TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YETİŞKİNLERDE ÇÜRÜK RİSK DEĞERLENDİRMESİNDE SCARDOVIA WIGGSIAE'NIN ETKİNLİĞİNİN KLİNİK OLARAK İNCELENMESİ

FEYZİYE KAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. TANJU KADİR
ORAL BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL- 2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YETİŞKİNLERDE ÇÜRÜK RİSK DEĞERLENDİRMESİNDE SCARDOVIA WIGGSIAE'NIN ETKİNLİĞİNİN KLİNİK OLARAK İNCELENMESİ

FEYZİYE KAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. TANJU KADİR
ORAL BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL- 2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Öğrenci Adı ve Soyadı

Feyziye Kaya

İmzası

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. Tanju KADİR'e,

Tez çalışmam sırasında, klinik çalışmalarda desteğini esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Pınar YILMAZ ATALI'ya,

Her türlü katkı ve destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Beste TACAL ASLAN, Doç. Dr. Esin AK, Doç. Dr. Nihal Şehkar OKTAY, Arş. Gör. Dr. Banu CAN, Öğr. Gör. Dr. Seda ÖZMEN, Arş. Gör. Tolga POLAT, Arş. Gör. Özlem Özge YILMAZ'a,

Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümündeki hocalarıma,

Tüm eğitim hayatım boyunca yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme,

Manevi desteğini her zaman hissettiğim, müstakbel eşim Yusuf GÖKTEPE'ye teşekkür ederim.

Bu tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 'Yetişkinlerde Çürük Risk Değerlendirmesinde *Scardovia wiggsiae*'nin Etkinliğinin Klinik Olarak İncelenmesi' başlıklı ve TYL-2022-10645 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR LİSTESİ i

TABLO LİSTESİ iii

ŞEKİL LİSTESİ iv

1. ÖZET 1

2. SUMMARY 2

3. GİRİŞ ve AMAÇ 3

4. GENEL BİLGİLER 5

4.1. İnsan Mikrobiyomu 5

4.2. Oral Mikrobiyom 6

4.3. Oral Biyofilm (Dental Plak) 8

4.4. Oral Mikrobiyomda Disbiyoz 9

4.5. Diş Çürükleri 10

4.5.1. Çürük risk faktörleri 11

4.5.2. Karyojenik biyofilmlerde çürükle bağlantılı mikroorganizmalar 12

5. GEREÇ ve YÖNTEM 15

5.1.Klinik Uygulama 15

5.1.1. Etik kurul onayı 15

5.1.2. Çalışmaya katılan bireylerin seçimi 15

5.1.3. Diş çürüklerinin sınıflandırılması 16

5.1.4. Anket uygulanması 16

5.1.5. Periodontal indeksinin hesaplanması 16

5.1.6. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanması 16

5.2.Laboratuvar Çalışmaları 17

5.2.1. Mikrobiyolojik örneklerin toplanması 17

5.2.2. DNA izolasyonu 17

5.2.3. Kantitatif PCR çalışmaları 17

5.2.4. İstatistiksel analiz 18

6. BULGULAR 20

6.1. Sosyodemografik Özellikler, Alışkanlıklar ve Durumu 20

6.2. Betimsel İstatistikler ve Korelasyon Sonuçları 21

7. TARTIŞMA ve SONUÇ 26

8. KAYNAKLAR 29

KISALTMALAR LİSTESİ

A	:	Adenin
BOH	:	Bulaşıcı olmayan hastalıklar
Bp	:	Amplikon uzunluğu
C	:	Sitozin
dk	:	Dakika
dH2O	:	Distile su
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	:	Dünya sağlık örgütü
EÇÇ	:	Erken çocukluk çağı çürükleri
G	:	Guanin
g	:	Yer çekimi ivmesi
HPM	:	Hücre dışı polimerik maddeler
ICDAS	:	Çürük belirleme ve değerlendirme sistemi
L	:	Litre
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
nm	:	Nanometre
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
pH	:	Bir çözeltinin asitlik veya alkalinlik derecesi
s	:	Saniye
Ş-EÇÇ	:	Şiddetli erken çocukluk çağı çürükleri

T	:	Timin
qPCR	:	Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
°C	:	Santigrat derece
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre

TABLO LİSTESİ

Sayfa Numarası

Tablo 1. Uyarılmış tükürük akış hızının değerlendirilmesi…….....16

Tablo 2. Çalışmada kullanılan türe özgü primer dizileri ve hedeflenen amplikon uzunlukları ……..……...…..17

Tablo 3. qPCR reaksiyon içeriği…….……18

Tablo 4. qPCR çalışma protokolü……...18

Tablo 5. Katılımcılara ait sosyodemografik değişkenlerin dağılımı……20

Tablo 6. Katılımcılara ait sosyodemografik değişkenlerin dağılımı (devam) ……21

Tablo 7. Biyofilm grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarına ait betimsel istatistikler (n=39)……...……..21

Tablo 8. Tükürük grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarına ait betimsel istatistikler (n=39)…….…21

Tablo 9. Biyofilm grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarına ait korelasyon sonuçları…….……..22

Tablo 10. Tükürük grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarına ait korelasyon sonuçları…….……..23

Tablo 11. Oral biyofilm ve tükürük örneklerinde *S. wiggsiae* ve *S. mutans* yoğunluğu…….24

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa Numarası

Şekil 1. Oral mikrobiyomun gelişimi……..7

Şekil 2. Oral biyofilm oluşumu……...9

Şekil 3. Ekolojik plak hipotezi……..…12

Şekil 4. Biyofilm grubunda tükürük akış hızı, *S. mutans* ve *S. wiggsiae* arasındaki korelasyonlar……...22

Şekil 5. Tükürük grubunda tükürük akış hızı, *S. mutans* ve *S. wiggsiae* arasındaki korelasyonlar…….……..…22

Şekil 6. *S. wiggsiae* mikroorganizmasını hedefleyen qPCR çalışmasına ait amplifikasyon eğrisi……23

Şekil 7. *S. mutans* mikroorganizmasını hedefleyen qPCR çalışmasına ait amplifikasyon eğrisi……24

Şekil 8. Orta ve yüksek seviyeli çürüklerde *S. wiggsiae* yoğunluğu……24

Şekil 9. Orta ve yüksek seviyeli çürüklerde *S. mutans* yoğunluğu……25

1. ÖZET

Tezin başlığı : Yetişkinlerde Çürük Risk Değerlendirmesinde *Scardovia wiggsiae*'nin Etkinliğinin Klinik Olarak İncelenmesi
Öğrencinin Adı Soyadı : Feyziye Kaya
Danışmanın Adı Soyadı : Prof. Dr. Tanju Kadir
Programın Adı : Oral Biyoloji Yüksek Lisans Programı

Amaç: Yeni nesil DNA dizilimi kullanan son çalışmalar, *Streptococcus mutans* varlığında veya yokluğunda başka bakteri türlerinin de çürük ile ilişkisinin olabileceğini göstermiştir. *S. mutans* dışında en çok tespit edilenler arasında anaerop gram pozitif bir çomak olan *Scardovia wiggsiae* türü yer almıştır. Bu bakteri, daha çok şiddetli erken çocukluk çağı (Ş-EÇÇ) veya ortodontik tedavi gören çocukların diş çürüklerinde etkili önemli bir karyojenik tür olarak tanımlanmıştır. Böylece, klinik öneme sahip bir tür olarak dikkate alınması ve ağız sağlığı açısından potansiyel bir risk göstergesi olarak değerlendirilmesi gerektiği ileri sürülmüştür. Öte yandan, diş çürükleri olan yetişkin bireylerin tükürük örneklerini inceleyen retrospektif çalışmalar, *S. wiggsiae*'nin sıklığına ilişkin çok farklı sonuçlar bildirdiğinden, *S. wiggsiae*'nin karyojenik potansiyeli hala tam olarak net değildir. Bu çalışmanın amacı yetişkinlerde *S. wiggsiae* ile çürük riski arasındaki ilişkiyi belirlemek ve *S. mutans* ile karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne diş çürüğü tedavisi için başvuran, yaşları 18 ile 44 arasında değişen toplam 39 yetişkin birey, restoratif diş hekimliği uzmanı tarafından dikkatle muayene edildi. Tespit edilen çürük lezyonlar ICDAS (The International Caries Detection and Assessment System) kriterlerine göre orta ve yüksek seviye çürük olarak sınıflandırıldı. *S. wiggsiae* ve *S. mutans*'ın varlığını değerlendirmek için çürük alanların yüzeyinde bulunan plak biyofilmleriyle birlikte tükürük örnekleri toplandı. Daha sonra plak biyofilm örneklerinden elde edilen sonuçlar bireylerin tükürük örneklerinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı.

Bulgular: Yüksek seviyeli çürük lezyonlarında *S. mutans* ve *S. wiggsiae* yoğunluğu, orta seviyeli çürük lezyonlarına göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak ($p>0,05$) anlamlı bulunmamıştır. Öte yandan, çürük lezyonlarında *S. mutans* ve *S. wiggsiae* yoğunluğu, tükürük örneklerine göre daha yüksek bulunmuş, ancak bu farkın *S. mutans*'ta anlamsız ($p=0,496$), *S. wiggsiae*'de ise anlamlı ($p=0,0003$) olduğu görülmüştür.

Sonuç: Bu bulgular, *S. wiggsiae* bakterisinin plak örneklerinde tükürüğe göre çok daha yaygın olduğunu, yetişkinlerde diş çürüklerinin başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Diş çürüğü, *S. wiggsiae*, tükürük, plak biyofilmi

2. SUMMARY

Title of Thesis: Clinical Investigation of the Effectiveness of *Scardovia wiggsiae* in the Assessment of Caries Risk in Adults
Student Name, Surname: Feyziye Kaya
Supervisor Name : Prof. Dr. Tanju Kadir
Program Name : Oral Biology MSc Program

Objective: Recent studies using next-generation DNA sequencing have shown that other bacterial species may also be associated with caries, in the presence or absence of *Streptococcus mutans*. Apart from *S. mutans*, the most frequently detected species was *Scardovia wiggsiae*, an anaerobic gram-positive rod. This bacterium has been identified as an important cariogenic species that is more effective in dental caries in children with severe early childhood (S-ECC) or orthodontic treatment. Thus, it has been suggested that it should be considered a species of clinical importance and evaluated as a potential risk indicator for oral health. On the other hand, retrospective studies examining saliva samples from adults with dental caries have reported very different results regarding the intensity of *S. wiggsiae*, so the cariogenic potential of *S. wiggsiae* is not yet fully understood. This study aimed to investigate the relationship between *S. wiggsiae* and caries risk in adults and compare it with *S. mutans*.

Materials and Methods: In this study, a total of 39 adult individuals, aged between 18 and 44, who applied for dental caries treatment at Marmara University Faculty of Dentistry, were carefully examined by a restorative dentistry specialist. The detected carious lesions were classified as medium and high-level caries according to ICDAS (The International Caries Detection and Assessment System) criteria. Saliva samples together with plaque biofilms present on the surface of caries areas were collected to assess the presence of *S. wiggsiae* and *S. mutans*. Then, the results obtained from the plaque biofilm samples were compared with the results obtained from the individuals saliva samples.

Results: The densities of *S. mutans* and *S. wiggsiae* were higher in high-level caries lesions than in medium-level caries lesions, but this was not statistically significant ($p>0,05$). On the other hand, the densities of *S. mutans* and *S. wiggsiae* in carious lesions were higher than in saliva samples. In contrast, this difference was not significant for *S. mutans* ($p = 0,496$) but was significant for *S. wiggsiae* ($p = 0,0003$).

