	Minede ilk görsel değişiklikler (pit ve fissürlerde, nemliyken görünmeyen ancak diş kurutulduktan sonra gözlemlenen renk değişikliği ya da opaklık)
Skor 2	Minede belirgin değişiklikler (pit ve fissürlerde, hem nemli hem kuruyken gözlenebilen renk değişimi ya da opaklık)
Skor 3	Dentinin görünmediği çürüğe bağlı bölgesel mine yıkımı (hem nemli hem kuruyken gözlemlenen pit ve fissürlerden daha geniş bir yayılım gösteren renk değişimi ya da opaklık)
Skor 4	Dentinden gözlenen koyu renkte gölgelenme (mine yıkımı yok)
Skor 5	Dentininde dahil olduğu gözle görülen kavite oluşumu (demineralizasyon ve dentinin açığa çıkmasının çıplak gözle görülebilmesi)
Skor 6	Dişin yarısından fazlasını içeren dentinin gözlemlendiği geniş kavite varlığı

Kabul edilen ICDAS II çürük değerlendirme kriterleri Çizelge 2.1’de görseli de Resim 2.2’de gösterilmektedir.



Resim 2.2. ICDAS II sınıflamasının görseli [147].

Çizelge 2.2. ICDAS II' nin Restorasyonlu Dişler İçin Önerilen Kodlama Yöntemi

0 Sealantsız ve Restorasyonsuz Yüzey	5 Paslanmaz Çelik Kron Bulunan
1 Kısmi Sealant Bulunan	6 Porselen Veneer Bulunan
2 Tamamen Sealant Bulunan	7 Kayıp ya da Hasarlı Restorasyon
3 Kompozit Restorasyon Bulunan	8 Geçici Restorasyon
4 Amalgam Restorasyon Bulunan	9 96: Diş Yüzeyi Bulunamayan 97: Çürük Nedeniyle Kayıp Diş 98: Çürük Dışı Nedenlerle Kayıp Diş 99: Sürmemiş Diş

Çizelge 2.3. ICDAS II 'de koronal çürükler için ikinci kodlama

0 Sondlamada Minede Değişiklik Yok
1 Başlangıç Mine Çürüğü
2 Minede Belirgin Değişiklik
3 Dentin Tutulumu Olmadan Mine Dokusunun Bozulması
4 Klinik Görsel Olmadan Altan Etkilenen Dentinin Yansıdığı Mine Dokusunun Bozulması
5 Dentin Yıkımı Bulunan Çürük Kavitesi
6 Derin Dentin Çürüğü

Çizelge 2.4. ICDAS II 'de kök çürüğü sınıflaması

Kod E Kök yüzeyi doğrudan gözlenemez
Kod 0 Kök yüzeyi, onu çevreleyen kök alanlarından ayıran herhangi bir olağandışı renk değişikliği göstermez ve sementenamel birleşim yerinde veya kök yüzeyinde bir yüzey kusuru sergilememektedir. Kök yüzeyi doğal bir anatomik kontura sahiptir
Kod 1 Kök yüzeyinde veya sement-mine birleşim noktasında, rengi bozulmuş, ancak kaviteasyon anatomik kontur kaybı <0.5 mm olmayan sınırlı bir alan bulunması
Kod 2 Kök yüzeyinde veya sementoenamel birleşim yerinde sınırlı bir alan vardır ve kaviteasyon anatomik kontur ≥ 0.5 mm kaybı bulunması

2.6. Çürük Candida İlişkisi

Son yıllarda mantar enfeksiyonu görülme sıklığı birçok ülkede artmıştır. Oral kavitede ise stomatite ek olarak kök kanal enfeksiyonları gibi farklı alanlarda da mantar enfeksiyonuna rastlanmaktadır [131].

Her ne kadar önlenebilir olsa da, dişlerde asit üreten mikroorganizmaların spesifik olmayan bir şekilde birikmesi sonucunda oldukça spesifik ve karmaşık bir mikrobiyal süreç sonucunda meydana gelen kronik ve multifaktöriyel bir hastalık olan diş çürüğü halk sağlığı için önemli bir sorun oluşturmaktadır. Sıklıkla çocuklar ve gençler olmak üzere nüfusun neredeyse % 90'ını etkilemekte, gelişimlerini ve yaşam kalitelerini tehlikeye atmaktadır [131].

Diş çürüğünün oluşumunda ve gelişiminde *Streptokok Mutans* ile birlikte diğer koklar rol almaktadır [148]. Ancak çürük etiyojisiindeki rolü tam olarak belirlenmemiş olsa da *Candida Albicans*'ın karyojenik bir potansiyele sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [149-151]. Maya hücreleri her ne kadar asidojenik mikroorganizmalar olsalar da, birincil çürük oluşum sürecinin maya hücrelerinin varlığına bağlı olduğuna dair henüz bir kanıt ortaya konulamamıştır [152,153].

Karyojenik biyofilmlerin oluşumunda *Streptokok Mutans* ve *Laktobasil* türlerine ek olarak başka mikroorganizmalar da rol almaktadır. Diş çürüğü tespit edilen çocuklardan elde edilen biyofilm / dental plaklarda *Streptokok Mutans* ile birlikte *Candida Albicans*'a da sıklıkla rastlanmaktadır [9,154,155].

Candida Albicans normalde mukozal enfeksiyonlara (oral kandidiyaz) neden olmak için komensal *Streptokok*larla etkileşime girerken, dişlerde kendi başına etkili bir şekilde kolonize olmadığı için esas olarak oral mukozaya veya akrilik yüzeylere yapışmaktadır. Bu yüzden dental plaktan *Streptokok Mutans* ile beraber izole edilmesi karyojenik etki gösterdiğini düşündürmektedir [156,157].

Erken çocukluk çürükleri (ECC) ABD'de ve dünya genelinde çocukları <6 yaş şekilde etkileyen en yaygın çocukluk çağı oral hastalığıdır. Ayrıca, erken çocukluk çürükleri 3 yaşından küçük çocuklarda ve 4-6 yaş arası çocuklarda yüksek oranda çürük skorları ile ortaya çıkmaktadır [158]. ECC çoğu zaman hızla ilerleyip süt dişlerinin yaygın ve ağırlı bir şekilde kaybına yol açabilmektedir. ECC tedavisi çoğunlukla hastane ameliyathanesinde genel anestezi altında sağlanmaktadır. Bu nedenle, ECC tedavisiyle ilişkili maliyetler önemli bir halk sağlığı gideri oluşturmaktadır [159].

Çocuklarda gözlenen diş çürükleri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için ortak ve ciddi bir halk sağlığı sorununu temsil etmektedir. Erken dönemde gözlenen diş çürüğünün öne çıkan predispozan faktörleri ise beslenme alışkanlıkları ve erken dönem *Streptokok Mutans* enfeksiyonlarıdır [160].

Çocuklarda görülen diş çürüklerinin mikroflorası üzerine 1980’lerde başlayan araştırmalarda *Streptokok Mutans* baskın mikroorganizma olarak öne çıksa da *Candida* spp., *Lactobacillus* spp., *Actinomyces* spp. ve *Veillonella* spp gibi diğer türler de o zamandan günümüze kadar yapılagelen çalışmalarda izole edilmeye devam etmiştir. Kesitsel çalışmaların *Streptokok Mutans* ve Laktobasiller üzerine odaklanma sebebi bu mikroorganizmalara markır olarak bakılmasıdır [161].

Karbonhidrattan zengin diyet alışkanlığı, her biri çürüğün başlangıcı ile ilişkili birincil faktörlerden olan asidojenik-asidik mikrobiyotanın daha da gelişmesini ve *Streptokok Mutans* gibi karyojenik bakterilerin diş dokuları üzerinde kolonizasyonunun artmasını tetiklemektedir [162].

Son dönemde yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular, çocuklardaki diş çürüğü ile ilişkili mikrobiyomun mantar türlerini de içerebileceğini düşündürmektedir. Diş çürüğü tespit edilen bebeklerden elde edilen tükürük ve dental plak örneklerinde *Candida Albicans*’ın sıklıkla yüksek sayıda tespit edildiğini ve varlığının hastalığın derecesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir [4,9]. Buna karşın, ağızda diş çürüğü tespit edilmeyen bebeklerde ise *Candida Albicans* sporadik olarak tespit edilmiştir. Küçük yaştaki çocuklarda oral pamukçuk gibi *Candida* ile ilişkili durumların erken teşhisinin çürük oluşumu için tanımlanabilir bir risk faktörü olup olmadığı araştırılması gereken bir konu olarak ortaya çıkmıştır [5,155,163].

Candida Albicans’ın çocuklarda gözlenen diş çürüğü patogenezindeki rolü halen belirsizliğini korumaktadır. Yapılan çalışmalarda çocuklarda çürük varlığı ile oral *Candida* taşıyıcılığı arasında potansiyel bir pozitif ilişkiye işaret etmektedir. Bu oran diş çürüğü gözlenen çocuklarda % 89’ a kadar çıkarken, çürük gözlenmeyen çocuklarda ise % 2–22 aralığındadır [4,155,164,165].

Ayrıca, çürük modelleri kullanılarak kemirgenler üzerinde yapılan in vivo çalışmalar, özellikle *Streptokok Mutans* ile beraberken *Candida Albicans*’ın karyojenik potansiyelini

gösterilmiştir [166]. Çocuklarda deneysel koşullar altında şeker açısından zengin bir diyetle uzun süre maruz kalma sonucunda yaygın çürüklere yol açtığı gösterilmiştir [167]. Bunların aksine yapılan bazı klinik çalışmalar ise diş çürüğü olmayan ve çürük aktif olan popülasyonlar arasındaki oral *Candida* prevalansında önemli farklılıklar olmadığını ve *Candida Albicans* ile çürük riski arasında pozitif bir ilişki bulunmadığını bildirmiştir [168-170].

Son dönemde 12–71 aylık sağlıklı çocuklarda yapılan bir çalışmada ise çürük durumundan bağımsız olarak tükürükteki *Candida Albicans* prevalansının % 100 olduğu gösterilmiştir [169]. *Candida* türlerinin duyarlı konakçılarda oral mukozayı spesifik olarak enfekte edebildiği ve kolektif olarak oral kandidiyoz veya kandidiyaz adı verilen bir dizi klinik patolojiye yol açabileceği bilinse de çürük oluşumunda etiyolojik bir rolü olup olmadığı tartışmalıdır [41,171]. *Candida*'nın potansiyel karyojenik rolünü destekleyen kanıtlar artmaktadır. Yapılan çalışmalarda dentin çürüklerinde *Candida* varlığı tespit edilmiş ve *Candida* varlığıyla diş çürüğü arasında ilişkili olduğu, özellikle de süt dişlerinde etkili olduğu bildirilmiştir [164,172,173].

Candida Albicans'ın in vitro olarak hidroksiapatiti ayrıştırma becerisinin *Streptokok Mutans*'tan 20 kat daha üstün olduğu ve ratlarda deneysel olarak çürük oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. Bu nedenle, *Candida*'nın karyojenik potansiyeli gözardı edilmemelidir [150,174].

Candida türleri, proteinleri ve hücre dışı matrisi parçalamak, hücre dışı enzimleri üretmek için diş yüzeylerine yapışmak, ağız mukozasında kolonize olmak ve karbonhidratları fermente etmek (hücre asiditesine katkıda bulunmak), gibi çürük oluşumunda rol oynayan virulans faktörlere sahiptir. Ancak, *Candida* türlerinin etkinliği çürük lezyonunun başlangıcında ve ilerlemesinde belirsiz kalmaktadır [10,175].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Tez çalışması planlandıktan sonra Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği' ne başvuran hastalardan kriterlerimize uygun olanlardan örnek alabilmek amacıyla Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Kayıt no:GÜDHKA EK18.7/6).

3.2. Çalışma İçin Gerekli Hasta Sayılarının Belirlenmesi

Candida türü herhangi bir mikroorganizmanın üreme sıklığı açısından çürük lezyonu olan grup ile çürüksüz grup arasında en az % 25'lik bir farkın, % 80 güç ve % 5 yanılma düzeyinde istatistiksel olarak önemliliğini test edebilmek için grupların her birine en az 32'şer olgunun alınması öngörülmüştür. % 25'lik fark bilgisine klinik öngörülerden yola çıkılarak ulaşılmıştır. Örneklem genişliği hesaplamaları NCSS & PASS 2000 istatistik paket programında yapılmıştır.

3.3. Örneklerin Klinikte Toplanması

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı kliniğine başvuran hastalardan çalışmaya dahil edilecek hastalar tek bir diş hekimi tarafından ayna ve sond ile muayene edilip ICDAS II kriterine göre;

- ICDAS II skor 0 çürüksüz
- ICDAS II skor 2-3 orta derece çürüklü
- ICDAS II skor 4-6 şiddetli derecede çürüklü olmak üzere üç ana gruba ayrılmıştır.

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- Sistemik olarak sağlıklı
- 6 ila 11 yaş aralığında karışık dişlenme döneminde olması
- Son 6 ay içinde antibiyotik veya antifungal tedavisi almamış olması

Çalışmaya dahil etmeme kriterleri ise;

- Önceki 6 ay içinde antibiyotik veya antifungal tedavi almış olması
- Alerji

- Diyabet gibi kronik hastalıkların varlığı
- Tükürük akışını etkileyen bir sistemik durumun varlığı olarak belirlenmiştir.

Hasta ve kontrol grupları oluşturulurken cinsiyet durumu istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturulmadan belirlenmesine dikkat edilmiştir. Belirlenen hastalara standart oral hijyen alışkanlığı 1 hafta önceden anlatılmıştır.

Sabah 10 – 12 saatleri arasında 2 saat açlık durumunda iken pasteur pipetle 2 ml uyarılmamış tükürük örnekleri toplanmıştır. Örnekler, 4°C'de tutulan steril plastik şişelere yerleştirilmiş ve hemen mikrobiyolojik analiz için Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına götürülerek mikrobiyolojik işlemler bekletilmeden yapılmıştır.

3.4. Mikrobiyolojik İşlemler

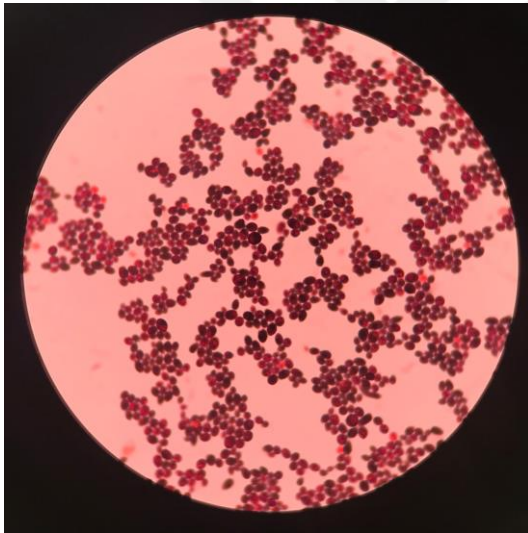
Hastalardan toplanan bir mililitre uyarılmamış tam tükürük 30 dakika boyunca bir vorteks (Biosan, Litvanya) kullanılarak homojenize edilmiştir ve daha sonra fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS; 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄ ve 2 mM KH₂PO₄, pH7.4) kullanılarak seyreltilmiştir.

Seyreltilmemiş uyarılmamış tam tükürüğün 100 ul'lik miktarı ve (1:10 hacim/hacim) oranında seyreltilmiş miktara denk gelecek şekilde), içine tetrasiklin eklenmiştir (50mg/mL). Sabourraud dekstroza agar (SDA, Merck, Almanya) besiyeri üretici firmanın talimatlarına göre hazırlanmıştır. Besi yerine her örnek için bir tanesi 37°C'de 48-72 saat süre ile diğeri ise 23°C'de olmak üzere aerobik ortamda kültürleri yapılmıştır.

İnkübasyon periyodu sona erdikten sonra, *Candida* türleri (spp.) kolonilerine benzeyen fenotipik olarak farklı izolatlar seçilmiştir. Daha sonra konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle (Şekil 3.2) mantar olarak düşünülen koloniler SDA'ya tekrar ekilmiş (Şekil 3.1) ve üreyen kolonilerin saflık kontrolü için *Candida* CHROMOGENIC agar (Conda, İspanya) besiyerine ekilerek aynı koşullarda üretilmiştir. Üreyen koloniler tür tayini için konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle (koloni morfoloji, dimorfizm, Gram boyanma özelliği, germ tüp özelliği vb.) ile tiplendirilmiştir. Ayrıca API ID 32C (Biomérieux, France) kiti kullanılarak tür tayini yapılmıştır. Bunun yanı sıra *Candida Albicans* ve Non *C. albicans* olarak ayrılan türler DNA sekans analizi metodu için hazırlanmıştır.



Resim 3.1. Sabaroud dekstroz agarda üreyen mantar görüntüsü



Resim 3.2. Mantarın mikroskop görüntüsü

3.5. Moleküler Çalışmalar

Tez çalışmasının moleküler çalışma kısmı özel bir labaratuvardan BAP projesi kapsamında hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. (SYN Biyoteknoloji ve Dış Tic. Ltd. Şti)

3.5.1. Mantardan DNA izolasyonu

1 ml TE tamponu içindeki mantar süspansiyonu 6500 devir/ dakika hızda 5 dakika süreyle santrifüj edilmiş (Eppendorf, Almanya) ve üst sıvı atılmıştır. Mantar peleti 3 kez TE

(100mM Tris-C ve 10mM EDTA (pH 8.0) tamponu ile yıkanmıştır. Yıkama sonunda 100 µl TE içinde süspanse edilen mantar kolonileri GENESpin (Eurofins GeneScan GmbH, Freiburg, Almanya. Cat. No. 5224400605) ticari DNA izolasyon kiti kullanılarak izole edilmiştir.

