T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışman
Doç. Dr. Hüseyin Çakan

ADLİ BİLİMLERDE TÜKÜRÜK MİKROBİYOTASININ KİMLİKLENDİRME AÇISINDAN ÖNEMİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZARGAİ ROSTAMKHİL

İSTANBUL, 2021

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışman

Doç. Dr. Hüseyin Çakan

ADLİ BİLİMLERDE TÜKÜRÜK MİKROBİYOTASININ KİMLİKLENDİRME AÇISINDAN ÖNEMİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZARGAİ ROSTAMKHİL

İSTANBUL, 2021

ÖNSÖZ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü'nde Yüksek lisans eğitimime imkân sunan Enstitü Müdürü Sayın **Prof. Dr. Faruk AŞICIOĞLU**'na ve Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı **Dr. Öğr. Üyesi Gönül FİLOĞLU TÜFEK'e**

Yüksek lisans öğrenimim süresince, engin bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, ümitsizliğe düştüğüm anlarda kendisinden büyük destek aldığım, birlikte çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum çok kıymetli tez danışmanım

Doç. Dr. Hüseyin ÇAKAN'a

Tezime katkıda bulunan, deneyimlerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocam İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Prof. Dr. Gökhan AYGÜN**'e ve üzerimde çok büyük emeği olan, kıymetli hocam

Dr. Seda SELMAN'a

Tezime katkıda bulunan çok değerli hocam **Doç. Dr. Gökhan ERSOY'a**

Tezime katkıda bulunan ve beni dinleyen enstitümüzün tüm öğretim üyelerine ve çalışanlarına, tez aşamasında beni her zaman motive eden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarıma Dostagul Mangal, Muzamil Niazi ve Mehmet Saldıran'a

Her zaman anlayış gösteren beni dinleyen ve varlığını hissettiren sevgili Eşim "Mina", Oğlum "Mojtaba İman", değerli Anne ve Babama ve tüm aile üyelerime saygı ve minnetle teşekkür ederim.

Zargai Rostamkhil

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i
İÇİNDEKİLER ii
TABLOLAR DİZİNİ iv
ŞEKİLLER DİZİNİ v
KISALTMALAR vi
ÖZET viii
SUMMARY x
1. **Giriş ve Amaç** 1
2. **Genel Bilgiler** 4
2.1. İnsan Oral Mikrobiyom Veri Tabanı 6
2.2. Oral Mikrobiyota 7
2.2.1. Dişeti mikroflora 9
2.3. Oral Mikrobiyota Elemanları 10
2.3.1. Bakteriler 10
2.3.2. Funguslar (Mayalar) 12
2.3.3. Arkeler 12
2.3.4. Virüsler 13
2.4. Oral Mikrobiyota ile Covid-19 Arasındaki İlişki 14
2.5. Oral mikrobiyomun Etki Faktörleri 15
2.5.1. Antibiyotik kullanımı 16
2.5.2. Sigara içme alışkanlığı 16
2.5.3. Alkollü içecekleri 17
2.5.4. Gebelik 18
2.5.5. Sosyoekonomik durum 18
2.5.6. Coğrafik konum değişimleri 18
2.5.7. Yaş 20
2.5.8. Cep telefonu kullanımı 20
2.5.9. Diyet 20
2.5.10. İmplant 21
2.6. Ağız İçi Yapılar 22

2.6.1. Dişler 23
2.6.2. Dil 24
2.6.3. Tonsillar (Bademcikler) 24
2.6.4. Ağız ve dişeti mukozası 25
2.6.5. Tükürük bezleri 25
2.6.6. Dudaklar 25
2.7. Ağız Ekolojisi 26
2.8. Tükürük 27
2.8.1. Kurutulmuş tükürük lekelerinin tespit yöntemleri 28
2.9. Adli Bilimlerde Kimliklendirme ve Önemi 29
3. **Gereç ve Yöntem** 31
3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer ve Süreç 31
3.2. Materyal Alımı 31
3.3. Materyal Özellikleri 31
3.4. Kullanılan Sarf, Kimyasal ve Cihazlar 34
3.5. Metodun Uygulanması 35
3.5.1. Besiyeri hazırlaması 35
3.5.2. Örneklerin (Mikroorganizmaların) ekim işlemleri 38
3.5.3. Örneklerin (Mikroorganizmaların) tayin yöntemleri 39
3.5.4. MALDI-TOF MS 41
3.5.5. Biyokimyasal testler 42
3.6. Veri Analizi 45
4. **Bulgular** 46
4.1. Genel Fenotipik ve Mikroskobik Değerlendirme 46
4.1.1. Ağız materyallerin değerlendirilmesi 46
4.1.2. Isırılan parmak materyallerin değerlendirilmesi 47
4.1.3. Modül materyallerin değerlendirilmesi 48
4.2. Üreyen mikroorganizmaların türlerinin genel değerlendirilmesi 50
4.3. İstatistiksel analizler 52
5. **Tartışma ve Sonuç** 60
6. **Kaynakça** 71
7. **Ekler** 83

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo I: Çalışma grubuna ait özellikler 33

Tablo II: Ağızda üreyen mikroorganizmaların plaklara göre dağılımı. 47

Tablo III: Isırılmış parmakta üreyen mikroorganizmaların plaklara göre dağılımı 48

Tablo IV: Plaklarda üreme gösteren mikroorganizma türlerinin modül materyallere göre dağılımları. 49

Tablo V: Üreyen mikroorganizmaların ailesi, filumu ve şekli 50

Tablo VI: Mikroorganizmaların filumlara göre dağılımı 51

Tablo VII: *Candida sp* ve günlük diş fırçalama sayısının çapraz tablosu 53

Tablo VIII: *Candida sp* ve günlük diş fırçalama sıklılığının Ki-Kare testi 54

Tablo IX: *Neisseria sp* ve sigara kullanımı çapraz tablosu 54

Tablo X: *Neisseria sp* ve sigara tüketiminin Ki-Kare testi 55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1: Tükürük, Dışkı, Deri ve mide sıvısının mikrobiyota arasındaki tür farklılıkları 9

Şekil 2: Bakterilerin temel şekilleri 11

Şekil 3: Dünyadaki çeşitli popülasyonlarda insan vücudunda bulunan mikroorganizmaların çeşitliliği 19

Şekil 4: Ağızın iç yapısı 23

Şekil 5: Ağızdan ve parmaktan alınan biyolojik örnekler (a, b) 31

Şekil 6: Hazırlanan besiyerlerin (Kanlı, Çikolata, MacConkey ve Chrom agarların) görüntüsü. 38

Şekil 7: Alınan örneklerin kültür edilme işlemi 38

Şekil 8: Alınan örneklerin kültüre edilmesinden sonra etüve'den çıkan petri görüntüleri .. 39

Şekil 9: Üreyen mikroorganizma türlerinin modül materyallere göre dağılımı 51

Şekil 10: Üreyen mikroorganizma türlerinin Gram boyama özelliklerine göre dağılımı 52

Şekil 11: Isırılmış parmak modülün Gram özelliklerine göre mikroorganizmaların dağılımı 52