Conclusion: These findings showed that *S. wiggsiae* bacteria were much more prevalent in plaque samples than in saliva and may play an important role in the initiation and progression of adult dental caries.

Keywords: Dental caries, *S. wiggsiae*, saliva, plaque biofilm

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Diş çürüğü, sert diş yapılarında mineral kaybına neden olan, biyofilm bağlantılı, şeker kaynaklı, çok faktörlü dinamik bir hastalıktır. Diş çürüğü, çocuğun hayatı boyunca hem süt hem de daimi dişlerinde meydana gelebilir. Önemli bir halk sağlığı sorunudur ve tüm dünyada en yaygın hastalıklar arasında yer almaktadır (Butera ve ark., 2022; Hu ve ark., 2015; Navarra ve ark., 2016; Peng ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre dünyada 2,3 milyar insanın daimî diş ve 520 milyon çocuğun süt diş çürüğünden etkilendiği tahmin edilmektedir. Hastalık sosyoekonomik düzeyi düşük gruplarda yoğunlaşmaktadır ve kolayca önlenebilir olmasına rağmen prevalansı son otuz yılda önemli ölçüde azalmamıştır (Dünya Sağlık Örgütü, 2023).

Diş çürüğü, normalde ağız boşluğunda homeostaz halinde olan biyofilm mikrobiyotasının, sık şeker tüketimi nedeniyle asidojenik (asit üreten), asidürik (aside direnen) ve karyojenik bir topluluğa dönüşmesiyle ortaya çıkar. Özetle, diş çürüğü karyojenik biyofilm ve sık şeker tüketimini gerektiren beslenme ve mikrop bağlantılı bir hastalıktır. Kötü ağız hijyeni, diş yapısı, tükürük akışı ve bileşimi gibi konak faktörleri de hastalığın ilerlemesinde önemli bir rol oynar (Strużycka, 2014; Zero, 1999). Florürün diş çürüklerini önleme özelliği olduğu bilinen bir gerçektir ve yetersiz florür uygulaması da hastalık sürecine katkıda bulunur (Petersen & Lennon, 2004).

Normal şartlarda diş yüzeyleri, şeker içeren besinlerin tüketilmesinden sonra biyofilm bakterilerinin ürettiği asitlerin etkisiyle, mineral içeriğinin bir kısmını kaybeder. Bu mineral doğal olarak öğünler arasında tükürük ile yenilenir. Ancak sık şeker tüketimiyle karyojenik bakteriler asit üretmeye devam eder, tükürüğün tamponlama kapasitesi fazla asidi nötralize etmeye yeterli olmaz ve biyofilm ortamının pH'ı 5,5'in altına düşer. Düşük pH'yı telafi etmek için diş minesindeki kalsiyum ve fosfat bileşenlerinin biyofilm içerisine yönelmesi dişte net mineral kaybına neden olur. pH değerin giderek düşmesi, mine tabakasında gözenek oluşumuna, kristaller arasındaki boşluk genişlemesine, asitlerin diş dokularına sızmasına ve mineral kaybının artmasıyla çürük oluşumuna neden olur (Bowen ve ark., 2018).

Diş çürüklerinin mikrobiyal patogenezi bir yüzyıldan fazla süredir araştırılmaktadır. Çürükle ilişkili mikroorganizmaların tanımlanmasında geleneksel kültür bazlı yöntemler ve moleküler hedefleme yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin önemli bir sınırlaması, diş çürükleri ile bağlantılı kültürlenebilen mikroorganizmaların yalnızca bir alt kümesini tanımlayabilmeleridir.

Örneğin, çürük lezyonlarını inceleyen kültür temelli erken çalışmalar *Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus* ve *Lactobacillus* gibi bakterilerin diş çürüğü ile yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir. Uzun bir süre, diş çürüğüne yönelik koruyucu yaklaşımlar bu bakteriler üzerinde yoğunlaşmıştır (Becker ve ark., 2002; Marsh ve ark., 2006; Tanzer ve ark., 2001). Sonraki laboratuvar çalışmaları, biyofilmlerde *Veillonella, Granulicatella, Fusobacterium, Lactobacilli, Neisseria, Campylobacter, Gemella, Abiotrophia, Selenomonas, Capnocytophaga, Actinomyces* ve *Bifidobacterium* gibi türlerin de karyojen olabileceğini göstermiştir (Aas ve ark., 2008; Peterson ve ark., 2014). Ancak, yeni nesil DNA dizilimi kullanılan son çalışmalar, *S. mutans*'ın varlığında veya yokluğunda başka bakteri türlerinin çürük ile ilişkisinin olabileceğini göstermiş ve böylece diş çürüğü patolojisine ilişkin mevcut görüşün yeniden gözden geçirilmesini gerektirmiştir (Chen ve ark., 2021; Simón-Soro & Mira, 2015).

S. mutans yokluğunda, çürük lezyonlarından en çok tespit edilenler arasında *Scardovia wiggsiae* yer almıştır (Fakhruddin ve ark., 2019; Jian & Dong, 2002; McDaniel ve ark., 2021; Strużycka, 2014). Bu bakteri, daha çok 6 yaşından küçük çocuklarda görülen erken çocukluk çağı çürükleri (EÇÇ) veya ortodontik tedavi gören çocukların çürüklerinden izole edilmiş ve potansiyel bir risk göstergesi olarak değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Chen ve ark., 2020; Kressirer ve ark., 2017; Valm, 2019). Ancak, yetişkin bireylerin tükürük örneklerini inceleyen retrospektif çalışmalarda, farklı prevelans bildirilmiş ve *S. wiggsiae*'nin yetişkin çürüklerindeki karyojenik potansiyeline ilişkin tam bir görüş birliğine varılamamıştır (Colombo ve ark., 2017; Henne ve ark., 2015; Inquimbert ve ark., 2019; Whiteley & Kingsley, 2017; Yoshiyuki ve ark., 2021). Bu nedenle çalışmamızın amacı yetişkinlerin tükürük ve diş çürüklerinde *S.wiggsiae* prevalansını kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu kullanarak belirlemek ve *S. wiggsiae* prevalansını *S. mutans* prevalansı ile karşılaştırarak karyojenik potansiyeli hakkında bilgi edinmektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. İnsan Mikrobiyomu

İnsan mikrobiyomu, insan vücudunun belirli bir bölgesinde yaşayan mikroorganizmaların genom içeriğinin tamamı olarak tanımlanır. Nobel ödüllü Joshua Lederberg, "mikrobiyom" terimini ilk kez kommensal, simbiyotik ve patojen mikroorganizmalardan oluşan bir topluluk olarak ortaya atmıştır. Bu mikroorganizmaların aynı zamanda insan vücudundaki fiziksel alanı paylaştıkları da tanımlanmıştır (Hou ve ark., 2022; Morrison ve ark., 2023). Başlangıçta insan vücudundaki bakteri sayısının insan hücrelerinden 10 kat fazla olduğu biliniyordu. Ancak son araştırmalar bakterilerin insan hücrelerine gerçek oranının 1:1 olduğunu göstermiştir (Tonelli ve ark., 2023). İnsan mikrobiyomu çeşitli ekolojik alanlarda bulunur. Bunlar arasında, ağız boşluğu, deri yüzeyi, kolon, vajina, akciğerler ve burun yer almaktadır. Bütün bunlar moleküler mikro çevre içinde iletişim kurmakta ve etkileşime girmektedir (Morrison ve ark., 2023; Tonelli ve ark., 2023). "Mikrobiyom" ve "mikrobiyota" terimleri doğru olmasa da sıklıkla birbirinin yerine kullanılır. "Mikrobiyom" terimi, belirli bir ortamda bulunan mikroorganizmaların kolektif genomlarını, "mikrobiyota" terimi ise, belirli bir ortamda bulunan çeşitli mikroorganizma topluluklarını ifade etmektedir (Hou ve ark., 2022; Thursby & Juge, 2017). İnsan mikrobiyomu, bağışıklığın güçlendirilmesi, patojenlere karşı savunma, konağın enerji metabolizmasında önemli olan kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi, vitaminlerin sentezi ve yağ depolanması da dahil olmak üzere insan beslenmesi ve insan davranışı üzerinde etki gibi geniş bir fonksiyon yelpazesine sahiptir. Bu nedenle insan mikrobiyomu vücudun temel bir organı olarak tanımlanmıştır (Morrison ve ark., 2023; Tonelli ve ark., 2023).

İnsan mikrobiyomundaki mikrobiyal topluluklar son derece kişiseldir ve parmak izleri gibi her bireye ve hatta her vücut bölgesine özeldir. Diyet, konakçı genetiği, hastalıklar, ilaçlar ve yaşam tarzı gibi birçok faktör mikrobiyom çeşitliliği ve bolluğunu şekillendirir. Bu faktörlerin toplamı mikrobiyomun dengeli, çeşitli ve sağlıklı mı yoksa dengesiz ve disbiyotik mi olduğunu etkileyebilmektedir (Morrison ve ark., 2023).

İnsan vücudunda en çok çalışılan mikrobiyom türü bağırsak mikrobiyomudur. Enflamasyona yol açan sindirim hastalıkları sıklıkla bağırsak mikrobiyomunda gelişen disbiyozdan kaynaklanmaktadır. Ayrıca, ağız boşluğu ve vajina gibi insan vücudunun diğer bölgelerinde bulunan mikrobiyomlardaki disbiyozun da hastalığa neden olduğu anlaşılmıştır. Mikrobiyomdaki disbiyoz, inflamatuar bağırsak hastalığı, obezite, metabolik/zihinsel

bozukluklar ve ağız hastalıkları (çürük ve diş eti hastalığı gibi) gibi birçok hastalığın gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkilidir (Gao ve ark., 2015; Morrison ve ark., 2023).

4.2. Oral Mikrobiyom

Ağız boşluğu, sağlıklı bireylerle simbiyoz halinde yaşayan yüzlerce farklı bakteri, mantar, virüs ve alg türünden oluşan karmaşık bir mikrobiyal topluluktan oluşan eşsiz bir ekosistemdir. Bu topluluğa oral mikrobiyota ve genom bileşimlerinin toplamına "oral mikrobiyom" denmektedir (Deo & Deshmukh, 2019; Hou ve ark., 2022; Norder Grusell ve ark., 2013). Ağız boşluğundan şimdiye kadar 1000'den fazla mikroorganizma türü tespit edilmiş olup bunların büyük çoğunluğunu bakteriler oluşturmuştur. Bakteriler aynı zamanda ağız mikrobiyomunun en çok incelenen alt türleridir (Tonelli ve ark., 2023). Genişletilmiş İnsan Oral Mikrobiyom Veritabanına (eHOMD) (2022) göre, 774 oral bakteri türü tanımlanmış. Bunların yaklaşık %58'i resmi olarak adlandırılmış, %16'sı isimsiz ancak kültürlenebilmiş ve %26'sı yalnızca kültürlenememiş filotipler olarak bilinmektedir.

Büyük çoğunluğu kommensal ve simbiyotik mikroorganizmalardan oluşan oral mikrobiyom oldukça dinamiktir. Konak gelişimi ile karşılıklı evrimleşir ve fizyolojisi ile şekillenir. Konak, kommensal bakterilerin gelişmesi için besin ve uygun bir ortam sunarken, mikrobiyom, pH seviyelerini düzenleyen ve patojen üremesini engelleyen simbiyotik biyofilmler oluşturarak ağız sağlığının korunmasına yardımcı olur. Ayrıca kardiyovasküler dengenin korunması gibi vücudun genel fizyolojik fonksiyonlarını da destekleyebilir (Morrison ve ark., 2023; Tonelli ve ark., 2023).