İzolasyon Protokolü

1. Örnekler homojenize edilmiştir.
2. Hücrelerin lizisi: ticari kitin önerdiği 2ml'lik toplamalama tüplerinde 550 µl lizis buffer içinde 10 µl proteinaz K eklenerek ve 2 - 3 sn karıştırılarak 65°C'deki kuru ısı bloğunda 30 dakika bekletilerek yapılmıştır. Sonra tüpler 10 dk 10000 x g devirde karıştırılmıştır.
3. DNA'ların bağlanma şartlarının oluşturulması: tüplerdeki süpernatant yeni bir santrifüj tüpüne alınarak 300 µl örneğe buffer artı 300 µl etanol eklenerek 30 saniye vorteks ile karıştırılmıştır.
4. DNA'ların bağlanması: her bir örnek için 2 ml toplama tüpü içine Genespin kolon 700 µl örnek konulmuştur. 1 dakika süre ile 11000 x g'de santrifüj edilmiştir. Tüpün altındaki sıvı atılmıştır.
5. Yıkama ve kurutma:
 - a. Birinci Yıkama Aşaması: Genespin kolon üzerine 400 µl tampon eklenmiş 1 dakika süre ile 11000 x g'de santrifüj edilmiştir. Altındaki sıvı atılmıştır.
 - b. İkinci Yıkama Aşaması: Genespin kolon üzerine 700 µl yıkama tamponu konulmuş 1 dakika 11000 x g'de santrifüj edilmiştir. Altındaki sıvı atılmıştır.
 - c. Üçüncü Yıkama Aşaması: Genespin kolon üzerine 200 µl tampon sıvısı eklenerek 2 dk 11000 x g'de santrifüj edilmiştir. Altındaki toplama sıvısı atılmıştır.
6. DNA toplanması: genespin kolon yeni bir 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne konulmuştur. Önceden 70 dereceye ısıtılmış 100 µl elüsyon sıvısı membran üzerine konulmuştur. 18-25 derecelik oda ısısında beklenmiştir. Daha sonra 11000 xg'de 1 dakika santrifüjlerek dna örnekleri tüp içinde toplanmıştır.

96°C'de 15 dakika kaynatılmıştır. Kaynatma işleminin ardından hücresel artıklar 13.000 devir/dakika hızında 10 dakika santrifüj edilerek çöktürülmüş, üstte kalan sıvı polimeraz zincir reaksiyonuna kalıp DNA olarak kullanılmak üzere temiz tüplere aktarılmıştır.

Örneklerden Elde Edilen DNA Miktarının Ölçülmesi

Örneklerdeki DNA'lar Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, Amerika) cihazı kullanılarak iki farklı dalga boyunda (260- 280/ 230 - 280 nm) ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

3.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) İle çoğaltma aşaması

Çalışma kapsamında alınan mantar örneklerinin PZR' si için kullanılan primerlerin dizileri aşağıda verilmiştir:

ITS 1 (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCA-3')

ITS 4 (5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3')

Kullanılacak primerler 10 pmol/μl olarak hazırlanmıştır.

Stok olarak hazırlanan primerler 1μL primer + 9 μL su olacak şekilde sulandırılmıştır.

PZR' de kullanılan master mix içeriği aşağıdaki gibidir:

- 2,5 uL (taq buffer)
- 1uL forward primer (10pmol/uL)
- 1 uL reverse primer (10pmol/uL)
- 0,5 uL Taq polimeraz
- 0,5 uL dNTP (2,5mM each)
- 3 uL MgCl₂ (25mM)
- 3 uL (DNA) (25ng/uL'den 3uL=75ng totalde)
- 13,5 uL su

Son hacim 25uL olacak şekilde ayarlanmıştır ve ısı döngüleri;

- 95°C - 8 dakika
- 95°C - 10 saniye
- 57°C - 30 saniye
- 72°C - 30 saniye

35 – 40 döngü olacak şekilde uygulanmıştır. Önce 35, eğer bantlar zayıf ise 40 döngü uygulanmıştır.

- 72°C - 8 dakika
- +4°C – sonsuz bekleyecek şekilde ısı döngü 40 döngü üzerinden tamamlanmıştır.

Bu işlemler Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, Amerika) (Resim 3.3) cihazında yapılmıştır.



Resim 3.3. Thermal cycler cihazı

3.5.3. PZR ürünlerini %1,5'luk Agaroz Jelde yürütülmesi ve görüntülenmesi

PZR sonrası ürünlerin %1,5'luk agaroz jelde Tris-Borik asit-EDTA tamponunda elektroforezi yapılmıştır.

1. Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) 5x Stok Çözeltisinin Hazırlanması: TBE 5x stok çözeltisi için 800 ml deiyonize suda 54 g Tris-baz, 27,5 g borik asit ve 20 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) çözümü, çözelti deiyonize su ile 1 litreye tamamlanmıştır.
2. % 1,5 (Ağırlık/ Hacim) Agaroz Jelin Hazırlanması: 5 x TBE çözeltisi, deiyonize su ile 1 x çalışma konsantrasyonuna seyreltilmiştir. 1,125 g elektroforez saflığında toz agaroz (Sigma, Almanya) 75 ml 1x TBE tampon içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyon mikrodalga fırında kaynamayacak şekilde ısıtılarak agaroz tamamen eritilmiştir. 55⁰ C ye soğutulan agaroz eriyiği, tabaklara dökülmüştür. Yaklaşık 45 dakika oda sıcaklığında polimerize olması beklenen jel, 1x TBE tampon ile doldurulmuş olan elektroforez tankının içine alınarak 10 dakika tampon ile dengelenmiştir.
3. Elektroforez İşlemi: Herbir reaksiyon tüpünden 2 µl ürün, 2 µl 2,5 mg/ml Orange G Loading Dye (Thermo Fisher Scientific, Amerika) (Şekil 3.4), 1x TBEVE % 30 (hacim/hacim) gliserolden oluşan yükleme tampon ile karşılaştırılarak agaroz jelin

kuyucuklarına yüklenmiştir. Yapılan her sıra yükleme için en az bir jel kulvarı 100 bç merdiven DNA ağırlık standardı ile yüklenmiştir (SeeGene, ABD). Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra, 5 V/cm jel uzunluğu potansiyel farkı ile 45 dakika elektroforez yapılmıştır.

4. Jellerin Boyanması ve Görüntülenmesi: Elektroforez işlemi sonrası DNA bantlarının görüntülenmesi amacı ile jel 0,5 µg/ ml etidyum bromür içeren 1x TBE çözeltisi içinde 15 dakika boyanmıştır. Boyanma işlemi sonunda boyama tankından çıkarılan jel 1x TBE ile kısaca yıkandıktan sonra 305 nm dalga boyunda mor ötesi ışık altında görüntülenmiş ve kaydedilmiştir (Syngene Bio Imaging, Ingenius, İngiltere). DNA moleküler ağırlık standardı ile karşılaştırıldığında, 600 – 1500 bç ağırlığındaki bantlar özgül çoğaltma ürünü olarak kabul edilmiştir.

3.5.4. Saflaştırma işlemi

5µl PZR ürünü + 2µl Exosap-İt reaktifi ile enzimatik temizleme yapılmıştır. Bunun için;

- 37°C – 30 dakika (temizleme)
- 80°C – 15 dakika (denaturasyon)
- 4°C de saflaştırmaya kadar beklemiştir.

PZR ile çoğalma ürünü elde edildiği saptanan tüpler, DNA saflaştırma işlemine alınmıştır. Bu amaçla ticari bir PZR temizleme kiti (Exosap-It, Türkiye. Cat. No.78200) kullanılmıştır.

İşlem sonunda filtre kolonları atılmış, saflaştırılmış ürünler sekans reaksiyonunda kalıp DNA olarak kullanılmak üzere saklanmıştır.

3.5.5. Saflaştırılmış PZR ürünlerinin kontrolü

Sekans reaksiyonları gerçekleştirilmeden önce, saflaştırma işlemi sırasında oluşabilecek DNA kaybı ve yetersiz saflaştırma gibi olumsuzluklara karşı saflaştırılan ürünler bir kez daha % 1,5' luk agaroz jelde yürütülerek, etidyum bromürle boyanıp, 305 nm dalgaboylu mor ötesi ışık altında görüntülenmiştir. Beklenen boyutta, saflaştırma öncesi bandından en az % 80' i kadar parlak ve primer bantlarından temizlenmiş olan saflaştırma ürünleri sekans analizine alınmıştır.



Resim 3.4. Jel elektroforez cihazı

3.5.6. DNA dizi analizi için Sekans reaksiyonu

- Döngüsel dizleme (Cycle sequencing) reaksiyonu 1 x (2 μ L) BigDye Terminatör V 3.1 ile "x5 cyle sequencing" tamponu (Applied Biosystems, Amerika), 3,32 pmol/uL'lik oligonükleotid primeri, kalıp DNA olarak 2 μ l saflaştırılmış PCR ürünü ve son hacim 5 μ l olacak miktarda PZR saflığında su içeren tüplerde gerçekleştirilmiştir.
- Sekans için master mix oranları aşağıda verilmiştir.
- 2uL (x5 sequencing buffer)
- 2uL (forward primer 3,32pmol)
- 2uL (Su)
- 2uL (bigdye)

Hazırlanan tüpler 25 döngü boyunca 96⁰ C' de 1 dakika, 96⁰ C'de 10 saniye ve 50⁰ C' de 5 saniye, 60⁰C 4 dakika ve 25 döngü bitiminde +4 dercede digger işlemler için bekletilmiştir. Elde edilen döngüsel dizileme ürünleri ya hemen presipitasyon işlemine alınmıştır, ya da prespite edilene kadar en fazla 2 hafta olmak üzere 20⁰ C' de saklanmıştır.

3.5.7. Cycle sequencing ürünlerinin temizlenmesi (Sephadex G50-Fine)

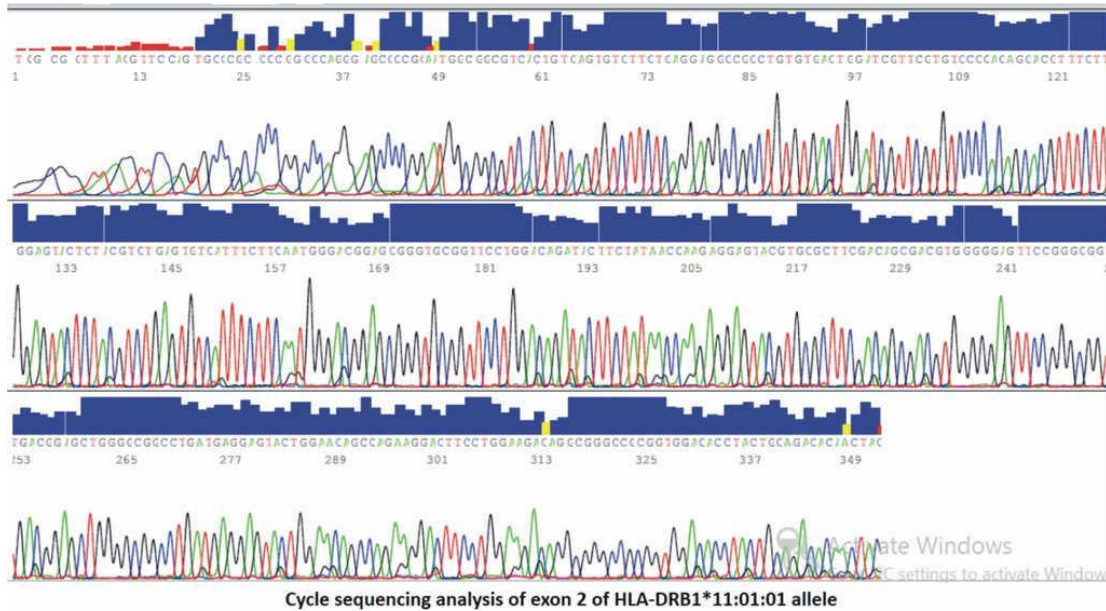
Bu işlem için sefadex g50 fine reaktifi, DNaz RNaz su ve reseiver coloumn kullanılmıştır.

1gr sephadex yaklaşık 9-11 mL suda ara ara çalkalanarak 30 dk kadar bekletilmiştir. Bu arada receiver kolonlar hazırlanıp isimlendirilmiştir ve arkalarındaki tipalar çıkartılmıştır. Bu karışım daha sonra kolonlara 750 uL miktarda yüklenmiş ve 4600 RPM'de (2 dakika santrifüjlenmiştir. Kolonların altı atılmıştır, yerlerine 1.5 mL'lik ependorf tüp konulmuştur.

Kolonların içinde artık bir yapı bulunmaktadır. Cyclesequencing ürünlerinin tamamı (10 uL) bu yapının tam ortasına nazikçe konulmuştur. Bu tüpler 4800 RPM’de 2 dakika santrifüjlendirilmiştir. Bu işlem sonunda 1.5 uL’lik tüplerin dibindeki DNA ürünü saflaştırılmıştır. Bu DNAlar cihaza (Thermo Fisher 3500, Amerika) (Şekil 3.5) yüklenmiştir, uygun protokolde yürütülmüştür ve analizi (Şekil 3.6) yapılmıştır.



Resim 3.5. 3500 sequencing cihazı



Şekil 3.6. DNA Sequencing sonuç görseli

3.6. İstatistiksel Yöntem

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk ve Kolmogrov-Smirnov testleri ile incelendi. Gruplara göre kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve Fisher's Exact kullanıldı. İkili gruplara göre normal dağılan yaşın karşılaştırılmasında Bağımsız iki örnek t testi kullanıldı. Üç ve üzeri gruplara göre normal dağılan yaşın karşılaştırılmasında Tek yönlü varyans (ANOVA) analizi kullanıldı. Analiz sonuçları nicel veriler için ortalama $\pm$ s. sapma ve ortanca (minimum - maksimum) şeklinde, kategorik veriler için frekans (yüzde) olarak sunuldu. Önem düzeyi $p<0,05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

Çalışmamızda 6-11 yaş grubundaki çocuklarda tükürükte bulunan *Candida Albicans* ve diğer Non-*Candida Albicans* türlerinin tanımlandırılması, çürük ile ilişkisi ve prevalansı değerlendirilmiştir.

4.1. Demografik Verilere Göre Bulgular

Çalışmamızda 6-11 yaş aralığında toplam 92 çocuk hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 92 hasta önce çürüklü ve çürüksüz olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Çürüklü hasta grubuna dahil edilen hastalar ICDAS II kriterlerine göre seçilmiştir. Bu gruplarda ICDAS II sınıflamasına göre belirlenmiş ICDAS II skor 2- 3 orta derecede çürüklü ve ICDAS II skor 4-6 şiddetli derecede çürüklü olarak tekrar iki alt gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Buna göre;

- Grup 1 ICDAS II skor 0 Çürüksüz
- Grup 2a ICDAS II skor 2-3 Orta derecede çürüklü
- Grup.2b .ICDASnIIIskor 4-6 Şiddetli derecede çürüklü olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur.

Çalışmaya dahil edilen hastalarda cinsiyet seçimi rastgele olmuştur. Çalışmaya katılan hastalardan;

1. ICDAS II skor 0 grupta 18' i kız 14' ü erkek
2. ICDAS II skor 2-3 grupta 8' i kız 9'u erkek
3. ICDAS II skor 4-6 grubunda 26'i kız 17'si erkektir.

Gruplara ve alt gruplara göre hastaların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p>0,05$) (Çizelge 4.1.)

Çizelge 4.1. Gruplara ve alt gruplara göre hastaların yaşlarının karşılaştırılması

	Ort.± Sd.	Ort.(min – maks)	P
Çürüksüz grup (1)	8,3 ± 1,4	8 (6 - 11)	0,318
Çürüklü grup (2a-b)	8,6 ± 1,6	9 (6 - 11)	
Toplam	8,5 ± 1,5	8 (6 - 11)	
Alt grup			
ICDAS II skor 0 grup 1	8,3 ± 1,4	8 (6 - 11)	0,198
ICDAS II skor 2-3 grup 2a	8,1 ± 1,4	8 (6 - 11)	
ICDAS II skor 4-6 grup 2b	8,8 ± 1,6	9 (6 - 11)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır.

Gruplar arasında cinsiyete dağılımına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($P>0.05$) (Çizelge 4.2.)

Çizelge 4.2. Tüm grupların cinsiyete göre dağılımı

	ICDAS II Skor			Toplam	P
	Grup1 (Skor 0) n/(%)	Grup 2a (Skor 2-3) n/(%)	Grup 2b (Skor 4-6) n/(%)		
Cinsiyet				n/(%)	
Erkek	14 (43,8)	9 (52,9)	17 (39,5)	40 (43,5)	0,640
Kız	18 (56,3)	8 (47,1)	26 (60,5)	52 (56,5)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır.

4.2. Candida Türlerine Göre Bulgular

Çürüklü (grup 1) ve çürüksüz (grup 2a ve 2b) şeklinde iki grup olarak incelendiğinde gruplara göre Candida türlerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. ($P=0,026$) (Çizelge 4.3) Bu farklılık *Candida Albicans* ve “üremedi” sonuçlarına ait oranlarının gruplara göre farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Çürüksüz grubun %28,1’inde ve çürüklü grubunun % 51’inde *Candida Albicans* mantarı izlenmiştir. Çürüksüz grubunun % 68,8’inde ve çürüklü grubunun % 40’unda mantar üremesi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.3. Çürüksüz ve çürüklü gruplara göre sonuçların dağılımı

	Grup 1 (Çürüksüz) n/(%)	Grup 2a-2b (Çürüklü) n/(%)	Toplam n/(%)	P
Candida Albicans	9 (28,1)	31 (51)	40 (43,4)	0,026
Candida dubliniensis	0 (0)	3 (5)	3 (3,2)	
Candida glabrata	0 (0)	2 (3,3)	2 (2,2)	
Candida inconspicua	1 (3,1)	0 (0)	1 (1,2)	
Üremedi	22 (68,8)	24 (40)	46 (50)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır.

Çürüksüz (Icdas II skor 0) (grup 1) ve orta derecede çürüklü (Icdas II skor 2-3) (grup 2a) gruplara göre Candida türlerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($P>0,05$) (Çizelge 4.4.)

Çizelge 4.4. Grup 1 (çürüksüz) ve Grup 2a (orta derecede çürüklü) sonuçlarının Candida türlerine göre dağılımı

	ICDAS II Skor			
	Grup1 (Skor 0) n/(%)	Grup 2a (Skor 2-3) n/(%)	Toplam n/(%)	P
Candida Albicans	9 (28,1)	7 (41,2)	16 (32,6)	0,275
Candida glabrata	0 (0)	1 (5,9)	1 (2)	
Candida inconspicua	1 (3,1)	0 (0)	1 (2)	
Üremedi	22 (68,8)	9 (52,9)	31 (63,4)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır.

Çürüksüz (Icdas II skor 0) (grup 1) ve şiddetli derecede çürüklü (Icdas II skor 4-6) (grup 2b) gruplardaki *Candida* türlerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($P<0,05$) (Çizelge 4.5.) Bu farklılıklar *Candida Albicans* ve “üremedi” sonuçların gruplara göre farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Grup 1’in % 28,1’inde ve Grup 2b ‘nin % 55,8’inde *Candida Albicans* tespit edilmiştir. Grup 2b’de *Candida Dubliniensis* % 7 oranında tespit edilirken grup 1 de rastlanılmamıştır. *Candida Dubliniensis* görülme sıklığı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulgulanmamıştır.