Şekil 12 : Yaş aralıklarına göre mikroorganizmaların dağılımı 56

Şekil 13: Mikroorganizmaların kronik hastalıklara göre dağılımı 56

Şekil 14: Mikroorganizmaların sigara tüketimine göre dağılımı. 56

Şekil 15: Cinsiyete göre mikroorganizmaların dağılımı 56

Şekil 16: Günlük diş fırçalama 'ya göre mikroorganizmaların dağılımı 57

Şekil 17: Mikroorganizmaların filum ve türüne göre dağılımı 57

Şekil 19: *E. coli* mikroskobik görüntüsü 58

Şekil 18: *Basilus* mikroskopik görüntüsü 58

Şekil 20: *Hemafilus influenza* mikroskobik görüntüsü 58

Şekil 21: *Morexella.sp* mikroskobik görüntüsü 58

Şekil 23: *Candida sp* mikroskobik görüntüsü 58

Şekil 22: Alfa hemolitik streptokok plaktaki görüntüsü 58

Şekil 24: Koagülaz negatif staphylokokların mikroskobik görüntüsü 59

Şekil 25: Streptokokların mikroskobik görüntüsü 59

KISALTMALAR

pH	Power of Hydrogen- Hidrojenin gücü
C°	Santigrat derece
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
eHOMD	Expanded Human Oral Microbiome Database
RNA	Ribonucleic Acid
HSV	Herpes Simplex Virüs
EBV	Epstein Barr Virüs
CMV	Sitomegalo Virüs
PMV	Papilloma Virüs
OTU	Operational Taxonomic Unit
HMP	Human Microbiome Project
SED	Sosyo-Ekonomik Durum
rRNA	ribozomal RNA
HOT	İnsan Oral Taksonları
PI	Peri-implantitis
PIM	Peri-implant mucositis
PID	Peri-implant disease
RMT	Retromolar Trigone
PMR	Pterygomandibular Raphe

ÖZET

Adli mikrobiyoloji araştırmaları adli bilimlerin hemen hemen çoğu adli vakalarda kullanılmaktadır. Adli bilimlerde soruşturmanın en önemli bölümü olay yeri incelemesidir. Olay yerinde bulunan deliller, kimi zaman gözle görülebilir, makroskobik düzeyde olabildiği gibi kimi zaman gözle görülmeyen, mikroskobik düzeydedir. Olay yerinin en önemli delillerinden biri olan DNA bozulmuş veya yeterli olmadığı durumlarda delil özelliğindeki gözle görünmeyen mikro düzeydeki mikroorganizmaların karakterizasyonu aracılığıyla suçlunun belirlenmesine olanak sağlayabilmektedir. Adli vakalarda bulunan bu gözle görünmeyen biyolojik delillerin var olmasından söz edilen, yeni bir çalışma alanı olan adli mikrobiyoloji de farklı toplumsal yaşam sonucu, suçlu olan kişinin tanımlanması ve masum olan kişilerin korunması amacıyla, mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, insan bedeni yüzeyindeki mikrobiyota topluluklarının tespitinin, adli bilimlere yeni bir bakış açısı getirebileceği gösterilmiştir.

Çalışmamızda; 30 denekten ağız ve ısırılan sağ el işaret parmağı olmak üzere 60 farklı svab örneklerinin 4 farklı (Kanlı, Çikolatalı, Endo ve Chrom) besiyerlerinde ekim işlemi yapılmıştır. Kişilerin tükürüklerinde bulunan tüm üreyebilen mikroorganizmalar araştırılmıştır. Ağız ve ısırılmış parmaktan elde edilen verilere göre; bu mikroorganizmalardan en baskın tür olarak alfa hemolitik streptokoklar olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, kişilerin tükürük mikrobiyotasında bulunan *Neisseria sp* bakterileri sigara tüketimi ile ve *Candida sp* ağız hijyen ile anlamlı bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir.

Böylece, suç soruşturmasında şüpheli kişilerin var olan bozunmuş ya da yetersiz olan ve ısırık izlerinden elde edilen DNA prosedürünün işlemediği durumlarda veya genotipik yaklaşımlara ek olarak tamamlayıcı bir sonuç elde etmek amacıyla bu çalışmayı adli bilimlere kazandırmış bulunmaktayız. Tükürükte var olan mikrobiyotayı pahalı ve farklı ekipmanlar gerektiren genotipik tanımlamanın aksine; ekonomik açıdan ucuz fenotipik ve diğer morfolojik

özelliklerden yararlanarak tanımlamak ve belirlenen bu mikroorganizmaların bir kişinin diğer kişilere göre ne kadar özgün ve karakteristik özelliklerine sahip olduğunu kontrol ederek adli bilimlerde kimliklendirilme açısından önemi araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tükürük, Mikrobiyota, Adli Kimliklendirme

SUMMARY

Forensic microbiology research is used in almost most forensic cases of forensic science. The most important part of investigation in forensic science is crime scene investigation. Evidence found at the crime scene is sometimes visible, macroscopic, and sometimes invisible, microscopic.

DNA, which is one of the most important evidences of the crime scene, can enable the determination of the culprit through the characterization of microorganisms that are invisible to the eye as evidence in cases where DNA is degraded or insufficient. Forensic microbiology, which is a new field of study, which is mentioned about the existence of these invisible biological evidences found in forensic cases, has gained importance in terms of defining microorganisms as a result of different social life, in order to identify the criminal and protect the innocent. In recent studies, it has been shown that the detection of microbiota communities on the human body surface can bring a new perspective to forensic science.

In our study; Sowing of 60 different swab samples, including the mouth and the bitten right hand index finger from 30 subjects, was performed on 4 different (Bloody, Chocolate, Endo and Chrom) media. All reproducible microorganisms found in the saliva of the persons were investigated. According to the data obtained from the mouth and the bitten finger; Alpha hemolytic streptococci were determined to be the most dominant of these microorganisms. In addition, Neisseria sp bacteria found in the saliva microbiota of individuals have been shown to have a significant relationship with cigarette consumption and Candida spsp oral hygiene.

Thus, we have brought this study to forensic sciences in order to obtain a complementary result in addition to genotypic approaches or in cases where the DNA procedure obtained from the bite marks is degraded or inadequate and the DNA procedure obtained from the bite marks of the suspects in the criminal investigation. Contrary to the genotypic description of the microbiota in saliva, which requires expensive and different

equipment; The importance of identifying these microorganisms in forensic sciences has been investigated by using economically inexpensive phenotypic and other morphological features and controlling how specific and characteristic features a person has compared to other people.

Keywords: Saliva, Microbiota, Forensic Identification

1. Giriş ve Amaç

Adli bilimlerin temel amacı insan yaşamı ve mülkünü korumak, sosyal yaşamda barış ve uyumu teşvik etmektir. Bu nedenle, suçu azaltmak ve sonuç olarak yasanın ihlalini önlemek için suç tespit tekniklerini geliştirmek esastır (1). Adli bilimlerde suç soruşturmasının en önemli bölümünü olay yeri incelenmesi ve buradan elde edilen deliller oluştururlar (2).