Doğum sırasında veya doğumdan kısa bir süre sonra mikroorganizmalar anneden yenidoğana dikey olarak hareket eder ve dış ortamdaki mikroorganizmalarla birlikte ağız boşluğunda kolonileşir. Yenidoğanların ağız boşluğuna ilk kolonize olan bakteriler, *Streptococcus salivarius, Streptococcus mitis* ve *Streptococcus oralis* gibi *Streptococcus* cinsinin bakterileridir. Öncü türler olarak tanımlanan bu bakterilerin metabolik süreçleri çevre ortamını değiştirerek diğer bakteri türlerinin kolonileşmesine olanak tanır (Tanner ve ark., 2011). Örneğin, *Streptococcus gordonii* tarafından sükrozdan üretilen hücre dışı polimerler, *Actinomyces* gibi diğer bakteri türlerin kolonizasyonuna yardımcı olur. Bebeğin yaşı ilerledikçe mikrobiyal topluluk gelişmeye devam eder ve mikrobiyal çeşitlilik artar. Dişlerin gelişmesiyle birlikte sert yüzeye tutunabilen yeni bakteri topluluğun kolonizasyonu için dökülmeyen yüzeyler oluşur. Süt dişlerin mine tabakasına, *Streptoccocus mutans, Streptoccocus sanguinis, Lactobacillus, Actinomyces* türleri ve *Rozia* gibi gram-pozitif bakteriler hızla kolonize olur.

Ayrıca, epitel-diş arayüzünde (dişeti oluğu) yeni tutunma alanları oluşarak anaerop ortamda üremeye alışık *Porphyromonas* ve *Capnocytophaga* gibi gram-negatif mikroorganizmaların kolonizasyonunu ve çoğalmasını sağlar (Norder Grusell ve ark., 2013). Dişlerin ortaya çıkışına, özellikle yaşamın birinci yılından ikinci yılına kadar oral mikrobiyomun çeşitliliği ve zenginliğinde sürekli bir artış eşlik eder. Altı yaşında karma dişlenmenin başlamasıyla (süt dişlerinin kaybı ve daimî dişlerin sürmesi), oral mikrobiyal topluluğun bileşiminde büyük bir değişim olur. Belirli bir süre nispeten sabit oral mikrobiyomun bileşimi, ergenlik dönemindeki hormonal dalgalanmaların etkisiyle daha fazla değişime uğrayarak yetişkin mikrobiyom bileşimine erişir (Morrison ve ark., 2023).



Şekil 1. Oral mikrobiyomun gelişimi (Kadir, 2021)

Oral mikrobiyom, çekirdek ve değişken olmak üzere iki mikrobiyomdan oluşur. Çekirdek mikrobiyom, vücudun farklı bölgelerinde sağlıklı bir durumda bulunan baskın türlerden oluşur.

Değişken mikrobiyom ise, her bireye özeldir ve benzersiz yaşam tarzına ve genotipik belirleyicilere yanıt olarak gelişir (Hou ve ark., 2022).

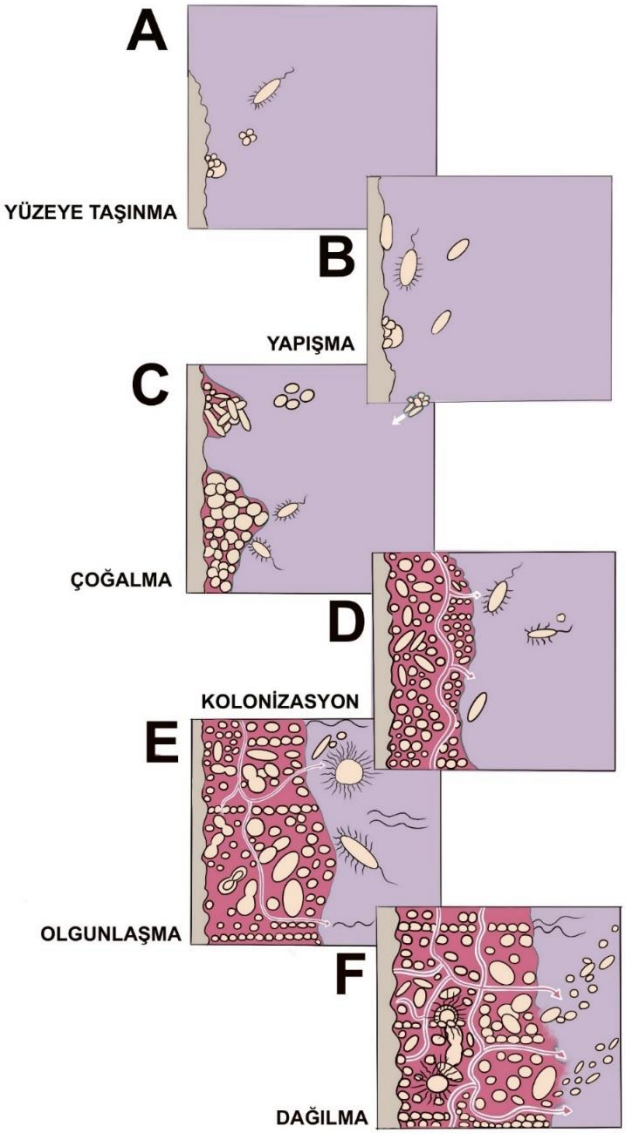
4.3. Oral Biyofilm (Dental Plak)

Ağız boşluğu, bakteri, arke, protozoa, mantar ve virüslerden oluşan karmaşık bir mikrobiyal topluluğa ev sahipliği yapmaktadır. Ayrıca ağız boşluğu, bu mikroorganizmaların ağız sıvıları, besinleri, yumuşak ve sert dokularıyla etkileşim kurması ve ekosistem oluşturması için ideal bir ortam sağlamaktadır. Dolayısıyla ağız boşluğu, mikroorganizmaların sıcaklık, pH, beslenme ve nem tercihlerine göre üreyebildiği bir "etüv cihazına" benzetilebilir. Doğada bulunan bakterilerin %90'dan fazlasının biyofilmlerde bulunduğu tahmin edilmektedir. Benzer şekilde, ağız boşluğunda bulunan bakterilerin çoğu diş, yumuşak dokular ve ağıza yerleştirilen herhangi bir materyalin (ör. diş implantı veya protez) yüzeylerine bağlanarak, biyofilm denilen, topluluklar halinde yaşarlar (Norder Grusell ve ark., 2013).

Oral biyofilmi, diğer biyofilm türlerinden ayıran en belirgin özelliği, oluşumunun ilk aşamasında tükürük proteinlerine bağlanmayı gerektirmesidir. Dişlerin fırçalanmasından çok kısa bir süre sonra (birkaç dakika), tükürük bileşimindeki bazı glikoproteinler mevcut tüm ağız yüzeylerine yapışarak pelikül olarak bilinen ince bir protein film tabakası oluşturur. Pelikül oluşumundan kısa bir süre sonra oral mikrobiyomdaki *Streptococcus* ve *Actinobacteria* gibi öncü bakteri türleri, hidrofobik veya elektrostatik güçlerin yardımıyla adezivleri aracılığıyla peliküle kaplı yüzeylere bağlanır. Öncü bakteriler peliküle bağlanır bağlanmaz hücre dışı polimerik maddeler (HPM) üretmeye başlar. Bu maddeler, polisakkarit, protein ve nükleik asitleri içeren koruyucu bir matris oluşturarak oral biyofilmlerin yapısal bütünlüğünü korur. Bakterileri çevreleyerek antimikrobiyal maddeler ve konak savunma sistemlerinden korur. Bu matris aynı zamanda bakterilerin bir arada kalmasına ve peliküle tutunmasına yardımcı olur (Jakubovics ve ark., 2021).

Öncü bakteriler, pelikül proteinlerine doğrudan bağlanamayan diğer bakteri türlerinin biyofilme bağlanması için reseptör görevi üstlenir. Geç kolonize olan bakteriler, öncü bakterilerin hücre yüzeyindeki polisakkarit veya protein reseptörlerini tanır ve onlara bağlanır. Bunlar arasında *Fusobacterium nucleatum, Treponema* spp, *Tannerella forsythensis, Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve diğerleri yer alır. Olgun biyofilmin mikrobiyal bileşenleri başlangıçtaki biyofilmden oldukça farklıdır. Bu nedenle biyofilm gelişimi sırasında orantılı bir değişim meydana gelir. Biyofilm bakterileri

arasında gerçekleşen fiziksel ve kimyasal etkileşimler biyofilm topluluk yapısını önemli ölçüde etkiler (Marsh & Zaura, 2017).



Şekil 2. Oral biyofilm oluşumu (Kadir, 2021)

4.4. Oral Mikrobiyomda Disbiyoz

Sağlıklı bir bireyin ağız mikrobiyomu, genellikle simbiyotik ve kommensal etkileşimler arasında, "homeostaz" olarak adlandırılan hassas dengeyi sağlar. Bu denge durumu, mikroorganizma ile konak arasında, her iki tarafın da çıkarına olan karşılıklı yararlı

etkileşimleri teşvik eder (Tonelli ve ark., 2023). Ağız boşluğu, mikrobiyomun gelişmesi için uygun ekoloji ortamı sağlarken, mikrobiyom ise konağın sindirim sistemine, metabolizmasına, patojenlere karşı korumasına ve bağışıklık sisteminin güçlenmesine katkıda bulunur. Ancak kötü ağız hijyeni, şeker ve karbonhidrattan zengin beslenme, ilaçlar, sigara kullanımı ve bazı tıbbi durumlar gibi çeşitli faktörler bu hassas dengeyi bozabilir. Bu bozulma, oral mikrobiyomun, potansiyel patojenlerin aşırı üredi̇ği ve simbiyotik mikroorganizmaların azaldığı "disbiyoz" olarak tanımlanan bir yapıya doğru kaymasına yol açabilir (Kilian ve ark., 2016). Oral mikrobiyomda disbiyoz, ağız fizyolojisini ve sağlığını olumsuz yönde etkileyebilir. Diş çürümesi, diş eti hastalığı ve ağız kokusu gibi ağız hastalıklarının gelişmesine katkıda bulunabilir. Ayrıca disbiyoz, bağışıklık sisteminin ağız enfeksiyonlarına verdiği tepkiyi zayıflatabilir, kalp-damar hastalıkları ve solunum yolu enfeksiyonları gibi sistemik sağlık sorunları riskini artırabilir (Morrison ve ark., 2023).

4.5. Diş Çürükleri

Diş çürüğü, dünya çapında 3,1 milyar insanı etkileyen, yaşam kalitesini bozan ve yüksek maliyetlere neden olan bir halk sağlığı sorunudur. Hastalık, büyük sosyoekonomik eşitsizliklerin olduğu popülasyonlar arasında eşitsiz bir şekilde dağılmaktadır (Butera ve ark., 2022; Hu ve ark., 2015; Navarra ve ark., 2016; Peng ve ark., 2022). Bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH) olarak kabul edilen diğer hastalıklar gibi diş çürükleri de genetik, fizyolojik, çevresel ve davranışsal faktörlerin birleşimi sonucu ortaya çıkar. Bu hastalık büyük ölçüde önlenebilir olmasına rağmen, görülme sıklığının son 30 yılda neredeyse hiç azalmamış olması endişe vericidir (Chen ve ark., 2020; Valm, 2019).