Çizelge 4.5. Grup 1 (çürüksüz) ve Grup 2b (şiddetli derecede çürüklü) sonuçlarının *Candida* türlerine göre dağılımı

	ICDAS II Skor		Toplam n/(%)	P
	Grup1 (Skor 0) n/(%)	Grup 2b (Skor 4-6) n/(%)		
<i>Candida Albicans</i>	9 (28,1)	24 (55,8)	33 (32,6)	0,019
<i>Candida dubliniensis</i>	0 (0)	3 (7)	3 (4)	
<i>Candida glabrata</i>	0 (0)	1 (2,3)	1 (2)	
<i>Candida inconspicua</i>	1 (3,1)	0 (0)	1 (2)	
Üremedi	9 (52,9)	15 (34,9)	24 (63,4)	

Orta derecede çürüklü (Icdas II skor 2-3) (grup 2a) ve yüksek derecede çürüklü (Icdas II skor 4-6) (grup 2b) gruplara göre *Candida* dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$) (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Grup 2a (orta derecede çürüksüz) ve Grup 2b (şiddetli derecede çürüklü) sonuçlarının *Candida* türlerine göre dağılımı

	ICDAS II Skor		Toplam n/(%)	P
	Grup 2a (Skor 2-3) n/(%)	Grup 2b (Skor 4-6) n/(%)		
<i>Candida Albicans</i>	7 (41,2)	24 (55,8)	31 (51,6)	0,448
<i>Candida dubliniensis</i>	0 (0)	3 (7)	3 (5)	
<i>Candida glabrata</i>	1 (5,9)	1 (2,3)	2 (3,4)	
Üremedi	9 (52,9)	15 (34,9)	24 (40)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır.

Cinsiyete bağılı olarak çürüksüz ve çürüklü gruplarına göre mantar üreme sonuçlarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmamıştır. ($P>0,05$) (Çizelge 4.7.)

Çizelge 4.7. Cinsiyete bağılı olarak çürüksüz ve çürüklü gruplarına göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı

Cinsiyet		Grup 1 (Çürüksüz) n/(%)	Grup 2a-2b (Çürüklü) n/(%)	Toplam n/(%)	P
Erkek	Candida Albicans	2 (14,3)	11 (42,3)	13 (32,5)	0,062
	Candida dubliniensis	0 (0)	2 (7,7)	2 (5)	
	Candida glabrata	0 (0)	2 (7,7)	2 (5)	
	Üremedi	12 (85,7)	11 (42,3)	23 (57,5)	
Kız	Candida Albicans	7 (38,9)	20 (58,8)	27 (52)	0,220
	Candida dubliniensis	0 (0)	1 (2,9)	1 (1,9)	
	Candida inconspicua	1 (5,6)	0 (0)	1 (1,9)	
	Üremedi	10 (55,6)	13 (38,2)	23 (44,2)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır.

Cinsiyete bağılı olarak çürüksüz (grup 1) ve orta derece çürüklü (ICDAS II skor 2-3) (grup 2a) gruplarına göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. ($p>0,05$) (Çizelge 4.8.)

Çizelge 4.8. Cinsiyete bağılı olarak çürüksüz (Grup 1) ve orta derecede çürüklü gruplarına (Grup 2a) göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı

		ICDAS II Skor			
Cinsiyet		Grup1 (Skor 0) n/(%)	Grup 2a (Skor 2-3) n/(%)	Toplam n/(%)	P
Erkek	Candida Albicans	2 (14,3)	3 (33,3)	5 (21,7)	0,208
	Candida glabrata	0 (0)	1 (11,1)	1 (4,3)	
	Üremedi	12 (85,7)	5 (55,6)	17 (73,9)	
Kız	Candida Albicans	7 (38,9)	4 (50)	11 (42,3)	0,629
	Candida inconspicua	1 (5,6)	0 (0)	1 (3,8)	
	Üremedi	10 (55,6)	4 (50)	14 (53,9)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır

Erkek çocuk hastalarda çürüksüz (grup 1) grupta yüksek derece çürüklü (ICDAS II skor 4-6) (grup 2b) göre sonuçların dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p<0,05$) (Çizelge 4.9.) Bu fark *Candida Albicans* ile “üremedi” grubunda oluşmuştur. Kız hastalarda ise gruplar arasında sonuçların dağılımı göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($P>0,05$).

Çizelge 4.9. Cinsiyete bağlı olarak çürüksüz (Grup 1) ve yüksek derecede çürüklü gruplarına (Grup 2b) göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı

		ICDAS II Skor			P
Cinsiyet		Grup1 (Skor 0) n/(%)	Grup 2b (Skor 4-6) n/(%)	Toplam n/(%)	
Erkek	<i>Candida Albicans</i>	2 (14,3)	8 (47,1)	10 (32,3)	0,039
	<i>Candida dubliniensis</i>	0 (0)	2 (11,8)	2 (6,5)	
	<i>Candida glabrata</i>	0 (0)	1 (5,9)	1 (3,2)	
	Üremedi	12 (85,7)	6 (35,3)	18 (58,1)	
Kız	<i>Candida Albicans</i>	7 (38,9)	16 (61,5)	23 (52,3)	0,235
	<i>Candida dubliniensis</i>	0 (0)	1 (3,8)	1 (2,3)	
	<i>Candida inconspicua</i>	1 (5,6)	0 (0)	1 (2,3)	
	Üremedi	10 (55,6)	9 (34,6)	19 (43,2)	

$P>0,05$ istatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak kullanılmıştır

Cinsiyete bağlı olarak orta ve yüksek dereceli gruplarda *Candida* türlerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($P>0,05$) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Cinsiyete bağlı olarak çürüksüz (Grup 1) ve yüksek derecede çürüklü gruplarına (Grup 2b) göre mantar üreme sonuçlarının dağılımı

		ICDAS II Skor			P
Cinsiyet		Grup2a (Skor 2-3) n/(%)	Grup 2b (Skor 4-6) n/(%)	Toplam n/(%)	
Erkek	<i>Candida Albicans</i>	3 (33,3)	8 (47,1)	11 (42,3)	0,552
	<i>Candida dubliniensis</i>	0 (0)	2 (11,8)	2 (7,7)	
	<i>Candida glabrata</i>	1 (11,1)	1 (5,9)	2 (7,7)	
	Üremedi	5 (55,6)	6 (35,3)	11 (42,3)	
Kız	<i>Candida Albicans</i>	4 (50)	16 (61,5)	20 (52,3)	0,823
	<i>Candida dubliniensis</i>	0 (0)	1 (3,8)	1 (2,9)	
	Üremedi	4 (50)	9 (34,6)	13(38,3)	

Yaşa bağılı olarak çürüksüz ve çürüklü gruplarına göre sonuçların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($P>0,05$) (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. Yaşa bağılı olarak çürüksüz ve çürüklü gruplarına göre sonuçların dağılımı

Yaş		Grup 1 (Çürüksüz) n/(%)	Grup 2a-2b (Çürüklü) n/(%)	Toplam n/(%)	P
6-8	Candida Albicans	5 (26,3)	13 (44,8)	18 (37,5)	0,221
	Candida dubliniensis	0 (0)	1 (3,4)	1 (2,1)	
	Candida glabrata	0 (0)	2 (6,9)	2 (4,2)	
	Candida inconspicua	1 (5,3)	0 (0)	1 (2,1)	
	Üremedi	12 (85,7)	11 (42,3)	26 (54,2)	
9-11	Candida Albicans	4 (30,8)	18 (58)	22 (50)	0,081
	Candida dubliniensis	0 (0)	2 (6,5)	2 (4,5)	
	Üremedi	9 (69,2)	11 (35,5)	20(45,5)	



5. TARTIŞMA

Diş çürükleri çocukluk çağında en sık görülen ağız problemlerinin başında gelmektedir [167]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), diş çürüklerinin okul çağındaki çocukların yaklaşık %60-90'ın da görüldüğünü ve bunun da çocukların ve ailelerinin yaşam kalitesini olumsuz etkilediğini bildirmiştir [176]. Diş çürükleri, tek bir faktöre bağlı olmaksızın çok faktörlü olarak kabul edilen hastalık grubuna aittir [177]. Bilinen en temel bilgi olarak; diş çürüğün oluşabilmesi için 4 temel faktörün bulunması gerekmektedir. Bunlar; konak, bakteri, diyet ve zaman faktörleridir [178]. Diş çürüğünün oluşumunda, patolojik faktörler ile koruyucu faktörler arasında dinamik bir denge bulunmaktadır. Bu hassas denge durumunda, patolojik faktörlerden biri olarak nitelendirilen diyetle alınan fermente olabilen karbonhidratların anaerobik metabolizması sonucu üretilen organik asitlerin, mine ve dentini demineralize ederek diş çürüğü için lokal bir risk faktörü oluşturmakta olduğu ortaya konmuştur. Besin maddesinin yapısındaki fermente olabilen karbonhidratların tipi ve miktarının, ağızda kalma süresinin, ağızdan temizlenme süresinin, yapısal özelliklerinin, çözünürlüğünün, kariyostatik özelliğinin, tükürük akış hızını uyarma özelliğinin, asidojenitesinin, besin maddesinin çürük yapma potansiyelini belirlediği belirtilmiştir [179].

Diş çürüklerinin, yerleşik oral floranın asidojenik/ asidürik üyeleri diğer türlere göre seçici bir ekolojik avantaj elde ettiğinde ortaya çıkan, plak biyofilminin homeostatik dengesini bozan ve hastalık sürecini başlatan endoje, biyofilm aracılı bir hastalık olduğu artık yaygın olarak kabul edilmektedir. Modern moleküler analizler ve mikrobiyal kültür teknikleri, sadece *Streptokok Mutans* veya *Lactobacilli* (LB) değil, tüm bakteri çeşitlerinin farklı aşamalarda çürük sürecine katkıda bulunabileceğini ve *Candida Albicans* gibi mantarların bile önemli ölçüde plaktaki biyofilminin karyojenik virülansını geliştirebileceğini göstermektedir [180,181].

Candidalar, özellikle *Candida Albicans* bir yandan oral mikrobiyotasının zararsız komensal üyeleri olarak tanımlanır, ancak diğer yandan neonatal kandidiyaz gibi zararlı ve hatta hayatı tehdit eden hastalıklarla ilişkili mikroorganizmalar olarak kabul edilirler [182]. Popülasyonun yaklaşık % 70'i *Candida spp.*'nin taşıyıcısıdır, ancak sağlıklı bireylerde herhangi bir semptoma neden olmamaktadır. *Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar sıklıkla yaşlı veya bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülmektedir [183]. Yapılan çalışmalara göre *Candida* türlerinin özellikle de *Candida Albicans* 'ın oral flora ve daha çok

da çürük lezyonlarını tercih ettiği belirtilmiştir. *Candida Albicans*'ın yoğun asit ortamının pH' ını düşürmede laktik asitten daha güçlü olabilecek organik asitleri üretme özelliği vardır. Bu asitler diğer çürük bakterileriyle birlikte çürüklerin gelişmesine ve ilerlemesine neden olabilmektedirler [166,184]. Al-Hebishi ve diğerleri yaptığı çalışmada *Candida* türleri diş çürüğü ile ilişkilendirilmiştir [23].

Karbonhidrat oranı yüksek diyet, fermentasyon yoluyla asidik ürünler üreten *Candida* için zengin besin kaynağıdır. Ürettikleri asitle Candidalar, çürük lezyonuna neden olan düşük tükürük pH 'sının korunmasına neden olmaktadır. Bu düşük pH mantarın en önemli virülans faktörlerinden biri olarak kabul edilen hücre dışı enzimlerin (aspartilproteinazlar) aktivitesi için ideal ortamı oluşturur [67,167].

Schulz ve diğerleri yaptığı çalışmada *Candida Albicans* 'ın çocukların oral florasında baskın olarak bulunduğunu ve % 97 frekansa çürük lezyonlarında izole edildiğini belirtmişlerdir [185].

Starr ve diğerleri yaptıkları çalışmada çocukların oral florada *Candida Albicans* 'ın % 47'ye varan yüksek prevalansını bildirdiler. Ayrıca *C. Dubliniensis* ' in çürük oluşumundaki öneminin tam olarak bilinmediğini belirtmişlerdir. [186] Rozkiewicz ve diğerleri okul çağı öncesi ve okul çağındaki çocuklarda yaptıkları çalışmada yüksek *Candida Albicans* prevelansı bildirmişlerdir [187].

Moalic ve diğerleri ise 353 öğrencide oral fungal floranın çürüğe etkisini değerlendirmek için yapmış olduğu epiyemiyolojik çalışmada *Candida Albicans* 'ın varlığı yüksek DMF ve 'F' indeksleri ile bağlantılı bulurken *Candida Albicans* 'ın artışı 'D' indeksinin artışıyla anlamlı bulunmuştur [7].

Yapılan çalışmalarda *Candida Albicans* ve diş çürüklerinin prevalansı arasında özellikle çocuklarda, ergenlerde ve genç erişkinlerde güçlü bir ilişki bulunmuştur. Bu epidemiyolojik veriler *Candida Albicans* 'ın çürük patogeneğinde aktif rol oynayabileceğini düşündürmektedir [7,188,189].

Yapılan in vitro çalışmaların sonuçlarına göre, *Streptokok Mutans* ve *Candida Albicans* arasındaki adhesive etkileşimlerin, sükroz varlığında çok çeşitli türler içeren biyofilmin oluşacağını ortaya konmuştur [43,190].

Streptokok Mutans'in anahtar virülans faktörünün, glukosiltransferazlar (Gtfs) gibi eksoenzimler yoluyla diyetdeki sükrozu çeşitli çözünür ve çözünmez hücre dışı polisakkaritlere (EPS) dönüştürmesinden kaynaklanmaktadır. EPS, karyojenik biyofilmlerin temel yapı taşlarıdır. Biyofilmin iskelet çekirdeğini veya matrisini oluştururken *Streptokok Mutans* tarafından diş yüzeyinin kolonizasyonunu ve diş plağına ek mikroorganizmaların katılımını teşvik etmektedirler [191].

Candida Dubliniensis'in özellikleri, genellikle sadece *Candida Albicans*'in tanımlanmasında dikkate alınan özellikler olan germ tüpü ve klamidospore oluşumu dahil olmak üzere *Candida Albicans*'in karakteristiklerine çok benzemektedir. 1995'te *Candida Dubliniensis* ve *Candida Albicans* arasındaki farklılıklar özel ilgi konusu olmuştur [31]. *Candida Dubliniensis*'in Non-*Candida* türü olarak tanımlanması ancak oldukça geç olmuştur. Sonuç olarak, her iki tür de uzun süre yanlış bir şekilde kategorize edilmiştir. *Candida Albicans* ve *Candida Dubliniensis* arasındaki önemli bir fark, *Candida Dubliniensis*'in β -glukozidaz aktivitesini gösterememesidir [192]. Al-Ahmad ve diğerleri yaptıkları çalışmada iki mantar türü ile ilgili olarak, sadece *Candida Dubliniensis*, çürüğü olan çocuklar ile çürük deneyimi olmayan çocuklar arasında açık bir fark olduğunu, hastalardan tükürük ve dental plakdan aldıkları örneklerde iki tür arasında yakın oran bulduklarını bildirmişlerdir. Çürüklü grupta aldıkları dentin örneklerine göre *Candida Dubliniensis*'in çürükle pozitif korelasyonunu, ilk kez çürük gelişimi ve ilerlemesinde rol oynadığını düşündüren çürüklü çocuklarda yüksek prevelansı olduğunu ve *Streptokok Mutans* ile korelasyonu olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *Candida Dubliniensis*'in olası bir eksik tahminini önlemek için PCR gibi ek yöntemler önermişlerdir [193]. Bu tez çalışmasında türlerin kesin tanımlanması için PCR yöntemi kullanılmıştır. Normalde *C. Dubliniensis*in sağlıklı oral mikrobiyotada bulunmadığı sağlıklı bireylerin sadece % 3.5 inde görüldüğü bilinmektedir [194]. Bu tez çalışmasında çürüksüz grup da *Candida Dubliniensis* gözlenmezken, ICDAS II skor 4-6 grupta % 7 *Candida Dubliniensis* bulunmuştur. Aynı şekilde Lozano Moraga ve diğerleri yaptıkları çalışmada aktif çürüklü çocuklarda tükürük, plak ve dentin örneklerinden *Candida Dubliniensis* izole ettiklerini bildirmişlerdir [195]. Klinke ve diğerleri *Candida Dubliniensis*'in süt dişlerinde plak ve diş çürüklerindeki izolasyonuna ve önemini vurgulamıştır [196]. Starr ve diğerleri,

Candida Albicans ve *Candida Dubliniensis*'i ayırt etmenin zorluklarını tartışmış ve her iki türü de *Candida Albicans* olarak sınıflandırılabilirliğini göstermiştir. Ancak, çocuklukta çürüklerle ilişkilerini inceleyebilmek için bu türlerin birbirinden ayırma ihtiyacını bildirmiştir. Ayrıca *Candida Dubliniensis*'in rolünün şu ana kadar hafife alındığını vurgulamışlardır [186]. Shen ve diğerleri, *Candida Dubliniensis*'in kök çürük lezyonlarında bulunan mayaların yaklaşık % 14' ünü oluşturduğunu belirtmişlerdir [172].

Bu tez çalışmasında da; 6- 11 yaş grubunda karışık dişlenme dönemindeki çocukların tükürük örneklerinde bulunan *Candida Albicans* ve diğer Non-*Candida* türlerinin tanımlanması ve bunların çürük ile ilişkisini ve prevalansı değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular çürük oluşumundaki etiyolojik faktörlerin daha geniş çaplı tanımlanması gerekli önlemlerin alınabilmesi ve yeni tedavi protokollerinin oluşturulabilmesi açısından önem taşımaktadır.

Candida çürük ilişkisiyle ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu erken çocukluk çağı çürüğü yaş grubu olan 71 aylık ve daha küçük çocukları kapsamaktadır [163,180,197].