Olay yerinde bulunan bu deliller, kimi zaman gözle görülebilir, makroskobik düzeyde olabildiği gibi kimi zaman gözle görülmeyen, mikroskobik düzeydedir. Adli vakalarda bulunan bu mikro düzeydeki delillerin var olmasından söz edilen, yeni bir çalışma alanı olan adli mikrobiyoloji de farklı toplumsal yaşantı sonucu, suçlu olan kişinin tanımlanması ve aksine masum olan kişileri korumak amacıyla, mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmıştır (3).

Adli mikrobiyoloji araştırmaları adli bilimlerin hemen hemen çoğu adli vakaların çözümünde kullanılmaktadır. Örneğin olay yeri incelemesi, delil zinciri uygulamaları, delil toplama yöntemleri, delil koruması, delillerin incelenmesi, delil sonuçlarının yorumlanması ve mahkemeye sunma gibi klasik delil çalışmalarından ziyade delilin etiyolojisini ve türünü belirlemeye yönelik çalışmaları da ihtiva ediyorlardır (4). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, insan bedeni yüzeyindeki mikrobiyota topluluklarının tespitinin, adli bilimlere yeni bir bakış açısı getirebileceği gösterilmiştir (5). İnsan Mikrobiyom Projesi (HMP), 2007 yılında ilk adımlarını atmış ve ön değerlendirmeleri vücudun her bölgesinin kendine ait bir mikrobiyotaya sahip olduğunu gösterilmiştir. Gösterilen bu mikrobiyota bölgeleri; ince ve kalın bağırsak, ağız boşluğu, alt ve üst solunum yolları, cilt ve genital bölge olarak tanımlanmıştır. Son yapılan araştırmalar, bu mikrobiyota alanları kişilerin etnik kökeni ve ırk ile de yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, kişilerin yaşam tarzı, coğrafik konumu, beslenme tarzı ve şekli ile kişiye özgü bir yapı oluşturmaktadır (6) Bu özel mikrobiyota toplulukları kişilerin bulunduğu olay yerlerinde rastlamak mümkündür. Gelişen teknolojiyle birlikte günümüzde

adli mikrobiyoloji, artık durağan kalmayıp suçun her alanına girmeye başlamıştır. Bunlardan biride; fiziksel ve biyolojik özelliklerini araştıran adli vakalarda ağzın teması sırasında bulaşan diğer önemli bir biyolojik kanıt ise tükürüktür. Tükürüğe, kriminal olaylarda mağdur ya da sanığın ısırık izlerinde, olay yerinde pek çok delil ve objeler üzerinde rastlamak mümkündür (7-9).

Tükürük, çeşitli mikroorganizmaların bulunduğu, ağız boşluğunda salgılanan ve ortamın pH'sını kontrol eden özel bir vücut sıvısıdır (10).

Geçmişte, görgü tanıklarının ve davadaki uzmanların ifadeleri en önemli kanıtlar iken, günümüzde adli soruşturma süreçlerinde çok şey değişmiştir. Son zamanlarda, kanıtları incelemek için daha fazla teknoloji kullanılmaktadır. Teknolojik ilerlemeler, kriminal soruşturmalarda bilimsel kanıtların önemini artırmaktadır. Teknolojik gelişmeler hem kimyasal hem biyolojik hem de dijital olarak çok daha küçük, eser miktardaki materyallerden daha fazla bilgi almayı mümkün kılmıştır. DNA alanında yapılan araştırmalar, biyolojik alanda büyük önem taşımaktadır. Tespit edilen biyolojik izlerde insan DNA'sının kullanılması bunun iyi bilinen bir örneğidir, ancak diğer yaşam formları da adli soruşturmalarda değerli bilgiler sağlayabilirler (11).

Biz de çalışmamızda geleneksel (konvansiyonel) yöntemler kullanılarak adli bilimler açısından çok önemli insan biyolojik sıvısı (tükürük)'te İndikatör mikrobiyotanın varlıklarını, tanımlayıp ağız içinde bulunan ve ağız mikrobiyotasından ısırılan obje'ye transfer edilen mikroorganizmaları karşılaştırarak; bu mikroorganizmaların adli bilimlerde kimliklendirme de kullanılıp kullanılamayacağının tespit edilmesi amacıyla planlanmıştır.

Aynı zamanda tükürük içinde var olan mikroorganizmalra miktarı ve türü, kişinin yaşam tarzı (beslenme şekli, sigara içme alışkanlığı, yaş, cinsiyet, kronik hastalık, oral implant) gibi değişik unsurlar ile ilişkisi adli kimliklendirme açısından değerlendirilmesi ve

popülasyonda sadece o kişiye ait mikroorganizmaların tespit edilmesi; kişilerin o popülasyonda diğer bireylere göre mikrobiyolojik açıdan bir fark oluşturup oluşturmayacağının araştırılması da hedeflenmiştir. Bu çalışma sonucunda olay yerinden elde edilen deliller üzerindeki ısırık izlerinden çeşitli biyolojik bir delil olan tükürüğün içinde var olan mikroorganizma (bakteri)'ların, kriminal olaylar ve biyosuçlarda dikkate alınabilinmesi açısından, yeni bir bakış açısı kazandırmayı da amaçlamaktadır.

2. Genel Bilgiler

Olay yerinden elde edilen deliller farklı biyoanalitik uygulamaların vasıtası ile elde edilir, bu biyolojik delillerin orijinin saptanmasında kullanılan mikroskobik, kimyasal, immünolojik ve enzimatik uygulamalardan faydalanılmaktadır (12). Gelişen teknolojiyle birlikte adli mikrobiyoloji artık durağan kalmayıp suçun her alanına girmeye başlamıştır. Adli bilimlerin çalışma alanlarından biri olan adli mikrobiyoloji, değişen toplumsal yaşam sonucu, suç işleyenleri tanımlaması ve aksine masumları ve suçsuz olanları korumak amacıyla mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda insan bedeni yüzeyindeki bakteri topluluklarının tespiti ve üzerindeki çalışmalarla Adli bilimlere yeni bir bakış açısı getirebileceği gösterilmiştir. Kişilerin vücutları üzerindeki bölgelerde kendilerine özgü mikroorganizmalar taşırlar. Bu mikroorganizmalara kişilerin bulunduğu olay yerinde rastlamak mümkündür (13).

Kazalarda, cinayetlerde, tecavüz olaylarında, çeşitli cinsel istismar ve saldırılarda, mağdurun ve suçlunun vücudunda bulunan veya herhangi bir objenin üzerinde bulunan ısırık izi, olay yerinde bulunan sigara izmariti, tükürük lekesi ve dişlerin yapısı kimliklendirme ve suç tespiti açısından oldukça önemlidir (14). Adli bilimler içeresindeki adli diş hekimliği, diş yapısının yanı sıra ısırık izlerinin incelenmesiyle kimliklendirme çalışmaları yürüten bir alandır. Isırık izlerinin fiziksel özelliğinin araştırılmasının yanı sıra biyolojik özellikleri de araştırılmalıdır. Isırma sürecinde ağzın temasıyla bulaşan tükürük, önemli bir biyolojik kanıttır (15).