Onlarca yıl, diş çürüğü bulaşıcı bir enfeksiyon olarak tanımlanmış ve *S. mutans* baş suçlu gösterilmiştir. Bu bakterinin bulaşıcı ajan olduğu ve bebeklerin bu ajanı süt dişleri çıktıktan sonra annelerinden aldıkları düşünülüyordu. Bu organizmanın bulaşmasını önlemek veya yavaşlatmak için klinik stratejiler de önerilmiştir. Topikal antimikrobiyaller ve aşılar kullanılarak ağız boşluğundaki *S. mutans*'ı baskılamak veya öldürmek için de çaba gösterilmiştir. Ancak diş çürüğünde "tek patojen, tek hastalık" paradigmasından vaz geçilmiş, yerini patojenitenin mikrobiyal topluluğun bütünsel (spesifik olmayan plak teorisi) ve daha sonra özel türlerin etkinliğini savunan (spesifik plak teorisi) kavramlara bırakmıştır (Bowen ve ark., 2018). Seksenli yıllarda kullanılmaya başlanan kültürden bağımsız moleküler yöntemler, çürük ile ilişkili bakterilerin kapsamını önemli ölçüde genişletmiş ve çürük etiyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır (Inquimbert ve ark., 2019). Dünyanın dört bir yanından farklı yaş

ve beslenme düzenine sahip bireylerde yapılan araştırmalar, çürük lezyonlarını kaplayan biyofilm bileşiminin asit üreten (asidojenik) ve asit toleranslı (asidürik) fenotiplere sahip türlerle zenginleştiğini göstermiştir. Bu nedenle çürük lezyonlarının gelişmesi, oral biyofilm mikrobiyotasının dengesindeki değişikliklerle (disbiyoz) ilişkilendirilmiştir (Bowen ve ark., 2018).

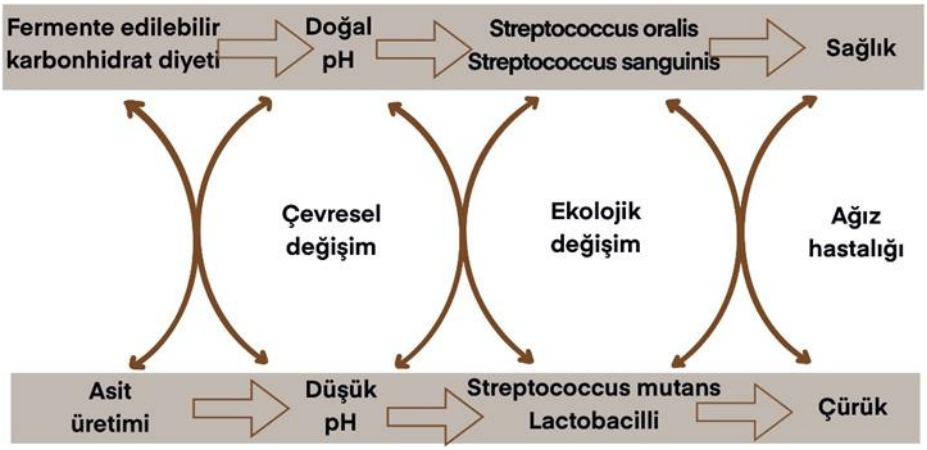
Ara sıra tüketilen şekerlerin biyofilm bakterileri tarafından fermente edilmesi sonucu oluşan asitler, geçici pH düşüşüne ve diş yapısında küçük çapta mineral kaybına (demineralizasyon) yol açabilir. Bu durumda, tükürük tamponlama kapasitesi sayesinde, asidi dengeleyebilir ve diş yapısındaki mineral kaybını telafi edebilir. Ancak, sık şeker tüketilmesi durumunda, tükürük fermentasyon sürecinin uzaması nedeniyle oluşan asit yükünü dengeleyemez ve pH kritik bir seviyenin altına düşer (genellikle 5,5'in altında). pH değerlerindeki düşüşün devam etmesiyle, biyofilm bileşimi, şekerleri daha etkili fermente edebilen asitli ortama alışık bakterilerden zengin bir topluluğa dönüşür. Yüksek miktarlarda üretilen asit diş yapılarında mineral kaybına ve buna bağlı olarak da çürük gelişmesine neden olur (Dünya Sağlık Örgütü, 2023).

4.5.1. Çürük risk faktörleri

Bazen ağız boşluğundaki uyumlu ekosistem bozularak disbiyotik değişime ve biyofilmde topluluk dengesinin veya çeşitliliğinin kaybolmasına neden olabilir. Bir veya birkaç türün baskın olması hastalık riskini artırabilir (Chen ve ark., 2021; Simón-Soro & Mira, 2015). Oral mikrobiyomu etkileyen faktörler arasında tükürük, dişeti oluğu sıvısı, çevresel, anatomik faktörler yer alır. Dişlerde şekil ve topografik bozukluk, ağız boşluğunda bakteri birikim alanlarını artırır. Örneğin; çarpık dişler, kapanma bozukluğu ve restorasyonun kalitesiz olması (Li ve ark., 2022).

Sağlıklı bir yetişkin günde yaklaşık 1 L tükürük üretir. Ağız sağlığının korunmasında tükürüğün rolü iyi bilinmektedir. Tükürük, çiğneme, yutma, konuşma ve sindirmeye yardımcı olmakla birlikte, dengeli bir mikrobiyomu korumaya yardımcı olan önemli enzimler ve proteinler içerir. Tükürük, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, bikarbonat ve fosfatlar dahil olmak üzere çeşitli elektrolitlerden oluşur. Tükürükte ayrıca immünoglobulinler, çeşitli proteinler, enzimler, müsinler ve azotlu ürünler (üre ve amonyak) bulunur. Ağız boşluğunda bulunan bakterilerin çoğu nötr pH ortamında yaşamını sürdürebilir ve üreyebilir. Aşırı pH değerleri, bakterilerin üremesi için uygun değildir. Ağız boşluğunda pH'ı koruyan başlıca faktör tükürüktür. Bikarbonat-karbonik asit ve fosfat bileşenleri sayesinde, ağız boşluğunda büyük pH değişikliklerini önler. Sağlıklı plağın baskın bakteri bileşenlerinin çoğu kısa süreli düşük pH'a

dayanabilir, ancak uzun süre dayanamaz ve yaşamını yitirir. Sık şeker tüketimine bağlı uzun süreli pH düşüklüğü, karyojenik türlerin çoğalmasına ve diş çürüklerinde artışa yol açar (Bowen ve ark., 2018).



Şekil 3. Ekolojik plak hipotezi (Kadir, 2021)

4.5.2. Karyojenik biyofilmlerde çürükle bağlantılı mikroorganizmalar

Karyojen biyofilmler, mine kaplı diş yüzeyine yapışan, asidin dağılmasını sınırlayan hücre dışı polisakkaritler açısından zengin bir matris üreten, karbonhidrat fermantasyonu gerçekleştiren ve asitli ortamda yaşamını sürdüren özel türlerin varlığıyla tanımlanır (Strużycka, 2014).

Karyojenik mikroorganizmalarla ilgili ilk çalışma 1924 yılında J. Clark, tarafından gerçekleştirilmiştir. Clark, çürük lezyonlarından izole ettiği oval hücrelerin streptokokun bir varyantı olduğuna inanmış ve *Streptococcus mutans* adını vermiştir (Cornejo ve ark., 2013). Ancak 1950'lerin sonlarına kadar bilim camiasında fazla ilgi görmeyen *S. mutans*, 1960'ların ortalarında yapılan klinik ve deney hayvan çalışmaları diş çürüklerinin gelişmesinde önemli bir ekolojik etken olduğunu göstermiştir (Becker ve ark., 2002; Marsh ve ark., 2006; Tanzer ve ark., 2001). *S. mutans*'ın karyojenik potansiyelinin dört temel özelliğe dayandığı genel olarak kabul edilmiştir:

(1) Sert yüzeylere bağlanabilme.

(2) Sakarozdan büyük miktarlarda hücre dışı glukan polimerlerini sentezleyebilme.

(3) Çeşitli karbonhidratları taşıyabilme ve organik asitlere dönüştürebilme.

(4) Çevresel stres, özellikle asidli koşullarda üreyebilme (Norder Grusell ve ark., 2013; Jakubovics ve ark., 2021).

Her ne kadar *S. mutans* diş çürüğünün gelişiminde tek başına etkili olmasa da, bazı laboratuvar çalışmalarında *S. mutans*'ın ürettiği glukanın diğer karyojen mikroorganizmaların çürük lezyonlarına bağlanmasına destek olduğu gösterilmiştir. Kültür temelli diğer çalışmalar, *S. mutans*'ın yanı sıra çürük gelişimi ve ilerlemesiyle ilişkili bakteri türleri arasında *Actinomyces* ve *Bifidobacterium* türlerini de izole etmiştir (Becker ve ark., 2002; Marsh ve ark., 2006; Tanzer ve ark., 2001). Kültürden bağımsız moleküler çalışmalar, aktif çürüklü çocuklarda oral mikrobiyomu tanımlayan çeşitli çalışmalar, *Streptococcus salivarius, Streptococcus sobrinus, Streptococcus parasanguinis, Scardovia wiggsiae, Slackia exigua, Lactobacillus salivarius, Parascardovia denticolens, Porphyromonas, Actinomyces* ve *Veillonella* gibi diğer türlerin de diş çürükleriyle ilişkili olduğunu bildirmiştir (Aas ve ark., 2008; Peterson ve ark., 2014). Çürüklerin başlaması ve gelişmesiyle ilişkili türler (*Streptococcus, Actinomyces* ve *Lactobacillus* türleri dahil) sakkarolitik bakterilerdir. Bunlar, diyetteki karbonhidratları ve bazı şeker alkollerini metabolize ederek laktik asit üretimini uyarabilir ve diş minesinde mineral kaybına yol açabilir. Özellikle, yemek öğününde çok miktarda şeker olduğunda, laktat üretimini destekleyen laktat dehidrojenaz aktive olur. Ayrıca glikolizi ve laktat üretimini hızlandıran piruvat kinaz aktive edilir. Buna karşılık, *Veillonella* türleri laktatı temel karbon ve enerji kaynağı olarak kullanır ve bir dizi enzimatik reaksiyonla sırasıyla ksiyonlarla piruvat ve süksinata dönüştürürler. Fazla karbonhidrat tüketimi aynı zamanda hücre dışı şeker tedarikinin sınırlı olduğu durumlarda enerji kaynağı olarak kullanılabilen hücre içi polisakkaritlerin birikimine de yol açabilir. *Scardovia wiggsiae* ve *Bifidobacterium* türleri, farklı bir metabolik yollarla glikozdan yüksek asetik ve laktik asit üretir. Bu yol, *Streptococcus, Actinomyces* ve *Lactobacillus*'un glikolitik yolundan farklıdır. *Scardovia wiggsiae*'nin yanı sıra *S. mutans* ve *Lactobacillus* türleri laktik asit ve düşük pH'a karşı oldukça toleranslıdır (Van Houte ve ark., 1996).

Tanner ve ark. (2011), anaerobik kültür ve 16S rRNA gen dizileme tekniklerini kullanarak şiddetli erken çocukluk çağı çürüğü (ŞEÇÇ) olan 42 çocuğun biyofilm mikrobiyomunu incelemiş ve bunu çürüksüz 40 çocuğun biyofilmiyle karşılaştırmıştır. Araştırmacılar, elde ettikleri bulgulara göre, daha önce tanımlanmamış yeni bir tür olan *S. wiggsiae*'nin, diş çürüklerinin ana etkeni olan *S. mutans*'ın yokluğunda bile, ŞEÇÇ ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Scardovia cins adı, *Bifidobacteria* hakkında önemli katkılarda bulunan italyan mikrobiyolog Vittorio Scardovi'den, wiggsiae tür adı ise anaerobik mikrobiyolojiye yaptığı katkılardan dolayı Amerikalı mikrobiyolog Lois Wiggs'den gelmektedir (Al-Adool ve ark., 2023; Fakhruddin ve ark., 2019; McDaniel ve ark., 2021; Strużycka, 2014). Bu bakteri Gram pozitif, anaerop, spor oluşturmayan ve hareketsiz bir basildir. *S. wiggsiae*, daha önce *Bifidobacteriaceae* ailesine mensup yedi cinsten biri olarak tanımlanmış, ancak genom dizisindeki farklılıklar nedeniyle 2002 yılında *Bifidobacterium* cinsinden çıkarılmıştır (Jian & Dong, 2002). Morfolojik olarak *S. wiggsiae*, yaklaşık 0,65 µm boyutunda ve 1,6-4 µm uzunluğunda, spor oluşturmayan, hareketsiz, gram pozitif, anaerobik bir basildir (Al-Adool ve ark., 2023).