Fakat Baraniya ve diğerleri ile Kadir ve diğerleri yaptıkları çalışmalarda oral floradaki mantar frekansının karma dentisyon döneminden itibaren en yüksek seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Al-Hebshi ve diğerleri 6-12 yaş aralığındaki çocukların uyarılmamış tükürük örneklerinin % 60'ında *Candida* bulunduğunu bildirmişlerdir [198-200]. Moliac ve diğerleri ile Uygun-Can ve diğerleri bu yaş grubunda ergenlik çağına göre motor ve bilişsel gelişim daha az olduğundan dolayı oral hijyeni yeterli sağlayamadıkları mantar frekansının daha yüksek olabileceğini belirtmişlerdir [7,201]. Lozano Moraga ve diğerleri de ilerleyen yaşla birlikte gıda tüketiminin niteliğinin değişmesi sonucu karyojenik gıdalara daha fazla sıklıkta maruz kalınmasıyla ve ağız hijyeni alışkanlıklarının farklılaşmasıyla ilgili olabileceği için oral floradaki mantar frekansının etkilenebileceğini bildirmişlerdir [195]. Schroth ve diğerleri ilerleyen yaş ile çürük oluşumu arasındaki pozitif korelasyona; 2 yaşından küçük çocuklarda çürük oluşumu için dişlerin sürmesinin tamamlanmaması ve dişlerin ağızda bulunma süresinin karma dentisyon yaşındaki çocuklara göre daha az olmasına dikkat çekmişlerdir [202]. Bu sebeple çalışmamıza Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Kliniği'ne başvuran 6-11 yaş arasındaki çocuk hastalar dahil edilmiştir. Çürüksüz grupta yaş ortalaması 8.3, orta çürüklü grupta 8.1, şiddetli grupta ise 8.8 olarak bulunmuştur. 6-8 yaş aralığında çürüksüz grupta *Candida Albicans* % 26,3, *Candida Inconspicua* % 5,3 gözlenirken %85,7'ünde herhangi bir üreme olmamıştır. Çürüklü grupta *Candida Albicans*

% 44,8, *Candida Glabrata* % 6,9, *Candida Dublinensis* % 3,4 gözlenirken % 42,3 üreme görülmemiştir.

9-11 yaş aralığında çürüksüz grupta *Candida Albicans* % 30,8 ve % 69,2 de herhangi bir tür üremediği bulunmuştur. Çürüksüz grupta *Candida Albicans* % 58 *Candida Dublinensis* % 6,5 ürediği ve % 35,5 herhangi bir tür üremediği bulunmuştur. Çürük gruplarına göre sonuçların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır. ($P<0,05$)

Yapılan çalışmalarda, immun yetmezlik gibi predispozan sistemik faktörlere sahip olan bireylerde bulunan *Candida* 'ların özelliklerinde ve genotiplerinde farklılık görüldüğü belirtilmiştir [203,204]. Bu nedenle sistemik hastalığı bulunan çocuklar çalışmamıza dahil edilmemiştir. Antibiyotik, antifungal ve immunsupresif ilaçların kullanımıyla ağız florasında değişiklik meydana gelebileceği için son 6 ay içerisinde bu ilaçları kullanmış olan çocuklar çalışmaya dahil edilmemiştir [205].

Arendorf ve Marten' in sistemik rahatsızlığı olmayan, streoid ve ya antibiyotik tedavisi almamış 54 hastada tükürükten örnek alarak oral florada *Candida* frekansına bakmak için yaptıkları çalışmada kadın ve erkeklerde bulunma frekansında anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir [206]. Al-Karaawi ve diğerleri yaptıkları çalışmada da cinsiyetin oral *Candida* bulunma frekansında anlamlı bir etkisi olmadığını bulmuşlardır [207]. Fakat Moliac ve diğerleri erkeklerde kadınlara oranla daha fazla oral *Candida* varlığını sonuçlarında belirtmişlerdir [7]. Bir de Roskiewicz ve diğerleri 4-7 yaş aralığında 102 kişi, 12-18 yaşla aralığında 104 kişide yaptıkları çalışmada kızlarda % 36,8 oranında, erkeklerde ise % 9,1 oranında *Candida Albicans* bulunduğunu ve cinsiyetler arası bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında hastalarda cinsiyet seçimi randomize yapılmıştır. Kızlarda çürüksüz grupta *Candida Albicans* % 38,9, *Candida İnconspicua* % 5,6 ürediği, % 55,6 hiçbir üreme görülmediği bulunmuştur. Çürüklü grupta *Candida Albicans* % 60,6, *C. Dublinensis* %3 ürediği ve % 36,4 herhangi bir türün üremediği bulunmuştur. Erkeklerde çürüksüz grupta *C. Albicans* % 14,3, % 85,7 inde hiçbir üreme görülmediği bulunmuştur. Çürüklü grupta *C. Albicans* % 42,3, *C. Dublinensis* % 7,7, *C. Glabrata* ürediği ve % 42,3 herhangi bir tür üremediği bulunmuştur. Bu tez çalışmasında tüm gruplar arasında cinsiyetin dağılımı göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Şiddetli derecede çürüklü grup ile çürüksüz grup arasında *Candida Albicans* görülme durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmuştur. ($P<0,05$) Diş çürüğü

oluşumunda genellikle ebeveyn kontrolünde olan ve erken yaşlarda belirlenen beslenme ve oral hijyen alışkanlıkları etkili olduğundan cinsiyetler arası eşit dağılım görülebileceği düşünülmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenmiş olan ve diş çürüklerini çok düşük, düşük, orta, yüksek ve çok yüksek olarak kategorize eden DMF indeksi diş çürüğü sınıflamasında dünya çapında kabul görmüştür. Bu indeks günümüzde sıklıkla kullanılmasına rağmen sadece kaviteleşmiş lezyonları belirliyor olması bu alanda bir eksiklik oluşturmaktadır ve son yıllarda yapılan çalışmalar bu alanda bir ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Aktif ya da inaktif durumda olan kavitasyon oluşturmamış çürük lezyonlarını tanımlama ihtiyacı sebebiyle ICDAS II geliştirilmiştir [141]. ICDAS II sınıflama sisteminde; diş çürüğünü, demineralizasyon nedeniyle oluşan gözle görünür başlangıç çürük lezyonundan kavitasyon gösteren çürük lezyonuna kadar altı segmentte belirlemek, değerlendirmek ve yüzey değişimlerine göre çürüğün aşamalarının belirlenmesini sağlamaktadır [140]. Ekstrand ve diğerleri'nin çekilmiş dişlerde koronal çürük lezyonlarının derinliğini tespit etmek ve sınıflandırmak için ICDAS I ve II'nin güvenilirliğini değerlendirmek için yaptıkları metodolojik çalışmada ICDAS II sisteminin geçerli ve güvenli olduğunu bildirmişlerdir [138]. Görsel değerlendirme yönteminin eksiklerini gidermek ve bu yöntemi daha iyi hale getirmek adına geliştirilen sınıflandırmalardan biri olan ICDAS II kriterleri sayesinde okluzal yüzeylerdeki çürüğe bağlı oluşan makroskobik değişikliklerin, histolojik olarak doğrulanmasıyla uyumlu olarak analiz edilmesi sağlanmış ve bu kriterlerin başarısı ve kullanılabilirliği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [208-210]. Fechney ve diğerleri 7-10 yaş arasındaki çürüklü ve çürüksüz hastalarda yaptıkları çalışmada hastaların seçiminde ICDAS II sistemini diş çürüklerini hastalığın erken mine lezyon aşamalarından dentin ve derin dentin lezyon aşamalarına kadar değerlendirmek ve tanımlamada kullanılması, güvenilir ve karşılaştırmalı verileri sağlamasından dolayı tercih ettiklerini bildirmişlerdir [200]. Fakhruddin ve diğerleri ECC bulunan çocuklarda oral floradaki Candida varlığı ve karyojenik özelliklerine baktıkları çalışmada ICDAS II sistemini kullanmışlardır. [197] Moraga ve diğerleri 2-5 yaş grubunda Candida varlığı ve çürükle ilişkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada hastaların muayenesinde sınıflandırmada ICDAS II sistemini kullanmışlardır [195].

Bu tez çalışmasında çürüklü ve çürüksüz grupları oluşturmak için ICDAS II sınıflandırması kullanılmıştır. Randomize olarak kriterlerimize uygun seçilen hastaların intraoral muayeneleri yapılarak ICDAS II sınıflamasına göre;

- ICDAS II skor 0 çürüksüz grup,
- ICDAS II skor 2-3 orta derece çürüklü grup
- ICDAS II skor 4-6 şiddetli çürüklü grup olarak 3 gruba ayrılmıştır.

Yapılan çalışmalarda oral florada ki Candida insidansını değerlendirmek için en uygun tekniğin tükürük numunesi almak olduğunu bildirilmiştir [211,212]. Lilienthal; çürük lezyonu olan ve olmayan çocuklardan aldığı tükürük örnekleri ve mukozal sürüntü örneklerinden oral floradaki maya varlığını araştırmıştır. Yaptığı çalışma sonucunda tükürük numunelerinin mukozal sürüntü örneklerine kıyasla %10 verimlilik sağladığını belirtmiştir [213]. Literatürde Candida ve Non-Candida türlerinin tükürük ya da dental plak örneklerinde bulunma yüzdesi, tespit edilen Candida 'ların prevelansı konusunda farklı veriler bulunduğu gösterilmiştir. Plagın alındığı yüzey (diş, dil, bukkal mukoza, çürük diş yüzeyi, diş-dişeti sınırı), plak örneklerinin toplanma şeklindeki farklılıklar, çürük lezyonlarının pH'nın nispeten daha düşük olması gibi parametrelerin Candida kolonizasyonunu etkilediği ifade edilmiştir [9,214,215]. Bu faktörler aynı zamanda, ağzın farklı bölgelerinden alınan dental plak örneklerinde tespit edilen Candida oranlarının birbirinden farklı olmasına da sebep olabilmektedir [163,214]. Bu nedenle bu faktörlerle ilgili standardizasyona gerek duyulmayacağı için Candida tespiti açısından tükürüğün plağa göre daha tercih edilebilir bir belirteç olabileceği düşünülebilir.

Al-hebishi ve diğerleri Suudi Arabistan'daki ilkokul çağındaki çocuklarda yaptıkları çürük Candida ilişkisi çalışmasında mantar miktarının doğru ve hassas ölçümüne olanak sağlaması ve korelasyona-karşılaştırma amacına uygunluğu açısından tükürük örneğini kullanmışlardır [216]. Moraga ve diğerleri 2-5 yaş aralığında çocuklarda çürük Candida ilişkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada uyarılmamış tükürük örneklerini ilk öğünden 2 saat sonra olacak şekilde 10.00 - 12.00 arasında almışlardır. Ağız boşluğunda bulunan türleri içeren temsili ve benzer örnekler elde etmek ve çocukları incelemek de önemli bir husus olan, invazif olmayan, basit bir yöntem olarak uyarılmamış tükürüğü toplama stratejisine karar verilmiştir. Bu tez çalışmasına dahil edilen hastalardan Candida araştırması için sabah saat 10:00 - 12:00 arasında 2 saat açlık durumunda pasteur pipetle 2 ml uyarılmamış tükürük

örnekleri toplanmıştır. Örnekleri hemen mikrobiyoloji labaratuvarına götürülüp labaratuvar aşamalarından sonra mantarların besi yeri olan Sabourraud Dekstroza Agar (SDA, Merck, Almanya) besi yerine ekilmiştir. Daha sonra konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle mantar olarak düşünülen koloniler SDA' aya tekrar ekilmiş ve üreyen kolonilerin saflık kontrolü için Candida Chromogenic Agar (Conda, İspanya) besiyerine ekilerek aynı koşullarda üretilmiştir. Ayrıca API ID 32C (Biomerioux, France) kiti kullanılarak tür tayini yapılmıştır. Literatürdeki çalışmalarda da Candida tiplendirilmesi için bu yöntemleri kullanmışlardır [187,193,195,201,217].

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), küçük DNA fragmanlarındaki belirli dizilerin hızlandırılmış bir şekilde çoğaltılmasına izin veren *in vitro* replikasyondur. Bu metot, eknik olarak daha basittir ve daha hızlı geri dönüş süresine sahiptir; gereken klinik malzeme miktarı çok daha azdır [218]. Bu metot, eknik olarak daha basittir ve daha hızlı geri dönüş süresine sahiptir; gereken klinik malzeme miktarı çok daha azdır. Lozana-Moraga ve diğerleri yaptıkları çalışmada *Candida Dubliniens*'in *Candida Albicans*'dan ayırt edilmesinde yardımcı olacağını belirtmiştir [195]. Fechney ve diğerleri çürük lezyonu olan ve olmayan çocuklarda oral mikrobiyatadaki tür çeşitliliğini araştırmak için yaptıkları çalışmada dental plaktan aldıkları örnekleri DNA sekanslama yöntemiyle incelemişler ve kısa bir DNA parçasıyla genel mantar popülasyonuna ulaşmalarına sağladığını belirtmişlerdir [200]. Al-Ahmad ve diğerleri çürüksüz ve çürük atkif çocuklarda yaptıkları çalışmada mikrobiyatadaki *Candida Albicans* ve *Candida Dubliniensis*'in varlığını ve çürükle ilişkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada

- TP16U1 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'
- RT16U6 5'-ATTGTAGCACGTGTGTNCCCC-3' primerlerini kullanarak PZR analizi yaptıklarını belirtmişlerdir [193].

De-la-Torre ve diğerleri çürük ve Candida kolonizasyonunu incelemek için yaptıkları çalışmada polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle *Candida Albicans*, *Candida Dubliniensis* ve *Candida Africana* arasında detaylı tanımla yaptıklarını bildirmişlerdir [219]. Qui ve diğerleri çürük lezyonu olan ve olmayan çocuklarda *Candida Albicans*'ın genotip çeşitliliğini ve karyojenitesini araştırmak için uygun yöntemin PCR olduğunu bildirmişlerdir [220]. Çalışmamızda alınan örneklerden besiyerine ekildikten sonra üreme gözlenenlerden daha sonra daha detaylı ve kesin tiplendirme için PZR yapılmıştır.

Çürük lezyonu gözlenen çocuklarda tükürük örnekleri üzerinde yapılan, *Candida* varlığı ve *Candida* türleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar da literatürde mevcuttur. Fragkou ve diğerleri 3-12 yaş aralığındaki çocukların tükürük örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada, çürük tespit edilen çocukların örneklerinde çürük tespit edilemeyenlere oranla daha fazla *Candida* bulunduğunu; Xiao ve diğerleri 12-71 ay aralığındaki çocuklarda yaptıkları çalışmalarında çürük gözlenen çocukların tükürük örneklerinin %77'sinde, çürük tespit edilemeyen çocukların tükürük örneklerinin ise %12'sinde *Candida Albicans* bulunduğunu, ayrıca çürük gözlenen çocukların tükürük örneklerinin %6'sında *Candida tropicalis*, % 17'sinde *Candida krusei* ve %6'sında *Candida glabrata* bulunduğunu; Thomas ve diğerleri çocuklarda yaptıkları çalışmalarında; çürük gözlenen çocukların tükürük örneklerinde çürük bulunmayan gruptaki çocukların tükürük örneklerine göre *Candida Albicans* prevalansının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ve de çürük gözlenen çocukların tükürük örneklerinde *Candida Albicans* varlığıyla ilgili çalışmaların oldukça az olduğu bildirilmiştir [169,221,222].

Bachtar ve diğerleri 3-5 yaş aralığındaki çocuklar ile yaptıkları çalışmalarında, dmft değeri 4'ten büyük olan çürük gözlenen çocukların tükürük örneklerinin %35'inde, çürük gözlenmeyen çocukların tükürük örneklerinin %8'inde *Candida Albicans* bulunduğu, benzer bir çalışmada Salam ve diğerleri yaşlı insanların tükürük örneklerinde % 21 oranında *Candida Albicans* bulunduğunu, Xiao ve diğerleri İsviçre, İngiltere, Brezilya, Almanya, Türkiye, İran, Çin, Polonya, Hindistan gibi ülkelerin verilerini ekledikleri derlemelerinde; ECC tespit edilen çocuklardaki *Candida Albicans* prevalansı tükürükte % 24-% 100, dental plakta % 44-% 80 ve çürük bölgesinde % 60-% 100 aralığında değişkenlik gösterdiğini, çürük tespit edilmeyen çocuklarda ise tükürükte % 10-100, dental plakta % 7 - % 19 aralığında değişkenlik gösterdiğini ve de ECC tespit edilen çocukların *Candida Albicans* prevalansının çürük tespit edilmeyen gruptaki çocuklardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir [97,223].

Farklı olarak Al-Ahmad ve diğerleri çürük bulunmayan çocuklardan aldıkları tükürük örneklerinde % 16,7 oranında, dental plak örneklerinde % 12,5 oranında, çürük bulunan çocuklardan aldıkları tükürük örneklerinde % 5,4 oranında, dental plak örneklerinde ise % 23,1 oranında *Candida Albicans* tespit edildiğini, bu sebeple de bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olamayacağını belirtmiştir [193].

Ağızda hiç çürüğe rastlanmayan bireylerin ağız mikrobiyomuna göre diş çürüğü olan bireylerin ağız mikrobiyomunun daha karmaşık ilişkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebepten dolayı diş çürüğünün tanı ve sınıflamasında tükürükten faydalanılmaktadır [224,225]. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar tarafından diş çürüğü gelişimi ile tükürükte bulunan *Candida* seviyeleri değerlendirilmiştir [164,195]. Bu çalışmalara örnek olarak; 2-5 yaş aralığındaki çocukların tükürüklerindeki *Candida* varlığı ile çürük ilişkisini değerlendiren bir çalışmada ağızda hiç diş çürüğü bulunmayan çocuklardan % 35,5'inin, orta derecede çürük bulunan çocuklardan % 50'sinin ve şiddetli çürük bulunan çocuklardan da % 72,2'sinin tükürüğünde *Candida*'ya rastlandığını tespit etmiş ve buradan yola çıkarak da tükürükteki *Candida* taşıyıcılığının çürük şiddetiyle doğru orantılı olarak arttığını bildirmiştir [195]. Sziegoleit ve diğerleri 2-15 yaş aralığındaki çocukları dahil ettikleri çalışmada ağızda hiç diş çürüğü bulunmayan çocukların tükürük örneklerinden % 2'sinde, ağızda aktif diş çürüğü olan çocukların tükürük örneklerinden % 66,7'sinde ve aktif diş çürüğü olan çocukların diş çürüğü bölgesinden aldıkları örneklerden % 81,5'inde *Candida* varlığı tespit ettiklerini ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir [153]. 3-5 yaş aralığındaki çocukların tükürüklerindeki *Candida* varlığını araştıran bir diğer çalışmada ise ağızda hiç diş çürüğü bulunmayan çocuklardan aldıkları tükürük örneklerinden % 7'sinde, ağızda diş çürüğü bulunan çocuklardan aldıkları tükürük örneklerinden ise % 89'unda *Candida* varlığı tespit ettiklerini bildirmiş ve diş çürüğü varlığı ile tükürükteki *Candida* varlığı arasındaki doğru orantılı ilişkinin dikkat çekici olduğunu belirtmiştir [154]. 3-10 yaş aralığındaki çocukların tükürüklerindeki *Candida* varlığını araştıran bir diğer çalışmada ise Signoretto ve diğerleri ağızda hiç diş çürüğü bulunmayan çocukların tükürük örneklerinde saptadıkları *Candida* varlığı oranının, ağızda diş çürüğü olan çocukların tükürük örneklerinde saptadıklarına oranla daha düşük olduğunu ve aradaki bu farkın da istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu bildirmiştir [8].