Tükürük çoğu kriminal olaylarda mağdurun ya da sanığın ısırık izlerinde birikmektedir. Tükürüğü objeler üzerinde tanımlamak için Phadebas kâğıt ve Amilaz testleri uygulanarak tükürüğün görünür hale gelmesi sağlanır. Böylece svap tekniğiyle objeler

üzerinden alınarak gerçeği sunan deliller haline getirilir. Tükürüğün adli vakalarda mühim bir kanıt olabileceğine yönelik çalışmalar hızla büyümektedir.

Cinsel saldırı vakalarında insan derisi üzerinde, yalama, emme ve ısırmaya bağlı olarak ekimozlar ve çeşitli lezyonlar meydana gelebilir. Bu çeşit saldırı vakalarında, gerekli kanıtların toplanması önemli rol taşır. Olay yerindeki obje ele alınmadan önce, üzerinde tükürüğün belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmalıdır. Cinsel saldırılarda insanın ısırık izinin çözümlenmesi çok zor olabilmektedir. Genelde ısırık izi deride her zaman fark edilmeyecek şekilde ortaya çıkabilmektedir (16).

Adli mikrobiyoloji araştırmaları adli bilimlerin hemen hemen çoğu adli vakalarda kullanılmaktadır. Örneğin, olay yeri incelemesi, delil zinciri uygulamaları, delil toplama yöntemleri, delil taşıması, delilin korunması, delillerin incelenmeleri, delil sonuçlarının yorumlanması ve mahkemeye sunulması gibi klasik delil çalışmalarından başka faktörün etiyolojisini ve türünü belirlemeye yönelik çalışmaları da kapsamaktadır. Genel olarak adli mikrobiyolojinin çalışması iki ana başlık altında toplanabilir. Bunların birincisi biyolojik terör, biyolojik suç ve biyolojik hata, olabilirlik veya kaza sonucu mikroorganizmaların besin ve ürünlerine geçtikten sonra delillerin incelenip değerlendirildiği çalışma türleridir. Bunun yanı sıra adli mikrobiyologlar çeşitli hayvansal ve bitkisel besinlerde üreyen mikroorganizmalar veya toksinlerinin alınmasıyla oluşan zehirlenmelerle ilgili suç sayılan vakaların araştırılma ve incelenmesinde görev almaktadır (4,17).

Tükürük, çeşitli mekanizmalar yoluyla oral mikrobiyotanın kompozisyonunu ve aktivitesini belirlemede önemli bir rol oynar. Esas olarak tükürükten gelen moleküller, oral yüzeyler üzerinde bir şartlandırıcı film oluşturur ve böylece bakteriyel bağlanma için reseptörler sağlar. Bağlı hücreler, büyüme için ana besin kaynakları olarak glikoproteinler gibi

tükürük bileşenleri kullanır. Oral bakteriler, bu yapısal olarak karmaşık molekülleri katabolize etmek için sırayla uyumlu bir şekilde çalışmaktadır (18).

Ağızdaki ekolojik dengeden sorumlu faktörlerden biri, çeşitli şekillerde bakterilerin kolonizasyonunu ve büyümesini etkileyen tükürüktür. Tükürük, oral mikrofloranın oluşumunda önemli bir adım olan mikroorganizmaların ilk bağlanmasını yöneten bir katamn ile oral sert ve yumuşak dokuları kapsar. Ayrıca, çözünür fazda bakterilere bağlanan, yüzeylere yapışmalarını bloke eden protein de içermektedir (19).

2.1. İnsan Oral Mikrobiyom Veri Tabanı

Vücudumuzdaki mikroorganizmalar topluluğuna mikrobiyom denir. Simbiyotik, kommensal ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik topluluğunu tanımlamak için *Joshua Lederberg* ilk kez "Mikrobiyom" terimini üretti ve Nobel Ödülü aldı (20). Genişletilmiş İnsan Oral Mikrobiyom Veri tabanını (eHOMD) oluşturmanın amacı, bilimsel topluluğa ağız boşluğu, yutak, burun geçişleri, sinüsler ve yemek borusu dahil olmak üzere üst sindirim ve solunum yollarını kapsayan insan solunum ve sindirim sisteminde bulunan bakteri türleri hakkında kapsamlı bilgi sağlamaktadır. Ayrıca, eHOMD alt solunum yolu için de iyi hizmet vermektedir. Bu veri tabanı iki ana bilgi türü sağlamaktadır: Taksonomik ve genomik (21). Halihazırda eHOMD, toplam 775 mikrobiyal tür içermektedir. Tüm türlerin%57'si resmi olarak adlandırılmış, %13'ü isimsiz ancak ekilmiş ve %30'u yalnızca ekilmemiş filotip olarak biliniyor. eHOMD'nin önemli bir yönü, 16S rRNA dizisi filogenisine dayalı olarak şu anda isimlendirilmemiş taksonlar için geçici bir adlandırma şemasının sunmasıdır. Dolayısıyla, Oral ve nazal olmayan taksonlar dahil. Toplam genom sayısı 1599'dur (22).

Oral izolatların 16S rRNA gen dizisi analizinden ve klonlama çalışmalarından tanımlanan adlandırılmış oral türler ve taksonlar, tanımlanmış 16S rRNA filotiplerine yerleştirildi ve her birine benzersiz insan oral takson (HOT) numarası verildi. Şu anki güncel olan HOMD *Actinobacteria, Bacteroidetes, Chlamydiae, Chloroflexi, Euryarchaeota,*

Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes, SR1, Synergistetes, Tenericutes ve *TM7* taksonların nispi bolluğunu belirlemek ve yeni aday taksonları tanımlamak için oral mikrobiyota çalışmalarından izole edilen çok sayıda 16S rRNA gen klonları analiz edilmektedir (23).

Metagenomik ve yeni nesil sekanslama tekniklerindeki gelişmeler hızlı sekanslar oluşturur ve ağız boşluğundaki yerleşik mikroorganizmaların hakkında kapsamlı bilgi sağlar. Bu nedenle elde edilen bilgiler, oral ve ilişkili hastalıkların erken teşhisinde mikrobiyom bazlı biyobelirteçlerin geliştirilmesi için kullanılabilir. Ayrıca, birçok ticari şirketi, geniş bir pazar fırsatını gösteren tanı ve tedavi potansiyeli nedeniyle oral mikrobiyomlara yoğun ilgi göstermiştir. (24). Genişletilmiş İnsan Oral Mikrobiyom Veri tabanını bakteri, mantar, virüs ve protozoa içeren çok sayıda mikroorganizmayı besler. Çeşitli uygun yerleri ile ağız, mikropların dişlerin sert yüzeylerini ve oral mukozanın yumuşak dokularını kolonize ettiği son derece karmaşık bir yaşam alanıdır. Sindirimin başlangıç noktası olmasının yanı sıra, oral mikrobiyom, oral ve sistemik sağlığın korunmasında çok önemlidir. Numune toplama kolaylığı nedeniyle, bugüne kadar en iyi çalışılan mikrobiyom haline gelmiştir. Daha önce, mikrobiyomun incelenmesi geleneksel kültüre bağlı tekniklerle sınırlıydı, ancak ağız boşluğunda bulunan bol miktarda mikroflora kültürlenemedi. Bu nedenle, mikrobiyomu incelemek zordu. Yeni nesil dizileme ve biyoinformatik de dahil olmak üzere yeni genomik teknolojilerin ortaya çıkması, oral mikrobiyomun karmaşıklıklarını ortaya çıkarmıştır. Mikrobiyomu incelemek için güçlü bir yol sağlamıştır. Sağlık ve hastalıktaki oral mikrobiyomun anlaşılması, hastalıklı durumlarla ilişkili fonksiyonel ve metabolik değişiklikleri araştırmak ve nihayetinde kişiselleştirilmiş ve hassas tıbbın oluşturulmasına yardımcı olacak ilaç geliştirme ve hedefli tedaviler için moleküler işaretlerin belirlemesi için daha fazla yön verecektir (25).