Çürük oluşumunda en önemli faktörlerden biri karyojenik bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğidir ancak tüm oral bakteriler çürük sürecine aynı şekilde katılamaz. Yüksek metabolizma hızına sahip olma, tükürük ve ağız ortamına karşı dayanma, ayrıca diş yapısını demineralize eden organik asitleri üretebilme gibi özellikler karyojenik bakterilerin en önemli faktörleridir (Strużycka, 2014; Zero, 1999). Bu bağlamda *S. wiggsiae*, oral biyofilm oluşturma ve asit üretebilme yeteneğinden dolayı önemli bir karyojen olarak tanımlanmıştır. Çeşitli karbonhidratları fermente ederek laktat ve asetik asit üretir. Bu nedenle *S. wiggsiae*, *S. mutans* gibi oldukça asit üreten ve asitli ortama dayanıklı bir bakteri olarak düşünülebilir, ancak *S. mutans*'ın glikolitik metabolizmasından farklı bir metabolik yol (fruktoz-6-fosfat adı verilir) izler. Bu özellik, *S. wiggsiae*'nin asitli ortama dayanıklı ve düşük pH'lı ortamlarda ekolojik açıdan oldukça rekabetçi olmasını sağlar (Van Houte ve ark., 1996). Ayrıca sükroz, glikoz, fruktoz vb. şeker moleküllerini parçalayarak fazla miktarda asetik asit ve az miktarda laktik ve formik asit üretebilme yeteneğine sahiptir. Fazla miktardaki asetik asitlerin, mineyi istila etme ve dekalsifiye etme gücü, laktik asitlere göre daha fazladır. Çevresel pH'ı 3,5'e kadar düşürebilen gelişmiş asidojenik ve asidürik özelliği nedeniyle *S. wiggsiae*, diğer karyojenlerle birlikte çürük sürecinde önemli bir patojen olarak değerlendirilebilir (Bowen ve ark., 2018).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Klinik Uygulama

5.1.1. Etik kurul onayı

Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilerek 09.2022.716 protokol kodu ve 06/05/2022 tarihi ile onaylandı (Ek 1). Hazırlanan gönüllü bilgilendirme ve onam formu çalışmaya dahil edilen her katılımcıya imzalatıldı (Ek 2).

5.1.2. Çalışmaya katılan bireylerin seçimi

Etik kurulu onay alındıktan sonra 06/05/2022 ile 09/02/2024 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi hastanesine diş çürüğü tedavisi için başvuran 18-44 yaş aralığındaki kadın ve erkek bireyler, Restoratif Diş Tedavisi uzmanı tarafından dikkatle muayene edilmiştir. Bunlar arasından, aşağıda belirtilen kriterleri sağlayan 39 birey çalışma kapsamına alınmıştır.

Hastaların çalışma kapsamına alınma kriterleri:

- 18-44 yaş aralığında olmak.
- Erkek ve kadın birey olmak.
- Kendisinde ve birinci derece akrabalarında herhangi bir genetik geçişli hastalığının bulunmaması.
- Bireyin bilinen veya beyan edilen sistemik hastalığının bulunmaması.
- Düzenli ilaç kullanımının olmaması.

Hastaların çalışma kapsamına alınmama kriterleri:

- Radyoterapi, kemoterapi görmüş olmak.
- Tükürük akış hızını ve tamponlama kapasitesini etkileyen herhangi bir ilaç kullanıyor olmak.
- Nörolojik, mental, sistemik ve genetik hastalığa sahip olmak.

- Akut veya kronik üst solunum yolu hastalığına sahip olmak.
- Ortodontik tedavi görüyor olmak.

5.1.3. Diş çürüklerinin sınıflandırılması

Çalışma kapsamına alınan 39 hastanın diş çürüğü, Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı'nda çekilen dijital panoramik görüntüleme ve klinik muayene ile tespit edilmiştir. Çürük lezyonları ICDAS (The International Caries Detection and Assessment System) kriterlerine göre orta ve yüksek seviye çürük olarak sınıflandırılmıştır.

5.1.4. Anket uygulanması

Araştırmacı gözetimi altında, klinik muayene öncesinde verilen anket formları katılımcılar tarafından doldurulmuştur. Anket formlarında bireylerin sosyoekonomik durum, sistemik, kronik hastalıklar, düzenli kullanılan ilaçlar, radyoterapi veya kemoterapi tedavisi görüp görmemesi, diyet alışkanlıkları ve oral hijyen alışkanlıklarına dair sorular yer almaktadır.

5.1.5. Periodontal indeksinin hesaplanması

Katılımcılar, standart bir sınıflandırmanın olması için tek tip lisans eğitimi almış bir araştırma görevlisi tarafından ağız ve diş muayenesine tabi tutulmuştur.

5.1.6. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanması

Tükürük örneği alınacak bireylerden en az bir saat öncesine kadar yemek yememesi ve sigara içmemesi istenildi. Bireye 1,5 dk süre ile parafin veya şekersiz sakız çiğnetilip bu esnada oluşan tükürük birey tarafından yutuldu. Bu süre itibariyle 5 dk boyunca oluşan tükürük, derecelendirilmiş steril kaba toplandı. Toplanan tükürük miktarı enjektörlerle ölçülüp elde edilen tükürük miktarı toplama süresi olan 5 dk'ya bölünüp tükürük akış hızı dakikada ml olarak hesaplandı.

Tablo 1. Uyarılmış tükürük akış hızının değerlendirilmesi

>1,1 ml/dk	Normal
1,1-0,9 ml/dk	Normalden biraz düşük
0,8-0,5 ml/dk	Düşük
<0,5 ml/dk	Çok düşük (Kserostomi)

5.2. Labaratuvar Çalışmaları

5.2.1. Mikrobiyolojik örneklerin toplanması

Çalışmaya katılan her bireyden 1,5 ml tükürük ve çürüklü dişlerden steril ekskavatör kullanılarak biyofilm örnekleri toplanarak steril mikrosantrifüj tüplerine konmuştur. Toplanan örnekler DNA izolasyonuna kadar -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

5.2.2. DNA izolasyonu

Moleküler biyoloji laboratuvarında tükürük örnekleri önce vortekste homojenize ve daha sonra 13.000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı uzaklaştırılmış ve geri kalan pellete 200 µl süspansiyon tamponu eklemiştir. Biyofilm örnekleri 200 µl resüspansiyon tamponu eklendikten sonra kullanıma hazır hale getirilmiştir. DNA, E.Z.N.A. Bakteriyel DNA kiti (Omega Biotek) kullanılarak biyofilm ve tükürük örneklerinden izole edilmiştir. Elde edilen saf DNA örnekleri, 50 µl elüsyon tamponunda çözülmüştür. İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık tayinleri mikro hacim spektrofotometre cihazında (NanoDrop 2000) gerçekleştirilmiş, konsantrasyon ile birlikte 230 nm, 260 nm ve 280 nm absorbans miktarları ölçüleren 260/280 ve 260/230 oranları hesaplanarak kaydedilmiştir. Örnekleri kantitatif PCR (qPCR) çalışmalarına kadar -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

5.2.3. Kantitatif PCR çalışmaları

İzole edilmiş DNA örneklerinden *S. wiggsiae* ve *S. mutans*'ın görece miktarlarının belirlenmesi için qPCR yöntemi uygulanmıştır. Her hedef mikroorganizma tespiti için qPCR deneylerinde kullanılan hedef spesifik ileri ve geri primerler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan türe özgü primer dizileri ve hedeflenen amplikon uzunlukları

Mikroorganizma adı	Primer dizileri (5'→3')	Amplikon uzunluğu (bp)	Referans
S. mutans	F: GGTCAGGAAAGTCTGGAGTAAAAAGGCTA	282	Corpet et al. 1988
	R: GCGGTAGCTCCGGCACTAAGCC		
S. wiggsiae	F: GTGGACTTTATGAATAAGC	146	Tanner et al. 2011
	R: CTACCGTTAAGCAGTAAG		

Çalışmada qPCR deneyleri reaksiyon içeriği Tablo 3'deki gibi hazırlanmış olup, Tablo 4'teki polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) koşulları ile LightCycler480 (Roche) cihazında çalışılmıştır.

Çalışmalar 96 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirilmiş olup, her deney ve her plaka içerisinde iki adet negatif kontrol kullanılmıştır. PCR amplifikasyonu sonrasında erime eğrisi analizi gerçekleştirilerek, hedeflenen amplikon erime sıcaklığında sinyal vermeyen numuneler hedef mikroorganizma bulunurluğu açısından negatif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3. qPCR reaksiyon içeriği

İçerik	**1 reaksiyon (25 µl toplam hacim)**
dH_2O	6 µl
qPCR MasterMix (2X)	10 µl
Primer F (2,5 mM)	1 µl
Primer R (2,5 mM)	1 µl
DNA	2 µl

Tablo 4. qPCR çalışma protokolü

	Program	**Döngü sayısı**
Enzim aktivasyonu ve başlangıç denatürasyonu	95°C'de 30 s	1
Denatürasyon	95°C'de 5 s	40
Bağlanma ve uzatma	60°C'de 30 s	
Erime eğrisi analizi	60-95°C	1

qPCR çalışması sonrası, cihaz yazılımında görece kantifikasyon analiz modülünden her örnek için Ct değerleri elde edilmiş ve miktar hesaplamalarında kullanılmıştır. Örneklerin pozitiflikleri erime eğrisi analizi ile de kontrol edilmiştir. Elde edilen Ct değerlerinin görece karşılaştırmalarında kullanılmak üzere, her hedef mikroorganizma analizinde pozitif çıkan örneklerin Ct değerlerinin ortalaması alınmış, tüm örneklerin Ct değerleri bu değere göre normalize edilmiş $2^{-\Delta CT}$ metodu ile kat-değişim oranları hesaplanmıştır. Her hedef mikroorganizma için örneklere ait hesaplanan kat-değişim oranları kullanılarak gruplara göre karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir. İkili grup karşılaştırmaları her mikroorganizma için t-test kullanılarak gerçekleştirilmiş ve p değeri hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p<0,05$ kabul edilmiştir.