Ağızda diş çürüğü olan çocukların tükürük örneklerinde *Streptokok Mutans*ın da *Candida Albicans* gibi sıklıkla yüksek oranlarda tespit edilmiş. *Candida Albicans*'ın, *Streptokok Mutans*ın Gtf enzimi için bağlanma alanı sağladığı ve bu sayede GtfB'yi indüklediği gözlenmiştir. *Streptokok Mutans*ın Gtf enziminin sükroz bulunan ortamda *Candida* yüzeyine bağlanması sonucunda *Candida Albicans*'ın ortama glukoz salgıladığı ve bu sebeple tükürükle birlikte özellikle dental plak ve biyofilmdeki çözünmez glukoz miktarının arttığı, bunun da diş çürüğü oluşumuyla doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte ağızda diş çürüğü olan çocukların tükürük örneklerindeki yüksek GtfB seviyesi ile çürük

aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunduğu belirlenmiştir [97,167,223,226-228]. *Candida Albicans* 'ın, bu kimyasal-metabolik olaylar sayesinde kolonize *Streptokok Mutans* miktarını artırdığı belirlenmiş ve aralarındaki sinerjik etkileşim sayesinde bu iki mikroorganizma bir aradayken ekstraselüler matriks üretiminin arttığı ve ayrı ayrı oluşturabildiklerinden hem virulansı çok daha yüksek olan hem de daha fazla miktarda biyofilm oluşturmuşlardır [227]. Oral florada bu iki mikroorganizmanın birlikteliğinin aynı zamanda *Candida Albicans* 'ın karyojenik potansiyelini artırdığı belirlenmiştir [4,223]. Bunun yanı sıra ağızda diş çürüğü tespit edilen çocukların tükürük örneklerinden izole edilen *Candida Albicans* 'ın asidürite ve asidojenitesinin, ağızda hiç diş çürüğü olmayan çocukların tükürük örneklerinden izole edilenlere oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir [229]. Ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklarda gözlenen *Candida* 'ların dentinde açığa çıkmış denatüre kollajene tutunmasında ve bu kollajenin yıkım mekanizmasında aktif rolü olan aspartik proteaz enziminin aktivitesinin, ağızda hiç diş çürüğü olmayan çocuklardakine oranla artış gösterdiği ve bununla birlikte bu enzimin aktivasyonu için düşük ortam pH'ının uygun olduğu bildirilmiştir [230,231]. *Candida* 'ların kolonizasyonunu kolaylaştıran bir diğer etkenin ise, ağızda hiç diş çürüğü olmayan çocuklardakine göre ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklardaki düşük tükürük tamponlama kapasitesi olduğu belirtilmiştir. [232] Bunlara ek olarak, *Candida Glabrata*, *Candida Krusei* ve *Candida Tropicalis* türlerinin dentin preperatlarına inkübasyonları sonucunda besiyerine kalsiyum salınımı olduğu gözlenmiştir [184]. Bu bilgiler, *Candida* 'ların kolonizasyonunu kolaylaştıracak ve virulansını artıracak faktörlerin diş çürüğü mikroflorasında bulunması halinde *Candida* 'ların karyojenik potansiyelini artırarak diş çürüğü patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir [174,229]. Tüm bu nitelikler, ağızda diş çürüğü bulunan çocuklardaki artmış *Candida* kolonizasyonuna zemin hazırlamakta ve *Candida* 'ların diş çürüğü etiolojisinde rol oynadığına dair var olan düşüncemizi desteklemektedir.

Araştırmacılar çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde *Candida* varlığının yanı sıra var olan *Candida* türlerini de değerlendirmişlerdir. Lozana Moraga ve diğerleri ağızda hiç diş çürüğü olmayan çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde rastladıkları *Candida* 'ları alt türlerine göre incelediklerinde bunların % 46'sının *Candida Albicans*, % 28'inin *Candida Lusitaniae*, % 26'sının *Candida Parapsilosis* olduğunu, ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde rastladıkları *Candida* 'ları alt türlerine göre incelediklerinde ise bunların % 75,6'sının *Candida Albicans*, % 11,1'inin *Candida Dubliniensis*, % 8,1'inin *Candida Pulcherrima* ve % 0,74'ünün *Candida Tropicalis*

olduğunu tespit etmişlerdir [195]. 1 ila 5 yaş aralığındaki çocukları çalışmalarına dahil eden Klinke ve diğerleri, ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde rastladıkları *Candida* 'ları alt türlerine göre incelediklerinde ise bunların % 97'sinin *Candida Albicans* olduğunu ve geriye kalan % 3'lük grubun ise % 32 oranında *Candida Tropicalis*, % 21 oranında *Candida Glabrata* ve % 18 oranında *Candida. Krusei* türlerini barındırdığını bildirmişlerdir [233]. Do Rego ve diğerleri 4 ila 10 yaş aralığındaki ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde rastladıkları *Candida* 'ları alt türlerine göre incelediklerinde bunların % 86,6'sının *Candida Albicans*, % 23,3'ünün *Candida Tropicalis* olduğunu, Al-Hebshi ve diğerleri ise 6 ila 12 yaş aralığındaki ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde rastladıkları *Candida* 'ları alt türlerine göre incelediklerinde bunların % 69'unun *Candida Albicans*, % 11,8'inin *Candida Tropicalis*, % 5,5'inin *Candida Glabrata*, % 2,3'ünün *Candida Crusei* olduğunu ve *Candida* 'ların %11,4'ünün türünü belirleyemediklerini bildirmişlerdir [23,234]. Peretz ve diğerleri yaşları 6 ila 14,5 arasında değişen ve ağızda diş çürüğü tespit edilen çocuklardan elde ettikleri tükürük örneklerinde rastladıkları *Candida* 'ları alt türlerine göre incelediklerinde bunların % 61,7'sinin *Candida Albicans*, % 11,7'sinin *Candida Tropicalis* olduğunu ve örneklerde hiçbirinde *Candida Crusei* kolonsine rastlamadıklarını bildirmişlerdir [235].

Bu tez çalışmasında çürüksüz grupta % 28,1 *Candida Albicans*, % 3,1 *Candida İnconspicua*, orta çürüklü grupta % 43,8 *C.albicans*, % 6,3 *C.glabrata*, şiddetli çürüklü grupta % 55,8 *Candida Albicans*, % 7 *Candida Dubliniensis*, % 2,3 *Candida Glabrata* sonuçları tükürükten izole edilen numunelerden PZR yapılarak elde edilmiştir. Sonuçlar çürüklü ve çürüksüz olarak iki gruba ayrıldığında çürüksüz grupta % 28,1 *Candida Albicans* % 3,1 *Candida İnconspicua* üremesi ve % 68,8 de herhangi bir tür üremediği bulunmuştur. Çürüklü grupta ise % 52,5 *Candida Albicans*, % 5,1 *Candida Dubliniensis*, % 3,4 *Candida Glabrata* üremesi ve % 39 unda herhangi bir üreme olmadığı bulunmuştur. Sonuçlar çürüklü ve çürüksüz şeklinde iki grup olarak incelendiğinde gruplara göre sonuçların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. (P<0,05) Bu farklılık *Candida Albicans* ve üremedi sonuçlarına ait oranlarının gruplara göre farklılık göstermesinden kaynaklanmıştır. Çürük kompleks konak-diyet-mikroorganizma etkileşimleri olan dinamik patolojik bir sürecin sonucudur. Bu sebeple her birey için risk faktörlerinin belirlenmesi ve bireysel risk değerlendirmesinin yapılması oldukça önemlidir. Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda çürük risk değerlendirmesi için ağız florasındaki *Candida* varlığının araştırılmasının önemli

olabileceği ancak aynı bireyde bile dental plak alınan alana göre Candida kolonizasyonunda farklılık görülebildiğinden Candida tayini için tükürüğün dental plağa göre daha tercih edilebilir bir belirteç olabileceği kanısına varılmıştır.

Çalışmamızın limitasyonları arasında, örnek alınması ve laboratuvar uygulamalarının hassasiyet gerektirmesi sayılabilir. Bununla birlikte dental plak ve enfekte dentin örneklerinin kullanılmaması sadece tükürük örneklerinin değerlendirilmesi çalışmanın sonuçlarını daha detaylı değerlendirilmesini sınırlandırmıştır. Bu bulgular ışığında çalışmamızın sonucu değerlendirildiğinde ileride daha geniş örneklem grupları ve farklı popülasyonlarda yapılacak olan daha çok sayıda çalışmaların, konu ile ilgili mevcut bilgilerin daha fazla aydınlatılmasına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.



6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında elde edilen veriler; çürüksüz (grup 1) ve çürük izlenen (grup 2a ve 2b) olarak iki ana grup olarak değerlendirildiğinde *Candida* türlerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P<0,05$). Özellikle çürüksüz (ICDAS II skor 0) (grup 1) ve şiddetli derecede çürüklü (ICDAS II skor 4-6) (grup 2b) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmasında *Candida Albicans* ve “üremedi” sonuçların gruplara göre farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Çalışma sonuçlarına göre *Candida Dubliniensis* sadece çürük izlenen (grup 2a ve 2b) grupta görülmesi daha önceden yapılan benzer çalışmaları desteklese de; çürüksüz (grup 1) ve çürük izlenen (grup 2a ve 2b) gruplar arasında *Candida Dubliniensis* izlenme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulgulanmamıştır ($P>0,05$).

Çalışma verileri cinsiyet kriterine göre değerlendirildiğinde; erkek çocuk hastalarda çürüksüz (grup 1) grupta yüksek derece çürüklü (ICDAS II skor 4-6) (grup 2b) göre sonuçların dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmıştır ($P<0,05$). Bu fark özellikle grup 2b’ de daha yüksek oranda izlenen *Candida Albicans* nedeniyle oluşmuştur. Kız hastalarda ise gruplar arasında sonuçların dağılımı göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmamıştır ($P>0,05$).

Candida Albicans, çürük lezyonlu çocukların tükürüğünden en sık izole edilen *Candida* türü olduğundan, bu türlerin klinik izolatlarının genetik değişkenliğini analiz etmek ve bu mantarın olası genotip ilişkilerini değerlendirmek önemlidir. Ek olarak, *Candida Non-Albicans* türleri arasındaki etkileşim hakkında daha fazla araştırma gereklidir. Çürük başlangıcı ve ilerlemesi sırasında *Candida*’nın virülans ve rekabet faktörlerinin nasıl ve ne zaman ifade edildiğini belirlemek için daha çok in situ ve in vivo çürük modelleri geliştirilmelidir.

Bu tez çalışması sonucunda elde edilen veriler ışığı altında karma dişlenme dönemindeki çocuklardan alınan tükürük örneklerinde *Candida* türlerinin yüksek oranda bulunduğu görülmüştür. Özellikle *Candida Albicans*’ın diş çürükleriyle ilişkisi yüksek oranda tespit edilmiştir. Karma dentisyonda çürük lezyonu gözlenen çocukların tükürük örneklerindeki artmış *Candida Albicans* ve *Non-Candida Albicans* varlığı sebebiyle *Candida*’ların çürük

patogenezinde rol alabileceği ve çocuklarda çürük riski değerlendirilmesinde tükürükteki Candida 'ların tespit edilmesi ve değerlendirilmesinin faydalı olabileceği düşünölmektedir. Çocuklarda tedavi sürecinde karşılaşılan zorluklar nedeniyle hastalığın önlenmesi için öncelikle etiyojisinde rol alan faktörlerin anlaşılması, oral Candida kolonizasyonuila ilişkili vertikal ve horizontal geçiş yollarının tanımlanması, konuyla ilgili ebeveynlerin bilgilendirilmesi, kolonizasyonun ve hastalığın önlenmesine yönelik prosedürlerin oluşturulması gerektiği kanısına varılmıştır. Ayrıca çocuklara ideal oral hijyen alışkanlıklarının kazandırılması konusunda ailelerin bilgilendirilmesinin gerekli olduğu düşünölmektedir.



KAYNAKLAR

1. Elamin, A., Garemo, M., and Gardner, A. (2018). Dental caries and their association with socioeconomic characteristics, oral hygiene practices and eating habits among preschool children in Abu Dhabi, United Arab Emirates—the NOPLAS project. **BMC Oral Health**, 18(1), 104.
2. Lotto, M., Strieder, A. P., Ayala Aguirre, P. E., Andrade Moreira Machado, M. A., Rios, D., Cruvinel, A., and Cruvinel, T. (2020). Parental perspectives on early childhood caries: A qualitative study. **International Journal of Paediatric Dentistry**, 30(4), 451-458.
3. Li, Y., and Wang, W. (2002). Predicting caries in permanent teeth from caries in primary teeth: an eight-year cohort study. **Journal of Dental Research**, 81(8), 561-566.
4. de Carvalho, F. G., Silva, D. S., Hebling, J., Spolidorio, L. C., and Spolidorio, D. M. P. (2006). Presence of mutans streptococci and *Candida* spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. **Archives of Oral Biology**, 51(11), 1024-1028.
5. Qiu, R., Li, W., Lin, Y., Yu, D., and Zhao, W. (2015). Genotypic diversity and cariogenicity of *Candida albicans* from children with early childhood caries and caries-free children. **BMC Oral Health**, 15(1), 144.
6. Lozano Moraga, C. P., Rodríguez Martínez, G. A., Lefimil Puente, C. A., Morales Bozo, I. C., and Urzúa Orellana, B. R. (2017). Prevalence of *Candida albicans* and carriage of *Candida non-albicans* in the saliva of preschool children, according to their caries status. **Acta Odontologica Scandinavica**, 75(1), 30-35.
7. Moalic, E., Gestalin, A., Quinio, D., Gest, P., Zerilli, A., and Le Flohic, A. (2001). The extent of oral fungal flora in 353 students and possible relationships with dental caries. **Caries Research**, 35(2), 149-155.
8. Signoretto, C., Burlacchini, G., Faccioni, F., Zanderigo, M., Bozzola, N., and Canepari, P. (2009). Support for the role of *Candida* spp. in extensive caries lesions of children. **The New Microbiologica**, 32(1), 101.
9. Raja, M., Hannan, A., and Ali, K. (2010). Association of oral candidal carriage with dental caries in children. **Caries Research**, 44(3), 272.
10. Li, W., Yu, D., Gao, S., Lin, J., Chen, Z., and Zhao, W. (2014). Role of *Candida albicans*-secreted aspartyl proteinases (Saps) in severe early childhood caries. **International Journal of Molecular Sciences**, 15(6), 10766-10779.
11. Akça, G. (2016). Ağız Flora Üyeleri. Altındış, M. (Editörler), *Diş Hekimliğinde Etkin ve Akılcı Antibiyotik Kullanımı*. 1th. Ankara. Nobel Akademik Yayıncılık, s. 1-30.
12. Hogg, S. (2005). *Essential Microbiology*. England: John Wiley & Sons, 3-15.

13. Montelongo-Jauregui, D., and Lopez-Ribot, J. L. (2018). Candida interactions with the oral bacterial microbiota. **Journal of Fungi**, 4(4), 122.
14. Belibasakis, G. N. (2018). Microbiological changes of the ageing oral cavity. **Archives of Oral Biology**, 96, 230-232.
15. Aydın, M., Mısırlıgil, A. . (2012). Ağız Mikrobiyolojisi. Cengiz, T., A., (Editörler), *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Ankara MN Medikal & Nobel Tıp Kitap Sarayı, s. 45-47.
16. Samaranayake, L. (2012). *Essential Microbiology for Dentist*. (4th). China: Churchill Livingstone Elsevier, 265-307.
17. Ainsworth, G. (1986). *Introduction to the History of Medical and Veterinary Mycology*. (1th). Cambridge University Press.
18. Kilian, M., Chapple, I., Hannig, M., Marsh, P., Meuric, V., Pedersen, A., Tonetti, M., Wade, W., and Zaura, E. (2016). The oral microbiome—an update for oral healthcare professionals. **British Dental Journal**, 221(10), 657.
19. Mason, M. R., Chambers, S., Dabdoub, S. M., Thikkurissy, S., and Kumar, P. S. (2018). Characterizing oral microbial communities across dentition states and colonization niches. **Microbiome**, 6(1), 67.
20. Miller, W. (1892). Die Mikroorganismen der Mundhöhle. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, 18(45), 1016-1018.
21. Düzgüneş, N. (2016). *Medical Microbiology and Immunology for Dentistry*. (1th). Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc.
22. Monroy, T. B., Maldonado, V. M., Martínez, F. F., Barrios, B. A., and Vargas, L. (2005). Colonización por Candida albicans, Staphylococcus aureus y Streptococcus mutans en pacientes portadores de prótesis dentales Candida albicans, Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans colonization in patients wearing dental prosthesis. **Medicina Oral**, 10, E27-E39.
23. Al-Hebshi, N. N., Al-Maswary, E. A., Al-Hammadi, Z. O., and Ghoname, N. (2015). Salivary Candida species carriage patterns and their relation to caries experience among yemeni children. **Oral Health Preventive Dentistry**, 13(1), 41-49.
24. İnci, R. (1999). Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması. Ustaçelebi, Ş. (Editörler), *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1th. Güneş kitabevi, s. 1015-1021.
25. Mitchell, T. (2004). Medical Microbiology. In Brooks, G., Butel, JS., Morse, SA., (Eds.), *Medical mycology*. 23th. Singapore. McGraw-Hill Companies, pp. 623- 659.
26. Dündar, I. H. E., E. Memişoğlu, H. R. Özgönen, T. Özcan, K. Kılıç, B. (1998). *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji* (5th). İstanbul: Barış Kitabevi, 273-287.
27. Walker, L. A., and Munro, C. A. (2020). Caspofungin induced cell wall changes of Candida species influences macrophage interactions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 10, 164.