2.2. Oral Mikrobiyota

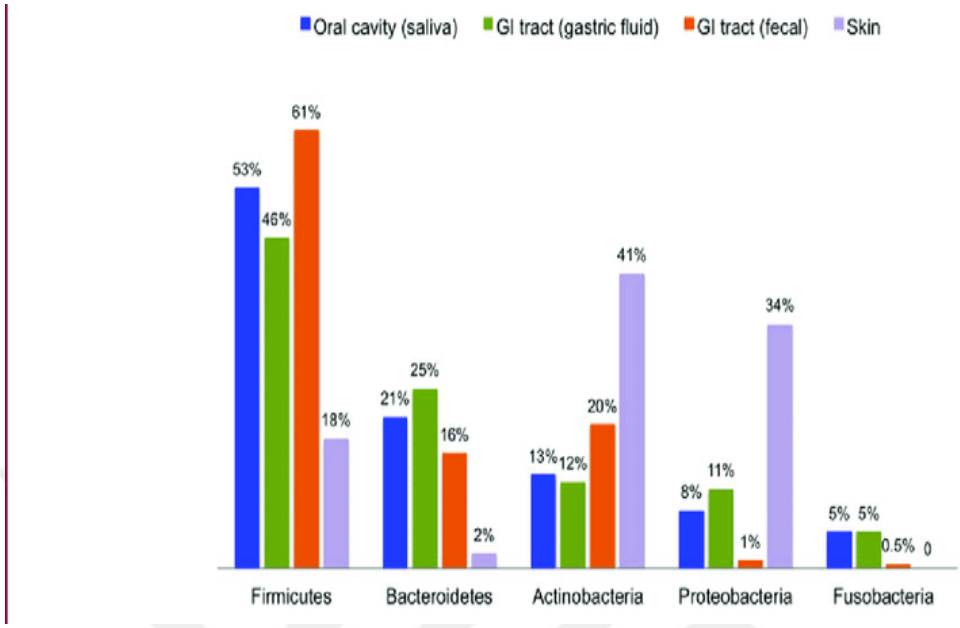
Ağız mikrobiyotası kişiler arası hatta aynı kişide oral boşluğu içerisinde farklı bölgelerde değişiklikler gösterir. Bu dinamiklik ve farklılık ilişkisini anlamak için ağız içi boşluğu morfolojisi ve fizyolojisi farklı ekosistemlerde incelenebilir. İnsan gelişimi ile orantılı olarak ağız içi kavitede farklı habitatlar yerleşip gelişiyor. Farklı anatomik ve fizyolojik

yapılar, oksijen miktarı, besin türleri, sıcaklık ve konak savunma yanıtının etkisine göre oral mikrobiyotasında bazı mikroorganizma türleri daha baskın ve bol miktarda gözlenir. Ağız mikrobiyotasının bir habitatı tercih etmesindeki en net özellik, belirli bir alanın yüzeysel dokusunun; oral mukoza gibi yumuşak dokular veya diş minesi gibi sert dokulardan oluşup oluşmadığıdır (26). Ağız boşluğundaki yumuşak dokuların çoğunluğu oral mukozayı oluşturmaktadır. Oral mukoza sağlık ve hastalıkta oral kavitelerine göre farklı alt tiplerde bulunur (27). Çiğneyici mukoza keratinize olan oral mukozasıdır ve bölgesel bir heterojenite yaratır. Bu yapı, dilin dorsal yüzeyini, sert damağı ve supragingival diş yüzeylerine yakın keratinize dişetini oluşturur. Bu yapının aksine, değer keratinize olmayan mukoza tipi de mevcuttur. Örtücü mukoza ise, yumuşak damak, ventral dil yüzeyi, ağız tabanı ve labiyal mukoza gibi esnek dokuları oluşturur. Oral mukozanın son tipi olan özelleşmiş mukozası dilin dorsal yüzeyinde bulunan papillerdir (28).

Diğer anatomik alanlar ile karşılaştırıldığında, oral mukozadaki mikrobiyota kolonizasyonu oldukça sınırlıdır (29). Örtücü ve özelleşmiş mukozanın baskın olduğu dilin sırt tarafında *Streptococcus salivarius, Rothia mucilaginosa* ve bazı *Eubacterium* türlerinin kolonize olduğu gösterilmiştir ve ağız kokusu ile ilişkili olan mikroorganizmalardır. Ağız içi, her zaman tükürük ve dişeti oluğu adı verilen kıvamlı sıvıların etkisi altındadır. Oral mikrobiyotayı oluşturan toplulukları etkileyen bir başka özellik de yüzey anatomisinden bağımsız olarak bölgenin tükürük bezlerine yakınlığı ve ilişkisidir (30).

Ağızda yaşayan mikrobiyal türlerin spektrumunun hem çeşitlilik hem de kompozisyon açısından üst sindirim kanalında yaşayan mikrobiyotanın yakın bir temsili olduğuna dair artan kanıtlar vardır. Proton pompası inhibitörlerinin sindirim kanalındaki lümen mikrobiyota üzerindeki etkisini değerlendirmek için *Tsuda ve arkadaşları* tarafından bildirilen bir çalışmada, 112 ağız boşluğu, mide, deri ve 45 bireyden kolon (dışkı), bakterilerin farklı

habitatlarından bağımsız olarak 4 mikrobiyota arasında genel tür zenginliği (Şekil 1)'de gösterilmiştir (31).



Şekil 1: Tükürük, Dışkı, Deri ve mide sıvısının mikrobiyota arasındaki tür farklılıkları *(31)*.

Oral kavitede bulunan kulak altı tükürük bezi, *submandibular* ve *sublingual* tükürük bezlerinin salgı hızı ve tükürük kompozisyonu farklıdır. Tükürüğün yapısı, akış hızı ve pH gibi biyokimyasal özelliklerinin dışında, bezler mukozanın farklı alanlarında nemlilik ve kuruluk gibi mikrobiyal kolonizasyonunda son derece önemli olan çevresel faktörleri direkt etkileyebilmektedir (32). Tükürükte yaklaşık $1.4x10^8$ CFU/ml bakteri bulunmaktadır (28). Çoğunluk olarak da *Actinobacteria, Bacteroides, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes* ve *Saccharibacteri* filumları bulunmaktadır (26). Tükürük mikrobiyotası mikrobiyal içeriğinden zengin olduğu için çürük, periodontitis, ağız skuamöz, hücreli karsinom, pankreas kanseri gibi oral içi ve dışı sistemik hastalık durumunun teşhisinde çok önemli bir materyal olarak kullanılabilir (33).