5.2.4. İstatiksel analiz

Araştırma verilerinin analizinde SPSS 25,0 paket programı kullanılmıştır. Katılımcıların sosyodemografik bilgilerine ilişkin tanımlayıcı veriler frekans tabloları şeklinde sunulmuştur. Araştırmanın verileri normallik varsayımına göre incelendiğinde Kolmogorov-Smirnov

değerinin $p<0,05$ olduğu görülmüştür. Bu nedenle ölçek ile anket sonuçları arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla parametrik olmayan bir test olan Spearman korelasyon analizi yapılmıştır. Ayrıca ölçek/testler ile katılımcıların sosyodemografik verileri arasında anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla parametrik olmayan testler Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Gruplar arasında anlamlı farklar varsa hangi grubun anlamlı olduğunu belirlemek için post hoc testi yapılmıştır. Games-Howell post hoc testi, varyansların eşit şekilde dağılmaması ve örneklem büyüklüklerinin eşit olmaması nedeniyle seçilmiştir (Sparks, 1963). $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Sosyodemografik Özellikler, Alışkanlıklar ve Durumu

Çalışma kapsamına alınan bireylerin sosyodemografik özelliklerinin yanı sıra klinik özellikleri, ağız hijyen uygulamaları, genel sağlık ve eğitim durumları, diş çürüklerinin düzeyleri, beslenme tarzları ve sigara alışkanlıklarına ilişkin veriler Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 5. Katılımcılara ait sosyodemografik değişkenlerin dağılımı

Demografik değişkenler		N	%
Öğrenim Durumu	İlköğretim	4	5,0
	Lise	20	25,0
	Üniversite	16	20,0
Aylık Gelir	5000 TL ve altı	18	45,0
	5000-10000 TL	10	25,0
	10000-15000 TL	4	10,0
	15000 TL ve üstü	8	20,0
Kronik Sistemik Hastalık	Evet	4	10,0
	Hayır	36	90,0
Düzenli İlaç Kullanımı	Evet	4	10,0
	Hayır	36	90,0
Düzenli Diş Hekim Ziyareti	Evet	13	32,5
	Hayır	27	67,5
Diş Fırçalama Eğitimi	Evet	9	22,5
	Hayır	31	77,5
Günlük Diş Fırçalama	Colgate	21	52,5
	Sensodyne	9	22,5
	Ipana	4	10,0
	Signal	2	5,0
	Diğer	4	10,0
Diş ipi ve Arayüz Fırçası Kullanımı	Evet	14	35,0
	Hayır	26	65,0
Koruyucu Diş Tedavisine Yönelik Uygulama	Evet	1	2,5
	Hayır	39	97,5
Ağız Kuruluğu Hissedip Sıvı İçme İhtiyacı	Evet	13	32,5
	Hayır	27	67,5
Ağız Kuruluğu	Evet	1	2,5
	Hayır	39	97,5
Yiyecekleri Çiğnerken Zorlanıp Sıvı Alma İhtiyacı	Evet	9	22,5
	Hayır	31	77,5
Günlük Öğün Miktarı	2 Öğün	15	18,8
	3 Öğün	25	31,3
Günlük Ara Öğün Miktarı	Hiç	2	5,0
	1	10	25,0
	2	16	40,0
	3	5	12,5
	4 ve üzeri	7	17,5

Tablo 6. Katılımcılara ait sosyodemografik değişkenlerin dağılımı (devam)

Demografik değişkenler		N	%
Günlük Şekerli Yiyecek ve İçecek Kullanımı	Hiç	6	15,0
	1	19	47,5
	2	7	17,5
	3	4	10,0
	4 ve üzeri	4	10,0
Sigara Kullanımı	Evet	10	25,0
	Hayır	30	75,0
Çürük Durumu	Düşük	1	1,3
	Orta	16	20,0
	Yüksek	23	28,7

6.2. Betimsel İstatistikler ve Korelasyon Sonuçları

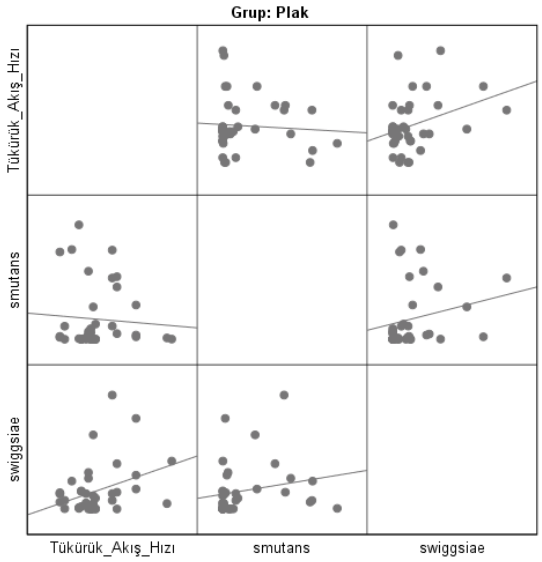
Oral biyofilm ve tükürük gruplarında tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarından alınan sonuçlara ilişkin betimsel istatistikler (n=39) ile korelasyon verileri Tablo 7, 8, 9 ve 10'da gösterilmiştir. Biyofilm ve tükürük gruplarında tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarından elde edilen sonuçlar arasındaki ilişkiler pearson korelasyon analizi ile gösterilmiştir. Bu analize göre, tükürük akış hızı ile *S. wiggsiae* ve *S. mutans* yoğunlukları arasında pozitif yönlü istatistikçe anlamlı (sırasıyla, r=0,358 p=0,023 ve r=0,414 p=0,009) bir ilişki saptanmıştır.

Tablo 7. Biyofilm grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarından alınan sonuçlara ilişkin betimsel istatistikler (n=39)

	Min	Max	Ortalama	Std. Sapma
Tükürük Akış Hızı	0,30	5,00	1,84	1,10
S. mutans	0,00	38,52	6,78	10,80
S. wiggsiae	0,01	67,13	10,70	15,20

Tablo 8. Tükürük grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarından alınan sonuçlara ilişkin betimsel istatistikler (n=39)

	Min	Max	Ortalama	Std. Sapma
Tükürük Akış Hızı	0,30	5,00	1,84	1,10
S. mutans	0,08	22,13	4,79	5,76
S. wiggsiae	0,02	10,62	1,35	2,45

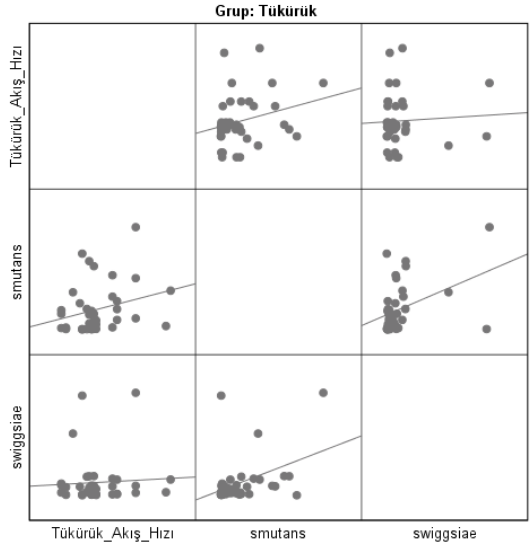


Şekil 4. Biyofilm grubunda tükürük akış hızı, *S. mutans* ve *S. wiggsiae* arasındaki korelasyonlar

Tablo 9. Biyofilm grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarına ait korelasyon sonuçları

		1	2	3
1. Tükürük Akış Hızı	**r**	1		
	p			
2. S. mutans	**r**	-0,065	1	
	p	0,689		
3. S. wiggsiae	**r**	0,358	0,209	1
	p	0,023	0,196	

*Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır (Pearson korelasyon testi)



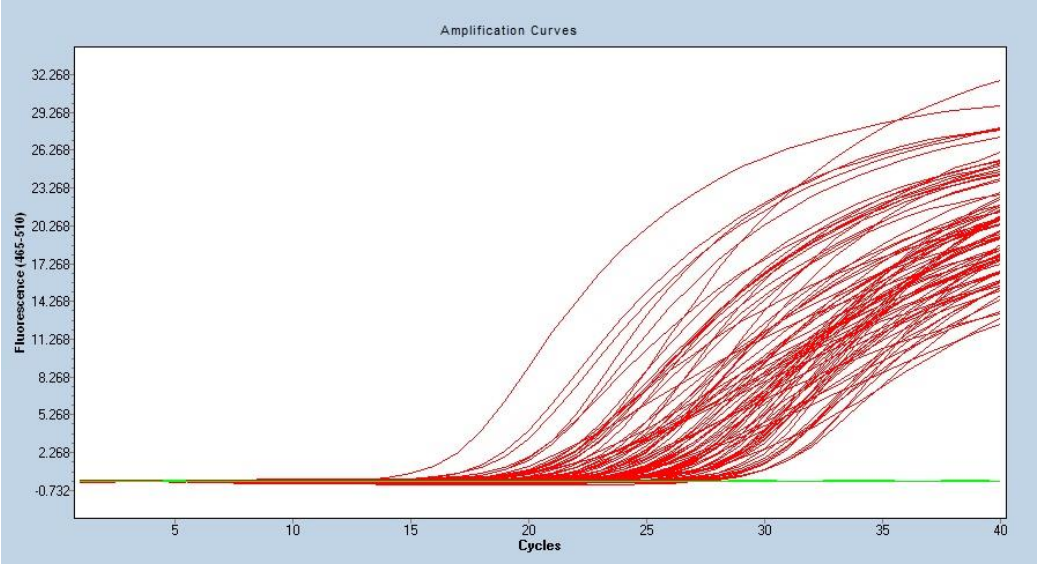
Şekil 5. Tükürük grubunda tükürük akış hızı, *S. mutans* ve *S. wiggsiae* arasındaki korelasyonlar

Tablo 10. Tükürük grubunda tükürük akış hızı ve bakteri yoğunluklarına ait korelasyon sonuçları

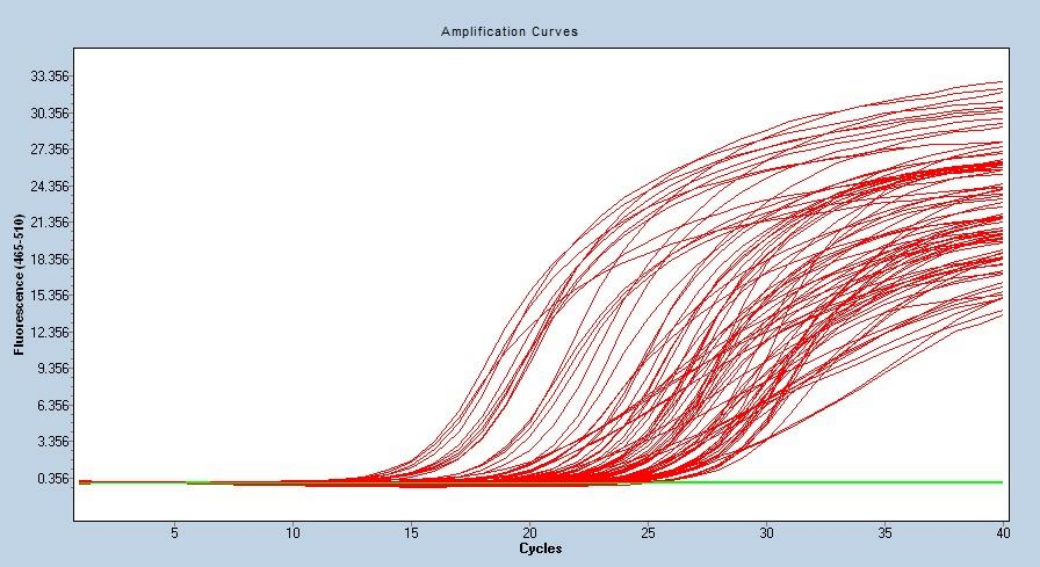
		1	2	3
1. Tükürük Akış Hızı	**r**	1		
	p			
2. *S. mutans*	**r**	-0,071	1	
	p	0,670		
3. *S. wiggsiae*	**r**	0,350	0,205	1
	p	**0,029**	0,210	

*Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır (Pearson korelasyon testi)

S. wiggsiae ve *S. mutans*'ı hedefleyen qPCR çalışmasına ait amplifikasyon eğrileri Şekil 6 ve 7'de gösterilmiştir. Yüksek seviyeli çürük lezyonlarında *S. mutans* ve *S. wiggsiae* yoğunluğu, orta seviyeli çürük lezyonlarına göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak (p>0,05) anlamlı bulunmamıştır (Tablo 11). Orta ve yüksek seviyeli çürükleri olan hastalarda *S. wiggsiae* ve *S. mutans* yoğunluğu Şekil 8 ve 9'da gösterilmiştir. Öte yandan, çürük lezyonlarında *S. mutans* ve *S. wiggsiae* yoğunluğu, tükürük örneklerine göre daha yüksek bulunmuş, ancak bu farkın *S. mutans*'ta anlamsız (p=0,496), *S. wiggsiae*'de ise anlamlı (p=0,0003) olduğu görülmüştür.