28. Yegenoglu, Y. (2002). Mantarlar. Bozkaya, E. (Editörler), *Tıbbi Mikrobiyoloji-1*. Nobel Tıp Kitabevi, s. 181-192.
29. Brandt, M., Warnock, DW. (2003). Laboratory Aspects of Medical Mycology. In Dismukes, W., Pappas, PG., Sobel, JD. (Eds.), *Clinical Mycology*. Oxford University Press, pp. 3-22.
30. Calderone, R. A., and Braun, P. C. (1991). Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. ***Microbiology and Molecular Biology Reviews***, 55(1), 1-20.
31. Sullivan, D. J., Westerneng, T. J., Haynes, K. A., Bennett, D. E., and Coleman, D. C. (1995). *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. ***Microbiology***, 141(7), 1507-1521.
32. Calderone, R. (2002). *Introduction and Historical Perspectives In: Candida and Candidiasis*. (1th). Washinton DC: American Society for Microbiology Press.
33. John, E., Edward, JR. (2000). *Candida Species*. In Mandel GL, B. J., Dolin R. (Eds.), *Mandell, Douglas, and Benntt's Pirinciples and Practise of Infectice of Infectious Diseases*. 5th. Pennsylvania. Churchill Livingstone, pp. 2656-2674.
34. Vasquez, J., Sobel, JD. (2003). *Candidiasis*. In Dismukes, W., Pappas, PG., Sobel, JD. (Eds.), *Clinical Mycology*. 1th. Oxford University Press, pp. 141-219.
35. Cramer Jr, R. A., Perfect, J. R. (2009). Recent Advances in Understanding Human Opportunistic Fungal Pathogenesis Mechanisms. Anaissie, E. J., McGinnis, M. R., and Pfaller, M. A. (Eds.), *Clinical Mycology*. 2th. Churchill Livingston. Elsevier Inc., pp. 15-31.
36. Hazen, K. C., Lay, J.-G., Hazen, B., Fu, R. C., and Murthy, S. (1990). Partial biochemical characterization of cell surface hydrophobicity and hydrophilicity of *Candida albicans*. ***Infection and Immunity***, 58(11), 3469-3476.
37. Hazen, K., Howell, SA. (2007). *Cryptococcus and Other Yeasts of Medical Importance*. In Murray , P., Baron, EJ., Jorgensen, JH., Landry, ML., Pfaller, MA. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*. 9th. Washington. American Society for Microbiology Press, pp. 1762-1788.
38. Dignani, M. C., Solomkin, J. S., and Anaissie, E. J. (2009). *Candida*. In Anaissie, E. J., McGinnis, M. R., and Pfaller, M. A. (Eds.), *Clinical Mycology*. 2th. Churchill Livingstone. Elsevier Inc., pp. 197-229.
39. Yang, Y.-L. (2003). Virulence factors of *Candida* species. ***Journal of Microbiology Immunology and Infection***, 36(4), 223-228.
40. Yücel, A., ve Kantarcıoğlu, A. S. (2000). *Candida*'ların Patojenlik Belirtgenleri. ***Cerrahpaşa Tıp Dergisi***, 31(3), 172-186.
41. Cannon, R., Holmes, A., Mason, A., and Monk, B. (1995). Oral *Candida*: clearance, colonization, or candidiasis? ***Journal of Dental Research***, 74(5), 1152-1161.

42. Ghannoum, M., and Abu-Elteen, K. (1990). Pathogenicity determinants of *Candida*. ***Mycoses***, 33(6), 265-282.
43. Gregoire, S., Xiao, J., Silva, B., Gonzalez, I., Agidi, P., Klein, M., Ambatipudi, K., Rosalen, P., Bauserman, R., and Waugh, R. (2011). Role of glucosyltransferase B in interactions of *Candida albicans* with *Streptococcus mutans* and with an experimental pellicle on hydroxyapatite surfaces. ***Applied and Environmental Microbiology***, 77(18), 6357-6367.
44. Aydın, M. (2004). *Candida* Cinsi Mantarlar. Mısırlıgil, C., Aydın, M. (Editörler), *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Ankara. Güneş Yayınevi s. 1109-1118.
45. Tümbay, E. (1999). *Candida* türleri. Mutlu, G., İmir, T., Ustaçelebi, Ş. Tümbay, E., Mete, Ö. (Editörler), *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara. Öncü Basımevi, s. 1081-1086.
46. ERGON, M. C., Buğse, T., ve DERELİ, M. D. (2018). Maya mantarlarının identifikasyonunda iki farklı kromojenik besiyerinin karşılaştırılması. ***Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi***, 32(1), 23-31.
47. Shin, J. H., Nolte, F. S., and Morrison, C. J. (1997). Rapid identification of *Candida* species in blood cultures by a clinically useful PCR method. ***Journal of Clinical Microbiology***, 35(6), 1454-1459.
48. Jordan, J., and Durso, M. (2000). Comparison of 16S rRNA gene PCR and BACTEC 9240 for detection of neonatal bacteremia. ***Journal of Clinical Microbiology***, 38(7), 2574-2578.
49. Kudiyirickal, M. G., and Ivancakova, R. (2008). Antimicrobial agents used in endodontic treatment. ***Acta Medica-Hradec Kralove***, 51(1), 3.
50. Bikandi, J., San Millán, R., Moragues, M. D., Cebas, G., Clarke, M., Coleman, D. C., Sullivan, D. J., Quindós, G., and Pontón, J. (1998). Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *C. dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. ***Journal of Clinical Microbiology***, 36(9), 2428-2433.
51. Cutler, J. E. (1991). Putative virulence factors of *Candida albicans*. ***Annual Review of Microbiology***, 45(1), 187-218.
52. Gow, N. A., Brown, A. J., and Odds, F. C. (2002). Fungal morphogenesis and host invasion. ***Current Opinion in Microbiology***, 5(4), 366-371.
53. Yang, Y. (2003). Virulence factors of *Candida* species. In Héctor M., M.-M., Leila M., Lopes-Bezerra. (Eds.), *Current Progress in Medical Mycology*. Switzerland. Springer, pp. 223-228.
54. Budtz-Jørgensen, E. (1990). Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. ***Acta Odontologica Scandinavica***, 48(1), 61-69.

55. Mavor, A., Thewes, S., and Hube, B. (2005). Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. ***Current Drug Targets***, 6(8), 863-874.
56. Douglas, L. J. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. ***Trends in Microbiology***, 11(1), 30-36.
57. Rajasingham, K., and Challacombe, S. (1987). Processes involved in the invasion of host epithelial cells by candidal hyphae. ***Microbios Letters***, 36(143-144), 157-163.
58. Soll, D. R., Morrow, B., Srikantha, T., Vargas, K., and Wertz, P. (1994). Developmental and molecular biology of switching in *Candida albicans*. ***Oral Surgery, Oral medicine, Oral pathology***, 78(2), 194-201.
59. Lane, T., and Garcia, J. (1991). Phospholipase production in morphological variants of *Candida albicans*: Phospholipase-Bildung an morphologischen Varianten von *Candida albicans*. ***Mycoses***, 34(5-6), 217-220.
60. Bouchara, J.-P., Tronchin, G., Annaix, V., Robert, R., and Senet, J. (1990). Laminin receptors on *Candida albicans* germ tubes. ***Infection and Immunity***, 58(1), 48-54.
61. Han, Y., Ulrich, M. A., and Cutler, J. E. (1999). *Candida albicans* mannan extract—protein conjugates induce a protective immune response against experimental candidiasis. ***The Journal of Infectious Diseases***, 179(6), 1477-1484.
62. Tavares, D., Ferreira, P., Vilanova, M., Videira, A., and Arala-Chaves, M. (1995). Immunoprotection against systemic candidiasis in mice. ***International Immunology***, 7(5), 785-796.
63. Martínez, J. P., Gil, M. L., López-Ribot, J. L., and Chaffin, W. L. (1998). Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. ***Clinical Microbiology Reviews***, 11(1), 121-141.
64. Frank, R., and Steuer, P. (1985). Transmission electron microscopy of plaque accumulations in denture stomatitis. ***The Journal of Prosthetic Dentistry***, 53(1), 115-124.
65. Koga-Ito, C. Y., Lyon, J. P., Vidotto, V., and de Resende, M. A. (2006). Virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from oral candidosis patients and control individuals. ***Mycopathologia***, 161(4), 219-223.
66. Masuoka, J., and Hazen, K. C. (1997). Cell wall protein mannosylation determines *Candida albicans* cell surface hydrophobicity. ***Microbiology***, 143(9), 3015-3021.
67. Naglik, J. R., Challacombe, S. J., and Hube, B. (2003). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. ***Microbiology and Molecular Biology Reviews***, 67(3), 400-428.
68. Ghannoum, M. A. (2000). Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. ***Clinical Microbiology Reviews***, 13(1), 122-143.

69. Schaller, M., Borelli, C., Korting, H. C., and Hube, B. (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 48(6), 365-377.
70. Thiele, M. C. d. M., Carvalho, A. d. P. e., Gursky, L. C., Rosa, R. T., Samaranayake, L. P., and Rosa, E. A. R. (2008). The role of candidal histolytic enzymes on denture-induced stomatitis in patients living in retirement homes. *Gerodontology*, 25(4), 229-236.
71. Ivanovska, N. (2003). Phospholipases as a factor of pathogenicity in microorganisms. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22(5-6), 357-361.
72. Ibrahim, A. S., Mirbod, F., Filler, S. G., Banno, Y., Cole, G. T., Kitajima, Y., Edwards, J., Nozawa, Y., and Ghannoum, M. A. (1995). Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, 63(5), 1993-1998.
73. Barrett-Bee, K., Hayes, Y., Wilson, R. G., and Ryley, J. F. (1985). A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. *Microbiology*, 131(5), 1217-1221.
74. Niewerth, M., and Korting, H. (2001). Phospholipases of *Candida albicans*. *Mycoses*, 44(9-10), 361-367.
75. Pugh, D., and Cawson, R. (1975). The cytochemical localization of phospholipase A and lysophospholipase in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 13(1), 110-115.
76. Dagdeviren, M., Cerikcioglu, N., and Karavus, M. (2005). Acid proteinase, phospholipase and adherence properties of *Candida parapsilosis* strains isolated from clinical specimens of hospitalised patients. *Mycoses*, 48(5), 321-326.
77. Durmaz, R. (2001). Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Tipleri. Durmaz, R. (Editörler), *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. Ankara. Kozen Ofset, s. 35-43.
78. Dealler, S. F. (1991). *Candida albicans* colony identification in 5 minutes in a general microbiology laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(5), 1081-1082.
79. Pfaller, M. A., Houston, A., and Coffmann, S. (1996). Application of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(1), 58-61.
80. Lin, C., and Fung, D. (1987). Conventional and rapid methods for yeast identification. *Critical Reviews in Microbiology*, 14(4), 273-289.
81. Cárdenes-Perera, C.-D., Torres-Lana, Á., Alonso-Vargas, R. o., Moragues-Tosantas, M. a.-D., Pontón-San Emeterio, J., Quindós-Andrés, G., and Arévalo-Morales, M. a.-P. (2004). Evaluation of API ID 32C® and VITEK-2® to identify *Candida dubliniensis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 50(3), 219-221.
82. Ramani, R., Gromadzki, S., Pincus, D. H., Salkin, I. F., and Chaturvedi, V. (1998). Efficacy of API 20C and ID 32C systems for identification of common and rare clinical yeast isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(11), 3396-3398.

83. Selwitz, R. H., Ismail, A. I., and Pitts, N. B. (2007). Dental caries. *The Lancet*, 369(9555), 51-59.
84. Keyes, P. (1960). The infectious and transmissible nature of experimental dental caries: Findings and implications. *Archives of Oral Biology*, 1(4), 304-320.
85. Bratthall, D., Hänsel-Petersson, G., and Sundberg, H. (1996). Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *European Journal of Oral Sciences*, 104(4), 416-422.
86. Zero, D. T. (1999). Dental caries process. *Dental Clinics of North America*, 43(4), 635-664.
87. Larsen, M. (1990). Chemical events during tooth dissolution. *Journal of Dental Research*, 69(2), 575-580.
88. Fejerskov, O., Nyvad, B., Kidd, E. (2003). Pathology of Dental Caries. In Fejerskov, O., Kidd, E. (Eds.), *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Copenhagen. Blackwell Munksgaard, pp. 19-48.
89. Featherstone, J. D., Domejean-Orliaguet, S., Jenson, L., Wolff, M., and Young, D. A. (2007). Caries risk assessment in practice for age 6 through adult. *Journal of the California Dental Association*, 35(10), 703-713.
90. Fejerskov, O., Kidd, E. . (2003). *Dental Caries and The Disease and It's Clinical Management*. (2nd). Oxford: Blackwell.
91. Watt, R. G. (2002). Emerging theories into the social determinants of health: implications for oral health promotion. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 30(4), 241-247.
92. Silverstone, L. M. (1981). *Dental caries aetiology, pathology and prevention*. Macmillan International Higher Education.
93. Chi, D. L., Masterson, E. E., Carle, A. C., Mancl, L. A., and Coldwell, S. E. (2014). Socioeconomic status, food security, and dental caries in US children: mediation analyses of data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2007–2008. *American Journal of Public Health*, 104(5), 860-864.
94. Koser, C., ve Nalcaci, A. (2011). Çürük prevalansındaki yaklaşımlar ve karyogram konsepti. *Cumhuriyet Dental Journal*, 14(3), 230-245.
95. Zero, D. T., Fontana, M., Martínez-Mier, E. A., Ferreira-Zandoná, A., Ando, M., González-Cabezas, C., and Bayne, S. (2009). The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries: scientific advances in the United States. *The Journal of the American Dental Association*, 140(1) 25S-34S.
96. Kotsanos, N., and Darling, A. (1991). Influence of post-eruptive age of enamel on its susceptibility to artificial caries. *Caries Research*, 25(4), 241-250.

97. Bachtiar, E. W., Hermawan, I. Y., and BACHTIAR, B. M. (2018). Analysis of Salivary Protein Profiles and its Viscosity in Early Childhood Caries (A Cross-Sectional Study). *Journal of Clinical & Diagnostic Research*, 12(12), 28-30.
98. Edgar, W. (1992). Saliva: its secretion, composition and functions. *British Dental Journal*, 172(8), 305.
99. Diaz-Arnold, A. M., and Marek, C. A. (2002). The impact of saliva on patient care: A literature review. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 88(3), 337-343.
100. Pedersen, A., Bardow, A., Jensen, S. B., and Nauntofte, B. (2002). Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases*, 8(3), 117-129.
101. Humphrey, S. P., and Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162-169.
102. Tenovuo, J. (1998). Antimicrobial function of human saliva-how important is it for oral health? *Acta Odontologica Scandinavica*, 56(5), 250-256.
103. Dawes, C. (1996). Factors influencing salivary flow rate and composition. *Saliva and Oral Health*, 2, 27.
104. Thylstrup, A. F., O., Kidd, E. (1994). *Textbook of Clinical Cariology*. (2nd). University of Copenhagen: Handelshøjskolens Forlag.
105. Dodds, M. W., Johnson, D. A., and Yeh, C.-K. (2005). Health benefits of saliva: a review. *Journal of Dentistry*, 33(3), 223-233.
106. Spak, C., Johnson, G., and Ekstrand, J. (1994). Caries incidence, salivary flow rate and efficacy of fluoride gel treatment in irradiated patients. *Caries Research*, 28(5), 388-393.
107. Jacques, N. (1998). Molecular biological techniques and their use to study streptococci in dental caries. *Australian Dental Journal*, 43(2), 87-98.
108. Lang, N. P., Hotz, P. R., Gusberti, F. A., and Joss, A. (1987). Longitudinal clinical and microbiological study on the relationship between infection with *Streptococcus mutans* and the development of caries in humans. *Oral Microbiology and Immunology*, 2(1), 39-47.
109. Marsh, P. D. (1999). Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dental Clinics of North America*, 43(4), 599-614, v-vi.
110. Alaluusua, S., Kleemola-Kujala, E., Grönroos, L., and Evälahti, M. (1990). Salivary caries-related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. *Oral Microbiology and Immunology*, 5(2), 77-81.
111. Socransky, S. S. (1979). Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 6(7), 16-21.

112. Beighton, D., Hellyer, P., Lynch, E., and Heath, M. (1991). Salivary levels of mutans streptococci, lactobacilli, yeasts, and root caries prevalence in non-institutionalized elderly dental patients. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 19(5), 302-307.
113. Marsh, P. D., and Bradshaw, D. J. (1995). Dental plaque as a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(3), 169-175.
114. Caufield, P., Cutter, G., and Dasanayake, A. (1993). Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Journal of Dental Research*, 72(1), 37-45.
115. Berkowitz, R., Jordan, H., and White, G. (1975). The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouths of infants. *Archives of Oral Biology*, 20(3), 171-174.
116. Berkowitz, R., Turner, J., and Green, P. (1980). Primary oral infection of infants with *Streptococcus mutans*. *Archives of Oral Biology*, 25(4), 221-224.
117. Köhler, B., Andréén, I., and Jonsson, B. (1984). The effect of caries-preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. *Archives of Oral Biology*, 29(11), 879-883.
118. Tenovuo, J., Häkkinen, P., Paunio, P., and Emilson, C. (1992). Effects of chlorhexidine-fluoride gel treatments in mothers on the establishment of mutans streptococci in primary teeth and the development of dental caries in children. *Caries Research*, 26(4), 275-280.
119. Aaltonen, A., Tenovuo, J., Lehtonen, O.-P., Saksala, R., and Meurman, O. (1985). Serum antibodies against oral *Streptococcus mutans* in young children in relation to dental caries and maternal close-contacts. *Archives of Oral Biology*, 30(4), 331-335.
120. Dasanayake, A. P., Caufield, P. W., Cutter, G. R., and Stiles, H. (1993). Transmission of mutans streptococci to infants following short term application of an iodine-NaF solution to mothers' dentition. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 21(3), 136-142.
121. Stecksen-Blicks, C. (1985). Salivary counts of lactobacilli and *Streptococcus mutans* in caries prediction. *European Journal of Oral Sciences*, 93(3), 204-212.
122. Wikner, S. (1986). Short term effect of mechanical plaque control on salivary concentration of *S. mutans* and lactobacilli. *European Journal of Oral Sciences*, 94(4), 320-326.
123. Näse, L., Hatakka, K., Savilahti, E., Saxelin, M., Pönkä, A., Poussa, T., Korpela, R., and Meurman, J. H. (2001). Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Research*, 35(6), 412-420.