2.2.1. Dişeti mikroflora

Sabit bir diş yüzeyine ve kararsız bir epitel yüzeyine sahiptir. Dişeti yarıkları derinleştikçe daha nötr ve anaerobik bir ortam yaratır. Bu mikroorganizmalar, *Fusobacterium,*

Eubacterium, Campylobacter, Prevotella ve *Porphyromonas* gibi asacharolitik / proteolitik ve anaerobiktir. Dişeti yarıkları, kan plazmasından türetilen ve aminoasitler, peptitler ve proteinler gibi azotlu bileşikler açısından zengin olan dişeti krevikular sıvısına sahiptir. Proteolitik organizmalar, bu azotlu bileşikleri daha sonra metabolik substratlar olarak kullanılan aminoasitlere ve peptitlere parçalamak için hücreye bağlı veya hücre dışı proteazlara sahiptir. Proteazlar, komplemanlara, immünoglobulin ve kan pıhtılaşma sistemine saldırarak konak dokuları ve konak savunma sistemini bozar. Kısa zincirli yağ asitleri (propiyonik asit, bütirik asit), aminoasitler ve sülfür bileşikleri (H_2S ve merkaptan) gibi metabolik son ürünler konakçı dokuya ve konakçı savunma sistemine zarar vermektedir (34).

2.3. Oral Mikrobiyota Elemanları

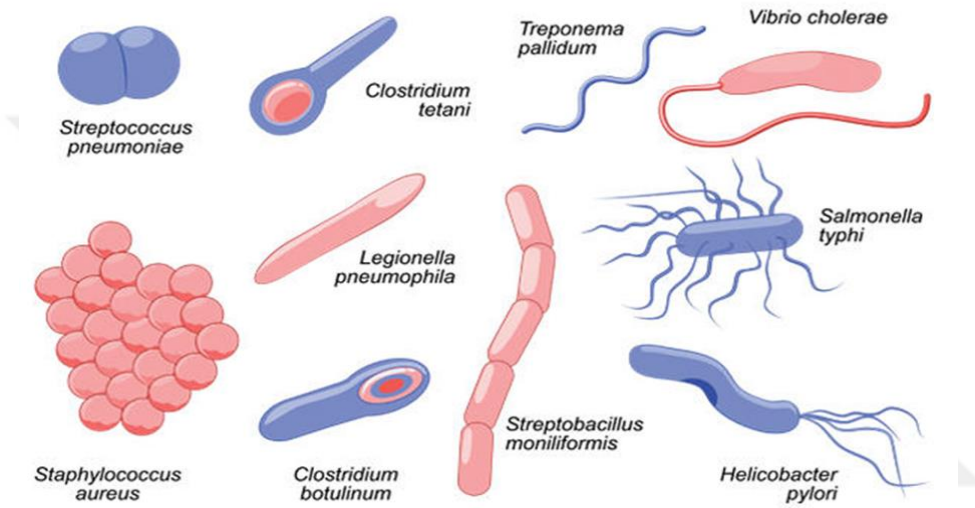
İnsan oral kavitesinin, toplam yüzey alanı 214.7 ± 12.9 cm^2'dir ve cinsiyete göre bir fark yoktur bu alan bakteri, arkeler, mantarlar ve virüslerin bulunduğu, içerik olarak insan vücudunun en zengin mikrobiyal yaşam alanlarından birini oluşturur (35). Ağız mikrobiyotası olarak bilinen bu ortamda resmi olarak tanımlanan 280'e yakın bakteri türü kültürde izole edilmiştir. Bakteriler, oral mikrobiyotadaki en yoğun taksonomik gruptur ve kolonizasyonu postpartum periyotta başlamaktadır (36).

Ağız bakterileri az miktarda aerobik mikrobiyolojik metodlarla kültüre edilebilir. Mikrobiyota maternal floradan farklılaşmaya başladığında ilk sırada izole edilen *Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria ve Spirochaetes* grublarıdır. Buna ek olarak Gram negatif anaerobik bakteri türlerinin sayısında da artış gözlenmektedir (37).

2.3.1. Bakteriler

Bakteriler tek hücreli mikroplardır. Hücre yapısı, çekirdeğe veya zara bağlı organellere sahip olmadığından diğer organizmalardan daha basittir. Bunun yerine, genetik bilgiyi içeren

kontrol merkezleri tek bir DNA döngüsünde bulunur. Bazı bakterilerin, plazmid adı verilen fazladan bir genetik malzeme çemberi vardır. Plazmid genellikle bakteriye diğer bakterilere göre bir miktar avantaj sağlayan genler içerir. Yani, bakteriyi belirli bir antibiyotiğe dirençli kılan bir gen içerebilir. Bakteriler temel şekillerine göre beş gruba ayrılır (Şekil 2) küresel (kok), çubuk (basil), spiral (spirilla), virgül (vibrios) veya tirbuşon (spiroketler). Tek hücreler, çiftler, zincirler veya kümeler halinde var olabilirler.



Şekil 2: Bakterilerin temel şekilleri *(38)*.

Ağız boşluğunda bulunan birkaç anaerobik bakteri örneği: *Bifidobacterium, Lactobacillus, Actinomyces, Propionibacterium, Treponema, Veillonella, Arachnia, Bacteroides, Eubacterium, Fusobacterium, Leptotrichia, Peptococcus, Peptostreptococas, Selto* türleri. *Streptococcus salivarius*, bebekler yeni mikroflora alır almaz kolonize olan ilk bakteri türleridir, bu mikroorganizmalar diş yüzeyinde ve diş etlerinde kolonize olur ve bunu *Streptococcus sanguinis* ve *Streptococcus mutans* kolonize eder. Bunlar dışındaki türler yumuşak dokulara yapışır fakat dişlere yapışmaz. Bakterilerin yanı sıra, ağız boşluğu, oral mikrobiyomu oluşturan büyük organizma popülasyonuna sahiptir. Bu geniş ve çeşitli mikrobiyal topluluklarda ayrı organizma türlerinin incelenmesi biraz zordur ve bu nedenle

bunları farklı bir şekilde incelemek için bir azaltma tekniği kullanılmaktadır. Oral mikrobiyotanın bol olduğu yerler interproksimal alanlar ve dişeti yarıklarıdır. Çukurlar ve çatlaklar en büyük mikrobiyal toplulukların bulunduğu yerlerdir (39).