Şekil 6. *S. wiggsiae* mikroorganizmasını hedefleyen qPCR çalışmasına ait amplifikasyon eğrisi

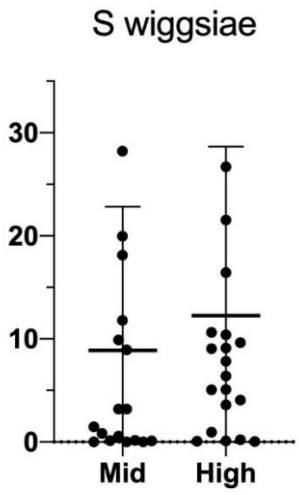


Şekil 7. *S. mutans* mikroorganizmasını hedefleyen qPCR çalışmasına ait amplifikasyon eğrisi

Tablo 11. Oral biyofilm ve tükürük örneklerinde *S. wiggsiae* ve *S. mutans* yoğunluğu

	Görece Miktar (Ortalama±SD)		**Kat Değişim (Biyofilm/Tükürük)**	**F**	**P değeri**
	Biyofilm	**Tükürük**			
S. mutans	6,78±10,80	4,79±5,76	1,26	11,344	0,314
S. wiggsiae	10,70±15,20	1,35±2,45	8,28	23,588	**<0,001**

Independent Samples T Test, p<0.005

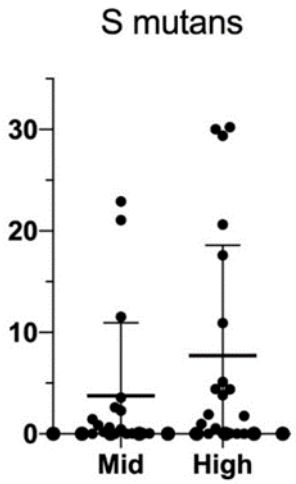


Şekil 8. Orta ve yüksek seviyeli çürüklerde *S. wiggsiae* yoğunluğu

Şekil 8'de grafik, *S. wiggsiae* bakterisinin çeşitli çürük seviyelerindeki yoğunluğunu göstermektedir. Grafikteki "Orta çürük" ve "Yüksek çürük" kategorileri, orta ve yüksek

derecede çürük sıklığı olan hastalarda bakteri yoğunluğunu ifade etmektedir. Yatay X ekseni çürük derecelerini, dikey Y ekseni ise bakteri yoğunluğunu temsil etmektedir.

Şekil 8'de, "Orta çürük" kategorisinde neredeyse hiç bakteri yoğunluğu gözlenmezken, "Yüksek çürük" kategorisinde yoğunlukta belirgin bir artış gözlemlenmektedir. Bu durum, *S. wiggsiae* bakterisinin yüksek derecedeki çürüklerde daha fazla bulunduğuna işaret ediyor olabilir.



Şekil 9. Orta ve yüksek seviyeli çürüklerde *S. mutans* yoğunluğu

Şekil 9'da grafik, *S. mutans* bakterisinin çeşitli çürük seviyelerindeki yoğunluğunu göstermektedir. Grafikteki "Orta çürük" ve "Yüksek çürük" kategorileri, orta ve yüksek derecede çürük sıklığı olan hastalarda bakteri yoğunluğunu ifade etmektedir. Yatay X ekseni çürük derecelerini, dikey Y ekseni ise bakteri yoğunluğunu temsil etmektedir.

Şekil 9'da, "Orta çürük" kategorisinde bakteri yoğunluğu düşük seviyelerde görülmekte, ancak bazı bireylerde belirgin artışlar bulunmaktadır. "Yüksek çürük" kategorisinde ise bakteri yoğunluğu genel olarak daha yüksek seviyelerde gözlenmekte olup, birkaç bireyde oldukça yüksek yoğunluklar kaydedilmiştir. Bu durum, *S. mutans* bakterisinin yüksek derecedeki çürüklerde daha fazla bulunduğuna işaret ediyor olabilir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diş çürüğü dünya çapında en yaygın ağız hastalığıdır. Tedavi edilmeyen diş çürükleri dünya çapında 2,3 milyar yetişkini ve 520 milyon çocuğu etkilemenin yanı sıra sağlık sistemleri ve toplum üzerinde önemli bir sağlık yükü oluşturmaktadır (Dünya Sağlık Örgütü, 2023). Diş hekimliği uzmanlarının son 25 yıldaki çabalarına rağmen diş çürüğü prevalansı benzer şekilde yüksek kalmaktadır (Butera ve ark., 2022; Hu ve ark., 2015; Navarra ve ark., 2016; Peng ve ark., 2022). Diş çürüğü mikrobiyal, davranışsal, genetik ve çevresel faktörleri içeren çok faktörlü bir hastalıktır. Bu faktörler çürüğün ilerlemesinde önemli olmasına rağmen mikrobiyal faktörlerin rolü göz ardı edilemez. Çürük gelişimi oral mikroorganizmalarla yakından ilişkili olduğundan çürük mikrobiyolojisinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması önemlidir. Diş çürüklerinin mikrobiyolojisi bir asırdan fazla bir süredir araştırılmaktadır ve gelişmeler araştırma yaklaşımlarında devrim yaratmıştır (Zhang ve ark., 2022).

Bakteriler ile diş çürükleri arasındaki ilişki, ilk kez deneysel hayvan modellerinde yapılan gözlemler sonucu anlaşılmıştır. Kültüre dayalı kesitsel çalışmalar, mutans streptokokların, özellikle *S. mutans*'ın diş çürüklerinin başlangıcında ve gelişmesinde kilit patojen olduğunu bildirmiştir. Uzun bir süre bu patojenin tükürükteki yoğunluğu çürük riski değerlendirmesinin bir parçası olarak kullanılmıştır (Becker ve ark., 2002; Marsh ve ark., 2006; Tanzer ve ark., 2001).

Kültür analizlerine dayanarak çürükle ilişkili oral biyofilmin çok çeşitli bakteri türleri içerdiği gösterilmiştir. Şüpheli karyojenler arasında aside dirençli streptokoklar, özellikle *S. mutans*, *Actinomyces, Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri yer almıştır. Ancak bakterilerin üreme gereksinimlerinin karşılanması durumunda başarılı bir şekilde üreyebildiğinden, zor üreyebilen karyojen bakterilerin çoğu in vitro olarak üretilememiştir (Aas ve ark., 2008; Peterson ve ark., 2014; Van Houte ve ark., 1996). 1980'li yıllardan itibaren bakterilerin tanımlanması ve sınıflandırılmasında kültür yöntemlerinin kullanımından moleküler yöntemlere büyük bir geçiş olmuştur. Bu yöntemler daha önce kültür ortamlarında üretilmemiş ve biyokimyasal testlerle tanımlanmamış çok sayıda karyojen bakteriyi ortaya çıkarmıştır. Özellikle, 16S rRNA gen dizilimi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi yeni moleküler yöntemler kullanılarak çürük lezyonlarında *S. mutans* dışında *Bifidobacterium dentium, S. mutans, S. wiggsiae, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium teenagelis, Prevotella*, *Selenomounas* gibi diğer asit üreten karyojenler de tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2021; Simón-Soro & Mira, 2015).

Yeni karyojen tür olarak tanımlanan *S. wiggsiae* ile ilgili in vitro çalışması, bu bakterinin asit üretkenliği ve asit toleransının *S. mutans*'ınkine eşdeğer olduğunu bildirmiş, çürük lezyonları gibi asitli ortamlarda rekabet edebileceğini ileri sürmüştür (Fakhruddin ve ark., 2019; McDaniel ve ark., 2021; Strużycka, 2014).

Tanner ve ark. (2011) tarafından PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada, *S. wiggsiae*'nin şiddetli erken çocukluk çağı çürükleriyle (Ş-EÇÇ) *S. mutans*'a göre daha güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu bulmuştur. Yazarlar, bu türün göreceli önemi konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu öne sürmüştür. Henne ve ark. (2015) *S. wiggsiae* ve *S. mutans* ikilisinin şiddetli erken çocukluk çağı çürükleri (Ş-EÇÇ) ile yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada Ş-EÇÇ'li ve çürüksüz çocukların tüm tükürük örneklerinden *S. wiggsiae* izole edilmiş ancak yoğunluğun Ş-EÇÇ'de daha yüksek olduğu görülmüştür (Matondkar ve ark., 2020). Öte yandan bazı çalışmalar, ortodontik tedavi gören çocukların tükürük örneklerinde *S. wiggsiae* prevalansının tedavi görmeyenlere kıyasla çok daha yüksek olduğunu bildirmiştir. *S. wiggsiae*'nin, hem Ş-EÇÇ'lerde hem de ortodontik tedavi gören pediatrik hastalarda klinik öneme sahip bir tür olarak tanımlanması ve ağız sağlığı yönünden potansiyel bir risk göstergesi olarak değerlendirilmesi gerektiği ileri sürülmüştür (Fakhruddin ve ark., 2019; Kressirer ve ark., 2017). Ancak, ortodontik tedavi görmüş ve tedavi görmemiş yetişkin hastaların ve ayrıca sağlıklı yetişkinlerin tükürük örneklerini inceleyen çalışmalar, *S. wiggsiae*'nin diş çürüğü ile ilişkisinin olmadığını veya yetişkinler arasında önemli ölçüde farklı prevelans gösterebileceğini bildirmiştir. Sonuç olarak *S. wiggsiae*'nin yetişkin çürüklerindeki karyojenik potansiyeline ilişkin tam bir görüş birliğine varılamamıştır (Colombo ve ark., 2017; Yoshiyuki ve ark., 2021).

Mevcut verilere ve farklı mikrobiyotaların gözlemlerine dayanarak, *S. wiggsiae*'nin yetişkin çürüklerinde karyojenik potansiyele sahip olup olmadığına yönelik bilgiler karmaşık ve tartışmalı görünmektedir (Colombo ve ark., 2017; Yoshiyuki ve ark., 2021). Bu çalışma, orta ve ileri düzeyde çürüğü olan hastalardan alınan dental biyofilm ve tükürük örneklerinde *S.wiggsiae*'nin prevalansını 16SrRNA genomik analizi ve kantitatif gerçek zamanlı PCR kullanarak araştırmak ve karyojenik potansiyelini tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Tüm çürüklerden toplanan biyofilm ve hastalardan alınan tükürük örneklerinde farklı yoğunluklarda *S. mutans* ve *S. wiggsiae* tespit edilmiştir. Orta seviyeli çürük biyofilmlerinde *S. wiggsiae* yoğunluğu yok denecek kadar düşük, *S. mutans*'ın ise düşük olmasına rağmen bazı

bireylerde yüksek yoğunluk görülmüştür. Yüksek seviyeli çürük biyofilmlerinde daha fazla *S. mutans* ve *S. wiggsiae* tespit edilmiş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Genel olarak biyofilm örneklerinde tükürük örneklerine kıyasla daha yüksek yoğunluk tespit edilmiştir. İstatistiksel analiz, bu farkın *S. mutans* için anlamsız ($p=0,496$) ve *S. wiggsiae* için oldukça anlamlı ($p=0,0003$) olduğunu göstermiştir. Elde edilen bulgular, S. *wiggsiae* türünün yüksek seviyeli çürük biyofilmlerinde orta seviyeli olanlara ve tükürük örneklerine göre çok daha yaygın olmasının bir sonucu olarak yetişkinlerdeki çürüklerin başlatılması değil de ilerletilmesinde potansiyel bir karyojen olabileceğini göstermektedir.