124. Molina, B. S., and Pelham Jr, W. E. (2003). Childhood predictors of adolescent substance use in a longitudinal study of children with ADHD. ***Journal of Abnormal Psychology***, 112(3), 497.
125. Seibert , J., Lindhe, J., Linde, J. (1989). *Textbook of Clinical Periodontology*. (2nd). Munksgaard, 477-514.
126. Van der Mei, H. C., Rustema-Abbing, M., de Vries, J., and Busscher, H. J. (2008). Bond strengthening in oral bacterial adhesion to salivary conditioning films. ***Applied and Environmental Microbiology***, 74(17), 5511-5515.
127. Koray, F. (1981). *Diş Çürükleri*. İstanbul: Altın Matbaacılık, 37-65.
128. Çakir, F., Gürkan, S., ve Attar, N. (2010). Çürük mikrobiyolojisi. ***Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi***, 34(3), 78-91.
129. Freedman, M., and Tanzer, J. (1974). Dissociation of plaque formation from glucan-induced agglutination in mutants of *Streptococcus mutans*. ***Infection and Immunity***, 10(1), 189-196.
130. Krol, D. M. (2003). Dental caries, oral health, and pediatricians. ***Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care***, 33(8), 253.
131. Kashket, S., and DePaola, D. P. (2002). Cheese consumption and the development and progression of dental caries. ***Nutrition Reviews***, 60(4), 97-103.
132. Roberson, T., Heymann, HO. and Swift, EJ. (2006). *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*. (5th). St. Louis: Mosby, 77-107.
133. Neuhaus, K. W., Rodrigues, J. A., Hug, I., Stich, H., and Lussi, A. (2011). Performance of laser fluorescence devices, visual and radiographic examination for the detection of occlusal caries in primary molars. ***Clinical Oral Investigations***, 15(5), 635-641.
134. Ekstrand, K., Ricketts, D., and Kidd, E. (1997). Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth on the occlusal surface: an in vitro examination. ***Caries Research***, 31(3), 224-231.
135. Ricketts, D., Kidd, E., Weerheijm, K., and de Soet, H. (1997). Hidden caries: what is it? Does it exist? Does it matter? ***International Dental Journal***, 47(5), 259-265.
136. Nyvad, B., Machiulskiene, V., and Bælum, V. (1999). Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. ***Caries Research***, 33(4), 252-260.
137. Kühnisch, J., Bücher, K., and Hickel, R. (2007). The intra/inter-examiner reproducibility of the new DIAGNOdent Pen on occlusal sites. ***Journal of Dentistry***, 35(6), 509-512.
138. Ekstrand, K. R., Martignon, S., Ricketts, D., and Qvist, V. (2007). Detection and activity assessment of primary coronal caries lesions: a methodologic study. ***Operative Dentistry***, 32(3), 225-235.

139. Pitts, N., and Stamm, J. (2004). International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT)—final consensus statements: agreeing where the evidence leads. *Journal of Dental Research*, 83(1), 125-128.
140. Ismail, A. I., Sohn, W., Tellez, M., Amaya, A., Sen, A., Hasson, H., and Pitts, N. B. (2007). The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 35(3), 170-178.
141. Altarakemah, Y., Al-Sane, M., Lim, S., Kingman, A., and Ismail, A. I. (2013). A new approach to reliability assessment of dental caries examinations. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 41(4), 309-316.
142. Ismail, A. (2004). Visual and visuo-tactile detection of dental caries. *Journal of Dental Research*, 83(1), 56-66.
143. Agustsdottir, H., Gudmundsdottir, H., Eggertsson, H., Jonsson, S. H., Gudlaugsson, J. O., Saemundsson, S. R., Eliasson, S. T., Arnadottir, I. B., and Holbrook, W. P. (2010). Caries prevalence of permanent teeth: a national survey of children in Iceland using ICDAS. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 38(4), 299-309.
144. Pitts, N., and Fyffe, H. (1988). The effect of varying diagnostic thresholds upon clinical caries data for a low prevalence group. *Journal of Dental Research*, 67(3), 592-596.
145. Mitropoulos, P., Rahiotis, C., Kakaboura, A., and Vougiouklakis, G. (2012). The impact of magnification on occlusal caries diagnosis with implementation of the ICDAS II criteria. *Caries Research*, 46(1), 82-86.
146. Ismail, A. I., Brodeur, J. M., Gagnon, P., Payette, M., Picard, D., Hamalian, T., Olivier, M., and Eastwood, B. J. (1992). Prevalence of non-cavitated and cavitated carious lesions in a random sample of 7-9-year-old schoolchildren in Montreal, Quebec. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 20(5), 250-255.
147. Dikmen, B. (2015). Icdas II criteria (international caries detection and assessment system). *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 49(3), 63.
148. Parolo, C., and Maltz, M. (2006). Microbial contamination of noncavitated caries lesions: a scanning electron microscopic study. *Caries Research*, 40(6), 536-541.
149. Loesche, W., Schork, A., Terpenning, M., Chen, Y., and Stoll, J. (1995). Factors which influence levels of selected organisms in saliva of older individuals. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(10), 2550-2557.
150. Nikawa, H., Egusa, H., Makihira, S., Nishimura, M., Ishida, K., Furukawa, M., and Hamada, T. (2003). A novel technique to evaluate the adhesion of *Candida* species to gingival epithelial cells. *Mycoses*, 46(9-10), 384-389.
151. Nikawa, H., Yamashiro, H., Makihira, S., Nishimura, M., Egusa, H., Furukawa, M., Setijanto, D., and Hamada, T. (2003). In vitro cariogenic potential of *Candida albicans*. *Mycoses*, 46(11-12), 471-478.

152. Siqueira Jr, J. F., Rôças, I. N., Lopes, H. P., Elias, C. N., and de Uzeda, M. (2002). Fungal infection of the radicular dentin. *Journal of Endodontics*, 28(11), 770-773.
153. Sziegoleit, F., Sziegoleit, A., and Wetzel, W.-E. (1999). Effect of dental treatment and/or local application of amphotericin B to carious teeth on oral colonization by Candida. *Medical Mycology*, 37(5), 345-350.
154. Marchant, S., Brailsford, SR., Twomey, AC., Roberts, GJ., Beighton, D. (2001). The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries Research*, 35, 397–406.
155. Hossain, H., Ansari, F., Schulz-Weidner, N., Wetzel, WE., Chakraborty, T., Domann, E. (2003). Clonal identity of Candida albicans in the oral cavity and the gastrointestinal tract of pre-school children. *Oral Microbiology and Immunology*, 18, 302-308.
156. Xu, H., Jenkinson, HF., Dongari-Bagtzoglou, A. (2014). Innocent Until Proven Guilty: Mechanisms and Roles of Streptococcus-Candida interactions in Oral Health and Disease. *Molecular Oral Microbiology*, 29, 99-116).
157. Pereira-Cenci, T., Deng, DM., Kraneveld, EA., Manders, EM., Del Bel Cury, AA., Ten Cate, JM., Crielaard, W. (2008). The Effect of Streptococcus Mutans and Candida glabrata on Candida albicans Biofilms Formed on Different Surfaces. *Archives of Oral Biology*, 53, 755-764.
158. Çolak, H., Dülgergil, Ç., T., Dalli, M., and Hamidi, M. M. (2013). Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 4(1), 29.
159. Hajishengallis, E., Parsaei, Y., Klein, M. I., and Koo, H. (2017). Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries. *Molecular Oral Microbiology*, 32(1), 24-34.
160. Drury, T. F., Horowitz, A. M., Ismail, A. I., Maertens, M. P., Rozier, R. G., and Selwitz, R. H. (1999). Diagnosing and reporting early childhood caries for research purposes: a report of a workshop sponsored by the National Institute of Dental and Craniofacial Research, the Health Resources and Services Administration, and the Health Care Financing Administration. *Journal of Public Health Dentistry*, 59(3), 192-197.
161. Ramos-Gomez, F., Weintraub, J., Gansky, S., Hoover, C., and Featherstone, J. (2003). Bacterial, behavioral and environmental factors associated with early childhood caries. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 26(2), 165-173.
162. Hajishengallis, E., Parsaei, Y., Klein, MI., Koo, H. (2017). Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries. *Molecular Oral Microbiology*, 32, 24-34.
163. Yang, X. Q., Zhang, Q., Lu, L. Y., Yang, R., Liu, Y., and Zou, J. (2012). Genotypic distribution of Candida albicans in dental biofilm of Chinese children associated with severe early childhood caries. *Archives of Oral Biology*, 57(8), 1048-1053.
164. Marchant, S., Brailsford, S., Twomey, A., Roberts, G., and Beighton, D. (2001). The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries Research*, 35(6), 397-406.

165. Rozkiewicz, D., Daniluk, T., Zaremba, M., Cylwik-Rokicka, D., Stokowska, W., Pawińska, M., Dabrowska, E., Marczuk-Kolada, G., Waszkiel, D. (2006). Oral *Candida albicans* Carriage in Healthy Pre-school and School Children. ***Advances in Medical Sciences***, 51(1), 187-190.
166. Klinke, T., Guggenheim, B., Klimm, W., and Thurnheer, T. (2011). Dental caries in rats associated with *Candida albicans*. ***Caries Research***, 45(2), 100-106.
167. Falsetta, M. L., Klein, M. I., Colonne, P. M., Scott-Anne, K., Gregoire, S., Pai, C.-H., Gonzalez-Begne, M., Watson, G., Krysan, D. J., and Bowen, W. H. (2014). Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. ***Infection and Immunity***, 82(5), 1968-1981.
168. Neves, A., Lobo, L., Pinto, K., Pires, E., Requejo, M., Maia, L., and Antonio, A. (2015). Comparison between clinical aspects and salivary microbial profile of children with and without early childhood caries: a preliminary study. ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 39(3), 209-214.
169. Thomas, A., Mhambrey, S., Chokshi, K., Chokshi, A., Jana, S., Thakur, S., Jose, D., and Bajpai, G. (2016). Association of oral *Candida albicans* with severe early childhood caries-a pilot study. ***Journal of Clinical and Diagnostic Research***, 10(8), ZC109-ZC112.
170. Moreira, D., Spolidorio, D. M. P., Rodrigues, J. A. d. O., Boriollo, M. F. G., Pereira, C. V., Rosa, E. A. R., and Höfling, J. F. (2001). *Candida* spp. biotypes in the oral cavity of school children from different socioeconomic categories in Piracicaba-SP, Brazil. ***Pesquisa Odontológica Brasileira***, 15(3), 187-195.
171. Scully, C., Ei-Kabir, M., and Samaranayake, L. P. (1994). *Candida* and oral candidosis: a review. ***Critical Reviews in Oral Biology & Medicine***, 5(2), 125-157.
172. Shen, S., Samaranayake, L., Yip, H., and Dyson, J. (2002). Bacterial and yeast flora of root surface caries in elderly, ethnic Chinese. ***Oral Diseases***, 8(4), 207-217.
173. Coulter, W., Murray, S., and Kinirons, M. (1993). The use of a concentrated oral rinse culture technique to sample oral *Candida* and lactobacilli in children, and the relationship between *Candida* and lactobacilli levels and dental caries experience: a pilot study. ***International Journal of Paediatric Dentistry***, 3(1), 17-21.
174. Klinke, T., Guggenheim, B., Klimm, W., Thurnheer, T. (2011). Dental Caries in Rats Associated with *Candida albicans*. ***Caries Research***, 45, 100-106.
175. Diaz, P. I., Strausbaugh, L. D., and Dongari-Bagtzoglou, A. (2014). Fungal-bacterial interactions and their relevance to oral health: linking the clinic and the bench. ***Frontiers in Cellular and Infection Microbiology***, 4, 101.
176. Mehta, A., and Bhalla, S. (2014). Assessing consequences of untreated carious lesions using pufa index among 5-6 years old school children in an urban Indian population. ***Indian Journal of Dental Research***, 25(2), 150.
177. Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. ***Caries Research***, 38(3), 182-191.

178. Koçanalı, B., Ak, A. T., ve Çoğulu, D. (2014). Çocuklarda diş çürüğüne neden olan faktörlerin incelenmesi. *Pediatric Research*, 1(2), 76-79.
179. Peker, K., ve Bermek, G. (2008). Diş çürüklerinin etiyolojisinde ve önlenmesinde fermente olabilen karbonhidratların önemi. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 42(3-4), 1-9.
180. Koo, H., and Bowen, W. H. (2014). Candida albicans and Streptococcus mutans: a potential synergistic alliance to cause virulent tooth decay in children. *Future Microbiology*, 9(12), 1295-1297.
181. Tanner, A., Kressirer, C. A., and Faller, L. L. (2016). Understanding Caries From the Oral Microbiome Perspective. *Journal of the California Dental Association*, 44(7), 437.
182. Li, X.-K., Ji, W.-J., Zhao, J., Wang, S.-J., and Au, C.-T. (2005). Ammonia decomposition over Ru and Ni catalysts supported on fumed SiO₂, MCM-41, and SBA-15. *Journal of Catalysis*, 236(2), 181-189.
183. Hossain, H., Ansari, F., Schulz-Weidner, N., Wetzel, W. E., Chakraborty, T., and Domann, E. (2003). Clonal identity of Candida albicans in the oral cavity and the gastrointestinal tract of pre-school children. *Oral Microbiology and Immunology*, 18(5), 302-308.
184. Szabó, B., Majoros, L., Papp-Falusi, E., Szabó, Z., Szabó, J., Márton, I., and Kelentey, B. (2014). Studies on the possible aetiological role of different Candida species in pathogenesis of dentine caries by monitoring the calcium release from tooth particles. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 61(1), 11-17.
185. Schulz-Weidner, N., Ansari, F., Hossain, H., Chakraborty, E., Domann, E., and Wetzel, W. (2005). Vergleichende PCR-Typisierung von Candida albicans aus der Mundhöhle und dem Magen-Darm-Trakt. *Oralprophylaxe Kinderzahnheilkd*, 27, 139-143.
186. Starr, J., White, T., Leroux, B., Luis, H., Bernardo, M., Leitao, J., and Roberts, M. (2002). Persistence of oral Candida albicans carriage in healthy Portuguese schoolchildren followed for 3 years. *Oral Microbiology and Immunology*, 17(5), 304-310.
187. Rozkiewicz, D., Daniluk, T., Zaremba, M., Cylwik-Rokicka, D., Stokowska, W., Pawińska, M., Dabrowska, E., Marczuk-Kolada, G., and Waszkiel, D. (2006). Oral Candida albicans carriage in healthy preschool and school children. *Advances in Medical Sciences*, 51, 187-190.
188. Gabris, K., Nagy, G., Madlena, M., Dénes, Z., Marton, S., Keszthelyi, G., and Banoczy, J., (1999). Associations between microbiological and salivary caries activity tests and caries experience in Hungarian adolescents. *Caries Research*, 33(3), 191-195.
189. Beighton, D., Brailsford, S., Samaranayake, L. P., Brown, J. P., Ping, F. X., Grant-Mills, D., Harris, R., Lo, E. C., Naidoo, S., and Ramos-Gomez, F. (2004). A multi-

- country comparison of caries-associated microflora in demographically diverse children. *Community Dental Health*, 21(1), 96-101.
190. Branting, C., Sund, M.-L., and Linder, L. (1989). The influence of *Streptococcus mutans* on adhesion of *Candida albicans* to acrylic surfaces in vitro. *Archives of Oral Biology*, 34(5), 347-353.
 191. Bowen, W., and Koo, H. (2011). Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Research*, 45(1), 69-86.
 192. Sullivan, D., Haynes, K., Bille, J., Boerlin, P., Rodero, L., Lloyd, S., Henman, M., and Coleman, D. (1997). Widespread geographic distribution of oral *Candida dubliniensis* strains in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(4), 960-964.
 193. Al-Ahmad, A., Auschill, T., Dakhel, R., Wittmer, A., Pelz, K., Heumann, C., Hellwig, E., and Arweiler, N. (2016). Prevalence of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in caries-free and caries-active children in relation to the oral microbiota—a clinical study. *Clinical Oral Investigations*, 20(8), 1963-1971.
 194. Pinjon, E., Moran, G., Coleman, D., and Sullivan, D. *Azole susceptibility and resistance in Candida dubliniensis*. Portland Press Ltd., 2005.
 195. Lozano Moraga, C. P., Rodriguez Martinez, G. A., Lefimil Puente, C. A., Morales Bozo, I. C., and Urzúa Orellana, B. R. (2017). Prevalence of *Candida albicans* and carriage of *Candida non-albicans* in the saliva of preschool children, according to their caries status. *Acta Odontologica Scandinavica*, 75(1), 30-35.
 196. Klinke, T., Kneist, S., de Soet, J. J., Kuhlisch, E., Mauersberger, S., Förster, A., and Klimm, W. (2009). Acid production by oral strains of *Candida albicans* and lactobacilli. *Caries Research*, 43(2), 83-91.
 197. Fakhruddin, K. S., Perera Samaranayake, L., Egusa, H., Chi Ngo, H., Panduwawala, C., Venkatachalam, T., Kumarappan, A., and Pesee, S. (2020). *Candida* biome of severe early childhood caries (S-ECC) and its cariogenic virulence traits. *Journal of Oral Microbiology*, 12(1), 1724484.
 198. Baraniya, D., Chen, T., Nahar, A., Alakwaa, F., Hill, J., Tellez, M., Ismail, A., Puri, S., and Al-Hebshi, N. N. (2020). Supragingival mycobiome and inter-kingdom interactions in dental caries. *Journal of Oral Microbiology*, 12(1), 1729305.
 199. Kadir, T., Uygün, B., and Akyüz, S. (2005). Prevalence of *Candida* species in Turkish children: relationship between dietary intake and carriage. *Archives of Oral Biology*, 50(1), 33-37.
 200. Fechney, J. M., Browne, G. V., Prabhu, N., Irinyi, L., Meyer, W., Hughes, T., Bockmann, M., Townsend, G., Salehi, H., and Adler, C. J. (2019). Preliminary study of the oral mycobiome of children with and without dental caries. *Journal of Oral Microbiology*, 11(1), 1536182.

201. Uygun-Can, B., Kadir, T., and Akyüz, S. (2007). Oral candidal carriage in children with and without dental caries. *Quintessence International*, 38(1),
202. Schroth, R. J., Moore, P., and Brothwell, D. J. (2005). Prevalence of early childhood caries in 4 Manitoba communities. *Journal of the Canadian Dental Association*, 71(8),
203. Karahan, Z., Güriz, H., Ağırbaşı, H., Balaban, N., Göçmen, J., Aysev, D., and Akar, N. (2004). Genotype distribution of *Candida albicans* isolates by 25S intron analysis with regard to invasiveness. *Mycoses*, 47(11-12), 465-469.
204. Gurbuz, M., and Kaleli, I. (2010). Molecular analysis of *Candida albicans* isolates from clinical specimens. *Mycopathologia*, 169(4), 261-267.
205. Kleinegger, C. L., Lockhart, S. R., Vargas, K., and 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.
206. Arendorf, T., and Walker, D. (1980). The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Archives of Oral Biology*, 25(1), 1-10.
207. Al-Karaawi, Z., Manfredi, M., Waugh, A., McCullough, M. J., Jorge, J., Scully, C., and Porter, S. (2002). Molecular characterization of *Candida* spp. isolated from the oral cavities of patients from diverse clinical settings. *Oral Microbiology and Immunology*, 17(1), 44-49.
208. Neuhaus, K., Ellwood, R., Lussi, A., and Pitts, N. (2009). Traditional lesion detection aids. *Detection, Assessment, Diagnosis and Monitoring of Caries*, 21, 42-51.
209. Diniz, M. B., Rodrigues, J. A., Hug, I., De Cássia Loiola Cordeiro, R., and Lussi, A. (2009). Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for occlusal caries detection. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 37(5), 399-404.
210. Mitropoulos, P., Rahiotis, C., Stamatakis, H., and Kakaboura, A. (2010). Diagnostic performance of the visual caries classification system ICDAS II versus radiography and micro-computed tomography for proximal caries detection: an in vitro study. *Journal of Dentistry*, 38(11), 859-867.
211. Lehner, T. (1966). Immunofluorescence study of *Candida albicans* in candidiasis, carriers and controls. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 91(1), 97-104.
212. Budtz-Jørgensen, E. (2000). Ecology of *Candida*-associated denture stomatitis. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12(3), 170-185.
213. Lilienthal, B. (1950). Studies of the Flora of the Mouth III. Yeast-Like Organism: Some Observation on Their Incidence in the Mouth. *Australian Journal of Experimental Biology & Medical Science*, 28(3), 279-286.
214. Ghasempour, M., Sefidgar, S. A. A., Eyzadian, H., and Gharakhani, S. (2011). Prevalence of *Candida albicans* in dental plaque and caries lesion of early childhood caries (ECC) according to sampling site. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 2(4), 304.