2.3.2. Funguslar (Mayalar)

Mantarlar ökaryotik organizmalardır ve *Candida* cinsi ağız boşluğu için en önemli elemanlar olarak nitelendirilir. Ağız mikrobiyotasının az bir kısmını oluşturur ve mikobiyom olarak da adlandırılır. Oral yüzeyinde en çok *Candida* grubu mantarlar bulunmaktadır. Bazı oral hastalıklarına da sebep olan *C. albicans* ise bu grubun oral boşluğunda en yaygın bulunan elemanıdır. Doğumdan sonra oral *Candida* kolonizasyonu aşamalı bir biçimde çoğalır (40). Mantarlar Yaşlılarda ve hareketli protez kullanan bireylerde en yüksek miktarına ulaşmaktadır. Gıda ve sıvı tüketiminde güçlük yaratır. Yumuşak ve beyaz renkli plaklar şeklinde oral boşluğun her alanında görülebilmektedir. Çoğu zaman da dudakların birleşim noktasında kızarıklıklar ve yarıklarla birlikte ağız köşesi yaraları da eşlik eder. *Candida* grubu mantarlar, ağız bakteri florası ile sık etkileşimi ile ekosistemde önemli bir rol oynarlar. Genelde bu etkileşim simbiyotik bir ilişki şeklindedir. Öyle ki, bakterilerin mukoza kolonizasyonuna yardımcı oldukları görülür ve yerel bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı kısmi koruma görevi bulunmaktadır (41)

2.3.3. Arkeler

Mikroorganizmalar, yapı büyüklüğünde ve basitliğinde bakterilere benzer, ancak moleküler organizasyonda kökten farklıdır. Şimdi bakteriler ve ökaryotlar arasında ara olan eski bir grup oluşturduğuna inanılıyor. Arkeler hücresel yaşamın üç alanından biri Bakteriler ve Eukarya'nın yanı sıra *Euryarchaeota, Crenarchaeota, Korarchaeota* ve *Nanoarchaeota* olmak üzere dört ana bölümden oluşur. İnsan oral mikrobiyota esas olarak Bakteriler alanından

organizmalardan oluşurken, Arkeler alanının üyeleri belirgin bir şekilde yeterince temsil edilmemektedir (42).

Arkeler ise bakteriyel olmayan bir mikroorganizma grubudur ve sınırlı sayıda ağız içinde bulunur. İnsan vücudunda arkeler, bağırsak ve ağız florasında mevcuttur. Oral kavitesinde *Thermoplasmatales, Methanobrevibacter, Methanobacterium, Methanosarcina* ve *Methanosphaera* izole edilebilen arke gruplarıdır. Bu mikroorganizmaların sayıları periodontal ve endodontik lezyonlarda artış göstermektedir (43).

2.3.4. Virüsler

Ağız boşluğunda bulunan virüsler bakteriler için patojenik gen rezervuarları olarak düşünülmektedir. Bir organizma veya ekosistemdeki toplam virüs popülasyonunu ifade eden terim virom olarak adlandırılır. *Herpes Simplex* virüs (HSV) erken (1-2) yaşlarda ağız içine yerleşir ve uygun şartlarda ağrılı aftöz stomatitis tablosu oluştururlar. Bunlar dışında ağız boşluğunda izole edilen virüsler, *Sitomegalo* virüs (CMV), *Epstein Barr* virüs (EBV) ve *Papilloma* virüs (PMV) gibi farklı virüs gruplarının çeşitli ağız hastalıklarıyla ilişkili oldukları düşünülmektedir (44).

Virüsler, tek başlarına değil ancak ökaryotik (hayvanlar, bitkiler, protistler ve mantarlar) veya prokaryotik (bakteri ve arke) hücrelerinde bulundukları zaman çoğalırlar. Hücre dışı viryon partikülünün büyüklüğü 20 ila 300 nm arasında değişir ve koruyucu bir protein kılıfı olan kapsidinde bulunan DNA veya RNA'dan oluşur. Bazı virüsler, dış hücresel zardan, iç nükleer zardan veya enfekte olmuş hücrenin endoplazmik retikulum zarından türetilmiş bir lipit iki tabakasını içeren ek bir zarfa sahiptir. Taksonomik olarak virüsler, DNA veya RNA, tek sarmallı veya çift sarmallı nükleik asit ve zarflı veya zarfsız nükleokapsid varlığına göre sınıflandırılır (45). Ek taksonomik kriterler arasında replikasyon modu, konakçı tipi, kapsid şekli, immünolojik özellikler ve hastalık ilişkisi bulunmaktadır. İnsan ağız

boşluğunda çift sarmallı nükleik asitli olan büyük viral aileler *Herpesviruse, Papillomaviruse* yer alırkan tek sarmallı nükleik asitli olanlar *Picornaviruses, enteroviruses, Retroviruse, Coxsackievirus, Echovirus* virus aileleri yer almaktadır (46)

2.4. Oral Mikrobiyota ile Covid-19 Arasındaki İlişki

Aralık 2019'da Çin'in *Wuhan* kentinde açıklanan salgın pnömonisinin nedensel faktörü yeni bir koronavirüs olarak sınıflandırıldı. 11 Mart 2020'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO), en son koronavirüs olan Şiddetli Akut Solunum Sendromu korona Virus 2 (SARS-CoV-2) salgınının şu anda bilinen korona Virus Hastalığı (COVID-19) salgını olduğunu duyurdu. 20 Mayıs 2020'ye kadar teyit edilen vaka sayısı 4.789.205'tir ve 213 ülke veya bölgede 318.789'un üzerinde ölümle sonuçlanmıştır (47). SARS-CoV-2, öksürük, hapşırma ve damlacık soluma gibi doğrudan bulaşma ya da tükürük, burun ve gözlerin mukozası gibi temas yoluyla insandan insana bulaşmaktadır (48).

Tükürük, SARS-CoV-2 dahil olmak üzere birçok virüsü barındırabildiğinden, virüslerin tükürük yoluyla, özellikle de solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan bulaşma şansı bir diş hekimi muayenehanesinde kaçınılmazdır. COVID-19 salgınıyla mücadeledeki deneyime dayanarak, diş kliniğinde tükürük yoluyla hastalık bulaşmasını durdurmak doktorların ve hastaların güvenliği için hayati önem taşır. COVID-19 vakalarında tükürüğün analizi, patogenezi açıklamaya yardımcı olabilir çünkü epitel ağız boşluğu hücreleri, SARS-CoV-2'nin hücrelere girmesine izin vermede kritik bir rol oynayan Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2 (ACE2) reseptörünün geniş ifadesini göstermiştir (49). SARS-CoV-2'nin tükürükte ortaya çıkması için en az üç ayrı yolu vardır. Alt ve üst solunum yollarındaki SARS-CoV-2 sıvı damlacıkları ile birlikte ağız boşluğuna ulaşır; Kandaki SARS-CoV-2 dişeti yarık sıvısı yoluyla ağza girebilir ve tükürük bezinin büyük ve küçük enfeksiyonu, ardından parçacıkların tükürük kanalları yoluyla tükürüğe salınmasıyla ortaya çıkmaktadır (50).

Koronavirüsün diğer zincirlerinin, solunum yolu boyunca epitel hücrelerine streptokokal yapışmayı artırarak pnömoni gibi komplikasyonlara neden olduğu gösterilmiştir

(51). Bu nedenle yetersiz ağız hijyeni akciğerler ve ağız arasında bakteriler arası değişim riskini artırarak solunum yolu enfeksiyonları riskini ve potansiyel olarak viral sonrası bakteriyel komplikasyonları artırabilir (52). COVID-19 için belirlenmiş risk faktörleri (yaş, cinsiyet ve komorbiditeler) ayrıca oral mikrobiyomdaki dengesizliklerde de büyük ölçüde rol oynamaktadır. Diyabet, hipertansiyon ve kalp hastalığı daha fazla sayıda F. nükleatum, *P. intermedia* ve *P. gingivalis* ile ilişkilidir. Bunlar periodontal hastalığın ilerlemesine de sebep olurlar. Periodontal hastalığı olan hastalar%25 artmış kardiyovasküler hastalık riski, üç *kat diabetes mellitus* ve%20 artmış hipertansiyon riski altındadır.