8. KAYNAKLAR

Aas, J. A., Griffen, A. L., Dardis, S. R., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., ... & Paster, B. J. (2008). Bacteria of Dental Caries in Primary and Permanent Teeth in Children and Young Adults. *Journal of Clinical Microbiology*, *46*(4), 1407-1417. https://doi.org/10.1128/jcm.01410-07

Al-Adool, R. J., Hamdoon, S. M., & Hamodat, H. F. (2023). *Scardovia wiggsiae* as Recent Player in Caries Process: a Review. *Mustansiria Dental Journal*, 19(1), 117-123. https://doi.org/10.32828/mdj.v19i1.998

Becker, M. R., Paster, B. J., Leys, E. J., Moeschberger, M. L., Kenyon, S. G., Galvin, J. L., ... & Griffen, A. L. (2002). Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(3), 1001-1009. https://doi.org/10.1128/jcm.40.3.1001-1009.2002

Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2018). Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in Microbiology*, *26*(3), 229-242. https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008

Butera, A., Maiorani, C., Morandini, A., Simonini, M., Morittu, S., Trombini, J., & Scribante, A. (2022). Evaluation of Children Caries Risk Factors: A Narrative Review of Nutritional Aspects, Oral Hygiene Habits, and Bacterial Alterations. *Children*, *9*(2), 262. https://doi.org/10.3390/children9020262

Cornejo, O. E., Lefébure, T., Pavinski Bitar, P. D., Lang, P., Richards, V. P., Eilertson, K., ... & Stanhope, M. J. (2013). Evolutionary and Population Genomics of the Cavity Causing Bacteria *Streptococcus mutans*. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 881-893. https://doi.org/10.1093/molbev/mss278

Colombo, N. H., Kreling, P. F., Ribas, L. F., Pereira, J. A., Kressirer, C. A., Klein, M. I., ... & Duque, C. (2017). Quantitative Assessment of Salivary Oral Bacteria According to the Severity of Dental Caries in Childhood. *Archives of Oral Biology*, 83, 282-288. http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.08.006

Chen, X., Daliri, E. B. M., Kim, N., Kim, J. R., Yoo, D., & Oh, D. H. (2020). Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. *Pathogens*, *9*(7), 569. https://doi.org/10.3390/pathogens9070569

Chen, X., Daliri, E. B., Tyagi, A., & Oh, D. H. (2021). Cariogenic Biofilm: Pathology-Related Phenotypes and Targeted Therapy. *Microorganisms*, 9(6), 1311. https://doi.org/10.3390/microorganisms9061311

Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral Microbiome: Unveiling the Fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, *23*(1), 122-128. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18

Dünya Sağlık Örgütü. (2023, Mart). Oral Health. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health

Fakhruddin, K. S., Ngo, H. C., & Samaranayake, L. P. (2019). Cariogenic Microbiome and Microbiota of the Early Primary Dentition: A Contemporary Overview. *Oral Diseases*, *25*(4), 982-995. https://doi.org/10.1111/odi.12932

Gao, Z., Guo, B., Gao, R., Zhu, Q., & Qin, H. (2015). Microbiota Disbiosis is Associated with Colorectal Cancer. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 20. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00020

Henne, K., Rheinberg, A., Melzer-Krick, B., & Conrads, G. (2015). Aciduric Microbial Taxa Including *Scardovia wiggsiae* and *Bifidobacterium* spp. in Caries and Caries Free Subjects. *Anaerobe*, 35, 60-65. http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.011

Hu, X. P., Li, Z. Q., Zhou, J. Y., Yu, Z. H., Zhang, J. M., & Guo, M. L. (2015). Analysis of the Association Between Polymorphisms in the Vitamin D Receptor (VDR) Gene and Dental Caries in a Chinese Population. Genet Mol Res, 14(3), 11631-8. http://dx.doi.org/10.4238/2015.September.28.15

Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., ... & Chen, Z. S. (2022). Microbiota in Health and Diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *7*(1), 1-28. https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4

Inquimbert, C., Bourgeois, D., Bravo, M., Viennot, S., Tramini, P., Llodra, J. C., Molinari, N., Dussart, C., Giraudeau, N., & Carrouel, F. (2019). The Oral Bacterial Microbiome of Interdental Surfaces in Adolescents According to Carious Risk. *Microorganisms*, 7(9), 319. https://doi.org/10.3390/microorganisms7090319

Jakubovics, N. S., Goodman, S. D., Mashburn-Warren, L., Stafford, G. P., & Cieplik, F. (2021). The Dental Plaque Biofilm Matrix. *Periodontology 2000*, *86*(1), 32-56. https://doi.org/10.1111/prd.12361

Jian, W., & Dong, X. (2002). Transfer of *Bifidobacterium inopinatum* and *Bifidobacterium denticolens* to *Scardovia inopinata* Gen. Nov., Comb. Nov., and *Parascardovia denticolens* Gen. Nov., Comb. Nov., Respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *52*(3), 809-812. https://doi.org/10.1099/ijs.0.02054-0

Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., ... & Zaura, E. (2016). The Oral Microbiome–an Update for Oral Healthcare Professionals. *British Dental Journal*, *221*(10), 657-666. https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865

Kressirer, C. A., Smith, D. J., King, W. F., Dobeck, J. M., Starr, J. R., & Tanner, A. C. (2017). *Scardovia wiggsiae* and Its Potential Role as a Caries Pathogen. *Journal of Oral Biosciences*, *59*(3), 135-141. http://dx.doi.org/10.1016/j.job.2017.05.002

Kadir, T. (2021). Dental ve Periodontal Hastalıkların Mikrobiyolojisi ve İmmünolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri.

Li, X., Liu, Y., Yang, X., Li, C., & Song, Z. (2022). The Oral Microbiota: Community Composition, İnfluencing Factors, Pathogenesis, and İnterventions. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 895537. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.895537

Marsh, P. D. (2006, June). Dental Plaque as a Biofilm and a Microbial Community–İmplications for Health and Disease. In BMC Oral Health (Vol. 6, No. 1, pp. 1-7). https://doi.org/10.1186/1472-6831-6-S1-S14

Marsh, P. D., & Zaura, E. (2017). Dental Biofilm: Ecological İnteractions in Health and Disease. *Journal of Clinical Periodontology*, *44*, S12-S22. https://doi.org/10.1111/jcpe.12679

Matondkar, S. P., Yavagal, C., Kugaji, M., & Bhat, K. G. (2020). Quantitative Assessment of *Scardovia wiggsiae* from Dental Plaque Samples of Children Suffering from Severe Early Childhood Caries and Caries Free Children. *Anaerobe*, *62*, 102110. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.102110

McDaniel, S., McDaniel, J., Howard, K. M., & Kingsley, K. (2021). Molecular Screening and Analysis Reveal Novel Oral Site-Specific Locations for the Cariogenic Pathogen *Scardovia wiggsiae*. *Dentistry Journal*, *9*(6), 73. https://doi.org/10.3390/dj9060073

Morrison, A. G., Sarkar, S., Umar, S., Lee, S. T., & Thomas, S. M. (2023). The Contribution of the Human Oral Microbiome to Oral Disease: A Review. *Microorganisms*, *11*(2), 318. https://doi.org/10.3390/microorganisms11020318

Norder Grusell, E., Dahlén, G., Ruth, M., Ny, L., Quiding-Järbrink, M., Bergquist, H., & Bove, M. (2013). Bacterial Flora of the Human Oral Cavity, and the Upper and Lower Esophagus. Diseases of the Esophagus, 26(1), 84-90. https://doi.org/10.1111/j.1442-2050.2012.01328.x

Navarra, C. O., Robino, A., Pirastu, N., Bevilacqua, L., Gasparini, P., Di Lenarda, R., & Crovella, S. (2016). Caries and Innate Immunity: DEFB1 Gene Polymorphisms and Caries Susceptibility in Genetic Isolates from North-Eastern Italy. *Caries Research*, 50(6), 589-594. https://doi.org/10.1159/000450965

Petersen, P. E., & Lennon, M. A. (2004). Effective Use of Fluorides for the Prevention of Dental Caries in the 21st Century: the WHO Approach. Community Dentistry and Oral Epidemiology, 32(5), 319-321. https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2004.00175.x

Peterson, S. N., Meissner, T., Su, A. I., Snesrud, E., Ong, A. C., Schork, N. J., & Bretz, W. A. (2014). Functional Expression of Dental Plaque Microbiota. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 4, 108. https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00108

Peng, X., Cheng, L., You, Y., Tang, C., Ren, B., Li, Y., ... & Zhou, X. (2022). Oral Microbiota in Human Systematic Diseases. *International Journal of Oral Science*, *14*(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41368-022-00163-7

Strużycka, I. (2014). The Oral Microbiome in Dental Caries. Polish Journal of Microbiology, 63(2), 127. https://doi.org/10.33073/pjm-2014-018

Simón-Soro, A., & Mira, A. (2015). Solving The Etiology of Dental Caries. *Trends in Microbiology*, *23*(2), 76-82. https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.10.010

Tanzer, J. M., Livingston, J., & Thompson, A. M. (2001). The Microbiology of Primary Dental Caries in Humans. Journal of Dental Education, 65(10), 1028-1037. https://doi.org/10.1002/j.0022-0337.2001.65.10.tb03446.x

Tanner, A. C., Mathney, J. M., Kent, R. L., Chalmers, N. I., Hughes, C. V., Loo, C. Y., Pradhan, N., Kanasi, E., Hwang, J., Dahlan, M. A., Papadopolou, E., & Dewhirst, F. E. (2011). Cultivable Anaerobic Microbiota of Severe Early Childhood Caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(4), 1464–1474. https://doi.org/10.1128/JCM.02427-10

Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the Human Gut Microbiota. *Biochemical Journal*, *474*(11), 1823-1836. https://doi.org/10.1042/BCJ20160510

Tonelli, A., Lumngwena, E. N., & Ntusi, N. A. (2023). The Oral Microbiome in the Pathophysiology of Cardiovascular Disease. *Nature Reviews Cardiology*, *20*(6), 386-403. https://doi.org/10.1038/s41569-022-00825-3

Van Houte, J., Lopman, J., & Kent, R. (1996). The Final pH of Bacteria Comprising the Predominant Flora on Sound and Carious Human Root and Enamel Surfaces. Journal of Dental Research, 75(4), 1008-1014. https://doi.org/10.1177/00220345960750040201

Valm, A. M. (2019). The Structure of Dental Plaque Microbial Communities in the Transition from Health to Dental Caries and Periodontal Disease. *Journal of Molecular Biology*, *431*(16), 2957-2969. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.016

Whiteley, A., & Kingsley, K. (2017). Scardovia wiggsiae Prevalence Among Adult and Pediatric Orthodontic and Non-Orthodontic Patient Populations. Journal of Medical Discovery, 2(4), 1-3. https://doi.org/10.24262/jmd.2.4.17034

Yoshiyuki, I., Mana, F., & Osamu, T. (2021). Detection, Isolation, and Identification Methods for *Scardovia wiggsiae* and Its Involvement in Adult Dental Caries. 日本口腔検査学会雑誌, 13(1): 30-38. http://doi.org/10.15041/jsedp.13.30

Zero, D. T. (1999). Dental Caries Process. *Dental Clinics of North America*, *43*(4), 635-664.

Zhang, M., Whiteley, M., & Lewin, G. R. (2022). Polymicrobial Interactions of Oral Microbiota: A Historical Review and Current Perspective. *Mbio*, *13*(3), e00235-22. https://doi.org/10.1128/mbio.00235-22