215. Wu, N., Lin, J., Wu, L., and Zhao, J. (2015). Distribution of *Candida albicans* in the oral cavity of children aged 3-5 years of Uygur and Han nationality and their genotype in caries-active groups. ***Genetics and Molecular Research***, 14(1), 748-757.
216. Al-hebshi, N. N., Abdulhaq, A., Quadri, M. F. A., and Tobaigy, F. M. (2015). Salivary carriage of *Candida* species in relation to dental caries in a population of Saudi Arabian primary school children. ***The Saudi Journal for Dental Research***, 6(1), 54-59.
217. Urzúa, B., Hermosilla, G., Gamonal, J., Morales-Bozo, I., Canals, M., Barahona, S., Cóccola, C., and 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.
218. Garcia, L. T., Cristancho, L. M., Vera, E. P., and Begambre, O. (2015). A new multiplex-PCR for urinary tract pathogen detection using primer design based on an evolutionary computation method. ***Journal of Microbiology and Biotechnology***, 25(10), 1714-1727.
219. De-la-Torre, J., Marichalar-Mendia, X., Varona-Barquin, A., Marcos-Arias, C., Eraso, E., Aguirre-Urizar, J. M., and Quindós, G. (2016). Caries and *Candida* colonisation in adult patients in Basque Country (Spain). ***Mycoses***, 59(4), 234-240.
220. Qiu, R., Li, W., Lin, Y., Yu, D., and Zhao, W. (2015). Genotypic diversity and cariogenicity of *Candida albicans* from children with early childhood caries and caries-free children. ***BMC Oral Health***, 15(1), 1-6.
221. Xiao, J., Moon, Y., Li, L., Rustchenko, E., Wakabayashi, H., Zhao, X., Feng, C., Gill, S. R., McLaren, S., and Malmstrom, H. (2016). *Candida albicans* carriage in children with severe early childhood caries (S-ECC) and maternal relatedness. ***PloS One***, 11(10), e0164242.
222. Fragkou, S., Balasouli, C., Tsuzukibashi, O., Argyropoulou, A., Menexes, G., Kotsanos, N., and Kalfas, S. (2016). *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Candida albicans* in oral samples from caries-free and caries-active children. ***European Archives of Paediatric Dentistry***, 17(5), 367-375.
223. Xiao, J., Grier, A., Faustoferri, R., Alzoubi, S., Gill, A., Feng, C., Liu, Y., Quivey, R., Kopycka-Kedzierawski, D., and Koo, H. (2018). Association between oral candida and bacteriome in children with severe ECC. ***Journal of Dental Research***, 97(13), 1468-1476.
224. Gao, X., Jiang, S., Koh, D., and Hsu, C. Y. S. (2016). Salivary biomarkers for dental caries. ***Periodontology 2000***, 70(1), 128-141.
225. Vieira, A. R., Hiller, N. L., Powell, E., Kim, L. H. J., Spirk, T., Modesto, A., and Kreft, R. (2019). Profiling microorganisms in whole saliva of children with and without dental caries. ***Clinical and Experimental Dental Research***, 5(4), 438-446.
226. Hajishengallis, E., Forrest, C., and Koo, H. (2016). Early childhood caries: future perspectives in risk assessment. ***JDR Clinical and Translational Research***, 1(2), 110.

227. Kim, D., Sengupta, A., Niepa, T. H., Lee, B.-H., Weljie, A., Freitas-Blanco, V. S., Murata, R. M., Stebe, K. J., Lee, D., and Koo, H. (2017). *Candida albicans* stimulates *Streptococcus mutans* microcolony development via cross-kingdom biofilm-derived metabolites. ***Scientific Reports***, 7(1), 1-14.
228. Hamada, S., Torii, M., Kotani, S., and Tsuchitani, Y. (1981). Adherence of *Streptococcus sanguis* clinical isolates to smooth surfaces and interactions of the isolates with *Streptococcus mutans* glucosyltransferase. ***Infection and Immunity***, 32(1), 364-372.
229. Zhang, W., Li, Y., Lin, J., Abduryim, A., and Zhao, J. (2018). Cariogenicity of *Candida albicans* of distinct genotypes among 3-5-year-old Uygur children in Kashgar, Chi na-a case-control study. ***BMC Oral Health***, 18(1), 1-8.
230. Shipman, B. (1979). Clinical evaluation of oral *Candida* in cancer chemotherapy patients. ***The Journal of Prosthetic Dentistry***, 41(1), 63-67.
231. Hagihara, Y., Kaminishi, H., Cho, T., Tanaka, M., and Kaita, H. (1988). Degradation of human dentine collagen by an enzyme produced by the yeast *Candida albicans*. ***Archives of Oral Biology***, 33(8), 617-619.
232. Villavicencio, J., Arango, M., Ordonez, A., Contreras, A., and Villegas, L. (2018). Early childhood caries, salivary and microbiological aspects among 3-to 4-year-old children in Cali, Colombia. ***European Archives of Paediatric Dentistry***, 19(5), 347-352.
233. Klinke, T., Urban, M., Lück, C., Hannig, C., Kuhn, M., and Krämer, N. (2014). Changes in *Candida* spp., *mutans streptococci* and *lactobacilli* following treatment of early childhood caries: a 1-year follow-up. ***Caries Research***, 48(1), 24-31.
234. Rego, M. A. D., Koga-Ito, C. Y., and Jorge, A. O. C. (2003). Effects of oral environment stabilization procedures on counts of *Candida* spp. in children. ***Pesquisa Odontológica Brasileira***, 17(4), 332-336.
235. Peretz, B., Mazor, Y., Dagon, N., and Bar-Ness Greenstein, R. (2011). *Candida*, *mutans streptococci*, oral hygiene and caries in children. ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 36(2), 185-188.



Ek-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 19/10/2018-E.39703



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 21071282-050.99-
 Konu : Etik Kurulu Hk.

Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirmek üzere göndermiş olduğunuz "Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkinin Değerlendirilmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
Kurul Başkanı

Ek:Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu (3 Sayfa)/Elden Teslim Edilecektir.

19/10/2018 Birim Evrak Sorumlusu

N. Cihan ÜNAY



Evrakı Doğrulamak İçin: <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr>
 Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Biskek Cad. No:4 kat 1 Emek/Ankara
 Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26
 Posta: dhh@isim@gazi.edu.tr İnternet Adresi: <http://dent.gazi.edu.tr>

Pin: 71632
 Bilgi için :N. Cihan Ünay
 Birim Evrak Sorumlusu
 Telefon No:(0312) 203 40 47

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

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ tarafından gönderilen gönderilen "Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkisinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Bişkek Caddesi 82. Sokak No:4 E Blok Zemin Kat Çankaya ANKARA
	TELEFON	0312 203 41 38
	FAKS	0312 203 41 39
	E-POSTA	disetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Gazi Üniv. Diş Hek. Fak. Çocuk Diş Hekimliği Ana. Bil. Dalı Başk.			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ				
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Nur MOLLAOĞLU
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ tarafından gönderilen gönderilen "Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkisinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	18.10.2018	Versiyon 2	Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	ILAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER:	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: GÜDHKAEK.18.7/4	Tarih: 18.10.2018		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Tayfun ALAÇAM	Endodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU (Etik Kurul Başkanı)	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Hülya ERTEN	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Kahraman GÜNGÖR	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Burcu BALOŞ TUNCER	Ortodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Şebnem GÜLEN	Fizyoloji	Ufuk Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ	Pedodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☒ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Ferhan KESKİN EĞİLMEZ (Bildirimlerden)	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Nur MOLLAOĞLU
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ tarafından gönderilen gönderilen "Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
sorumlu olan üye)									
Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR (etik kurul başkanı yardımcısı)	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Benay YILDIRIM	Oral Patoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Uzm. Dr. Hakan TÜZÜN	Halk Sağlığı	Sağlık Bakanlığı	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Dr. Gökhan TÜRE	Özel Hukuk	Gazi Ü. Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
İlker YAVUZ	Fotoğraf Eğitmeni	-	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Nur MOLLAOĞLU
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Ek-2. Hasta Onam Formu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİNDE
ÇOCUKLARDA YAPILACAK OLAN
“GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR” DA YER ALACAK
“HASTA ÇOCUĞUN EBEVEYNİNE” YÖNELİK
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

Araştırma Projesinin Adı: Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkinin Değerlendirilmesi

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Diğer Araştırmacıların Adı: Dt. Tuğçe TALAY

Destekleyici (varsa):

Değerli anne ve babalar;

Benim adım Dt.Tuğçe TALAY Sizin çocuğunuzun yaşlarında olup da dişlerinde çürük olan çocuklarda bir araştırma yapıyoruz. Amacımız, bu hastalığın etkenin doğru belirlenmesi ve bu çürük dişlere sahip olan çocuklara daha doğru tedaviler yapılabilmesi faydalı bilgilere ulaşılması amaçlanmaktadır.

Bu araştırmayı sürdürebilmek ve sonuçları doğru değerlendirilebilmek için aynı yaş gruplarında çürüksüz çocuklar ile karşılaştırılmalarına gereksinim vardır.

Araştırmaya ben, Dt. Tuğçe TALAY ve Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ katılacaktır. Eğer sizin çocuğunuzun da bu araştırmaya katılmasını isterseniz çocuğunuzdan istenen tek şey plastik pipetle ağızdan tükürük örneği alınacaktır. Çürük ile ilgili mikropların tipleri değerlendirilecektir.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak sizin çocuğunuzun adını ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Eğer bu çalışmaya katılırsan diş çürüklerine sahip çocukların tanı almasına katkı sağlamış olacaksınız. Bu araştırma hakkında çocuğunuza da bilgi vereceğiz ve ondan da bu çalışmaya katılması için izin alacağız. Aklınıza şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsiniz. Telefon numaram ve adresim aşağıda bulunmaktadır.

Çocuğunuzun bu araştırmaya katılmasını kabul ediyorsanız lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanızı atınız. Daha sonra bu formun bir kopyası size verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bişkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

İmza:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Dt. Tuğçe TALAY

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bişkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

İmza:

Ek-2. (devam) Hasta Onam Formu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİNDE
OKUL ÇAĞINDAKİ ÇOCUK HASTALARDA YAPILACAK
"GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR" DA YER ALACAK
"HASTA ÇOCUKLAR" İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkisinin Değerlendirilmesi

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Diğer Araştırmacıların Adı: Dt. Tuğçe TALAY

Destekleyici (varsa):

Sevgili.....

Benim adım Dt. Tuğçe TALAY Senin yaşlarında olup da dişlerinde çürük olan çocuklarda bir araştırma yapıyoruz. Amacımız, bu hastalığın etkenin doğru belirlenmesi ve bu hastalığa sahip olan çocuklara daha doğru tedaviler sağlamaktır.

Araştırmaya Dt. Tuğçe TALAY ve Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ katılacaktır. Bu araştırmayı sürdürebilmek için çürük dişlere sahip çocukların yanı sıra onların yaşlarına yakın olan çürüksüz dişleri olan çocukları da araştırmaya katmamız gerekiyor. Eğer sen de bu araştırmaya katılmayı istersen ağız içinden plastik pipetle tükürük toplayacağım. Sonra laboratuvarında hangi mikroplar var onlara bakacağım.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak senin adını ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Eğer bu çalışmaya katılırsan hasta çocukların daha güvenilir ve başarılı bir şekilde tanı almasına ve tedavi edilmesine katkı sağlamış olacaksın.

Bu araştırma hakkında anne ve babana bilgi vereceğiz ve senin de bu çalışmaya katılıp katılmaman için onlardan izin alacağız. Sen de bu konuyu anne ve/veya baban ile konuşabilirsin. Eğer katılmak istemezsen hiç kimse sana kızmaz veya küsmez.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim aşağıda yazıyor.

Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanı at. Daha sonra bu formun bir kopyası sana ve ailene verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bışkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

İmza:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Dt. Tuğçe TALAY

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bışkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

İmza:

Ek-2. (devam) Hasta Onam Formu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİNDE
ÇOCUKLARDA YAPILACAK OLAN
“GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR” DA YER ALACAK
“SAĞLIKLI ÇOCUĞUN EBEVEYNİNE” YÖNELİK
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

Araştırma Projesinin Adı: Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkinin Değerlendirilmesi

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Diğer Araştırmacıların Adı: Dt. Tuğçe TALAY

Destekleyici (varsa):

Değerli anne ve babalar;

Benim adım Dt.Tuğçe TALAY Sizin çocuğunuzun yaşlarında olup da dişlerinde çürük olan çocuklarda bir araştırma yapıyoruz. Amacımız, bu hastalığın etkenin doğru belirlenmesi ve bu hastalığa sahip olan çocuklara daha doğru tedaviler yapılabilmesi faydalı bilgilere ulaşılması amaçlanmaktadır. Bu araştırmayı sürdürebilmek ve sonuçları doğru değerlendirilebilmek için aynı yaş gruplarında çürüksüz çocuklar ile karşılaştırılmalarına gereksinim vardır.

Araştırmaya ben, Dt. Tuğçe TALAY ve Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ katılacaktır. Eğer sizin çocuğunuzun da bu araştırmaya katılmasını isterseniz çocuğunuzdan istenen tek şey plastik pipetle ağızdan tükürük örneği alınacaktır. Çürük ile ilgili mikropların tipleri değerlendirilecektir.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak sizin çocuğunuzun adını ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Eğer bu çalışmaya katılırsan diş çürüklerine sahip çocukların tanı almasına ve tedavi edilmesine katkı sağlamış olacaksın.

Bu araştırma hakkında çocuğunuza da bilgi vereceğiz ve ondan da bu çalışmaya katılması için izin alacağız. Aklınıza şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsiniz. Telefon numaram ve adresim aşağıda bulunmaktadır.

Çocuğunuzun bu araştırmaya katılmasını kabul ediyorsanız lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanızı atınız. Daha sonra bu formun bir kopyası size verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bışkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

İmza:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Dt. Tuğçe TALAY

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bışkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

İmza:

Ek-2. (devam) Hasta Onam Formu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİNDE
OKUL ÇAĞINDAKİ ÇOCUK HASTALARDA YAPILACAK
"GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR" DA YER ALACAK
"SAĞLIKLI ÇOCUKLAR" İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: Çocuklarda Tükürükten İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Prevelansının Çürük Düzeyi İle İlişkisinin Değerlendirilmesi

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Diğer Araştırmacıların Adı: Dt. Tuğçe TALAY

Destekleyici (varsa):

Sevgili.....

Benim adım Dt. Tuğçe TALAY Senin yaşlarında olup da dişlerinde çürük olan çocuklarda bir araştırma yapıyoruz. Amacımız, bu hastalığın nedenini doğru belirlenmesi ve bu hastalığa sahip olan çocuklara daha doğru tedaviler sağlanmasında faydalı olabilecek bilgilere ulaşılacaktır.

Araştırmaya ben ve Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ katılacaktır. Bu araştırmayı sürdürebilmek için çürüklü dişlere sahip çocukların yanı sıra onların yaşlarına yakın olan çürüksüz çocukların da araştırmaya katmamız gerekiyor. Eğer sen de bu araştırmaya katılmayı istersen ağız içinden plastik pipetle tükürük toplayacağım. Sonra laboratuvarında hangi mikroplar var onlara bakacağım.

Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz ancak senin adını ve tahlil sonuçlarını kimseye açıklamayacağız.

Eğer bu çalışmaya katılırsan çürüklü çocukların daha güvenilir ve başarılı bir şekilde tanı almasına ve tedavi edilmesine katkı sağlamış olacaksın.

Bu araştırma hakkında anne ve babana bilgi vereceğiz ve senin de bu çalışmaya katılıp katılmaman için onlardan izin alacağız. Sen de bu konuyu anne ve/veya baban ile konuşabilirsin. Eğer katılmak istemezsen hiç kimse sana kızmaz veya küsmez.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek soruları bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim aşağıda yazıyor.

Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan lütfen aşağıya adını ve soyadını yazarak imzanı at. Daha sonra bu formun bir kopyası sana ve ailene verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bışkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

Tel:

İmza:

Araştırmacının adı-soyadı, ünvanı: Dt. Tuğçe TALAY

Adres: Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı. Bışkek Cd.(8.Cd.) 82.Sk. No:4 06510 Emek - ANKARA

Tel:

İmza:

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı TALAY, Tuğçe

Uyruğu :T.C.

Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2012
Lise	Selçuk Anadolu Lisesi	2007
Ortaokul	Atatürk İlköğretim Okulu	2003

Yabancı Dil

İngilizce

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-2017	Mamak Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	Diş Hekimi
2014-2015	Yıldızeli Devlet Hastanesi	Diş Hekimi
2013-2014	Özel Beyaz Dünya Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi

Yayınlar

Talay, T., Odabaş, E., M., Çürük Oluşumunda Candida Albicans ve Non-Candida Albicans Türlerinin Etkisi. *Selçuk Dental Journal*. (Yayına kabul edildi.)

Peker, İ., Pamukçu, U., Çınar, Ç., Odabaş, M., Kızılırmak İ., Talay, T., Altunkaynak, B., Akarslan, Z.(2020) Prematüre Doğmuş Çocukların Süt Dişlerindeki Gelişimsel Mine Defektlerinin Görülme Sıklığı ve Tipleri. *Acta Odontologica Turcica*. 37(1)13-7.

Bilimsel Etkinlikler

Talay, T. (2016-24-28 Eylül). *Türk Pedodonti Derneği* 23. Bilimsel Kongresi, Kuşadası, İzmir.

Talay, T. (2019-10-13 Ekim). *Türk Pedodonti Derneği* 26. Bilimsel Kongresi Antalya

Poster Sunumları

Talay, T., Odabaş, M., (2019-10-13). *Süt Molarların Travmatik Kron Kırıkları: Bir Olgu Sunumu*. 26th TPD Congres, Antalya, Türkiye.





GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..