COVID-19'dan artan komplikasyon ve ölüm riski ile ilişkili dört ana komorbidite, değişmiş oral biyofilmler ve periodontal hastalıkla da ilişkilidir. Bu nedenle ağız sağlığı ve COVID-19 komplikasyonları arasındaki bağlantı olduğunu gösterilmektedir. Periodontopatik bakteriler, sistemik enflamasyon, bakteriyemi, pnömoni ve hatta ölümle ilişkilendirilir. *Prevotella, Staphylococcus* ve *Fusobacterium* için yüksek okumaların keşfedildiği SARS-CoV-2 ile ciddi bir şekilde enfekte hastaların metagenomunda periodontopatik bakteriler de mevcuttur (53)**.** Ağız boşluğunun, ko-enfeksiyonlu COVID-19 hastalarında bulunanları indükleyen patojenler için doğal bir rezervuar olmasının muhtemel olduğunu göstermektedir. Metagenomik sıralama, COVID-19 hastalarının *Nazofarengeal* bakteri popülasyonunun viral enfeksiyonun süresi boyunca değiştiği görülmüştür. Örneğin, *Fusobacterium periodonticum* enfeksiyondan 3 gün sonra önemli ölçüde azaldığı bildirilmektedir (54).

2.5. Oral mikrobiyomun Etki Faktörleri

Ağız boşluğunda mikroorganizmaların büyümesini etkileyen faktörler sıcaklık, anaerobiyoz, pH, besinler, konak savunmaları, konak genetiği, antimikrobiyal ajanlar ve inhibitörler olmuştur. Bunun yanı sıra, Oral mikrobiyota bileşimini etkileyen faktörler arasında yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, sigara içme, ağız hijyeni, antibiyotik kullanımı ve muhtemelen genetik faktörler de bulunmaktadır (38, 55).

2.5.1. Antibiyotik kullanımı

Yapılan birçok çalışma sonuçları antibiyotik kullanımının çok önemli olduğunu göstermiştir. Özellikle yakın dönemde antibiyotik kullanımının oral mikrobiyota üzerinde ciddi etkileri vardır. Ayrıca, oral mikrobiyom fonksiyonlarının (mikrop metabolik aktivitesi, mikrobiyal gen ekspresyonu ve protein sentezi) antibiyotik tedavilerinin doğrudan bir sonucu olarak önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir (56). Bir antibiyotik uygulamasından sonra oral mikrobiyotamızın değişme derecesi, sadece belirli enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan antibiyotiğin kimyasal yapısına değil, aynı zamanda uygulama şekline, süresine, dozuna ve ayrıca her mikrobiyotanın direnç seviyesine de bağlıdır (57). Bağırsak mikrobiyotasının normal durumuna dönmesi 6 ay veya hatta 4 yıldan fazla sürebilir, bu da antibiyotiğin tipine ve dozuna bağlıdır. Buna ek olarak metformin, proton pompa inhibitörlerinin de oral mikrobiyota üzerinde etkisi bulunmaktadır (58)

2.5.2. Sigara içme alışkanlığı

Sigara duman, oral bakterilerle doğrudan temas eden birçok toksik maddenin büyük bir kaynağıdır; bu farklı toksik maddeler antibiyotik etkileri, oksijen yoksunluğu ve diğer potansiyel mekanizmalar yoluyla ağzın mikrobiyal ekolojisini bozabilirler (59). Sigara içme alışkanlığı, ağızdaki çeşitli zararlı değişikliklerle ilişkilidir. Son yapılan araştırmalarda, tütün dumanının toksikolojisi tükürük, oral kommensal bakteri ve mantarların yanı sıra, oral polimorfonükleer lökositler üzerindeki etkileri açıklanmaktadır. Sigara içmek, tükürük akış hızını arttırır, ancak plak bileşimini veya birikme hızını değiştirmez. Sigara içmenin, ağız boşluğunda anaerobiyozu arttırdığı ve oral lökositlerin aktivitesini bastırdığı görülmektedir. Ek olarak, tütün dumanı bileşenleri belirli mikrobiyota türleri üzerinde seçici bir zehirlenme etkisine sahip olmaktadır. Sigara içenlerde dişeti sıvısı eksüdası azalır, bunun sonucunda lökositlerin ve immünoglobulinlerin de taşınması azalmaktadır (60, 61).

Yapılan araştırmalara göre Proteobakteri filumunun nispi bolluğunun sigara içme durumuna göre önemli ölçüde farklılaştığını ve mevcut sigara içenler arasında Proteobakterilerin açık bir şekilde tükendiğini bulmuştur (62).

Çıkarılan metagenomların analizi, sigara içmenin, oral oksijen mevcudiyetini etkileyerek oral mikrobiyal ekolojiyi değiştirebileceğini, aynı zamanda ksenobiyotiklerin mikrobiyal bozunması için sonuçlara yol açabileceğini göstermiştir (63). Son olarak, eski sigara içicilerinin genel oral mikrobiyom bileşiminin hiç sigara içmeyenlerden farklı olmadığını gözlemlemiştir. Bu, oral mikrobiyomda sigara ile ilgili değişikliklerin kalıcı olmadığının umut verici bir göstergesidir. Sigarayla ilişkili diğer sağlık değişikliklerinde de görüldüğü gibi, sigarayı bırakmak, sağlıklı bir fenotipi eski haline getirmek için, en iyi uygulama olmaya devam etmektedir (64).

2.5.3. Alkollü içecekler

Kırmızı likör ve şarabın oral mikrobiyota üzerindeki etkisi farklıdır. Likör, *S. mutans* gibi Gram-pozitif bakterilerin konsantrasyonunda ve sayısında bir artışa yol açabilir (65). Oral bakteriler, etanolü bir toksin olan ve tanınan insan kanserojeni olan asetaldehite dönüştürür. Asetaldehit üretimi doğrudan sonuçlanabilir. Fermantasyon, damıtma veya olgunlaşma işlemlerinde üretilen özel safsızlıklar, kirleticiler, *N-nitrosodietilamin* ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar da oral ortamı değiştirir ve belirli türleri etkiler (66). Ancak, kırmızı şarabın düzenli ve orta derecede tüketimi etkilemez. İnsan tükürüğünün temsili bakteri gruplarının genel çeşitliliğini ve stabilitesini değiştirir. Ayrıca, kırmızı ve beyaz şaraplardaki organik asitlerin (süksinik, malik, laktik, tartarik, sitrik ve asetik asit) sentetik karışımları oral streptokoklara karşı aktiftir. Çürük gelişimi ve farenjitten sorumlu *Streptococcus pyogenes* bunlar orta derecededir. Kırmızı ve beyaz şarapların tüketimi ağız sağlığını artırabilirler (67).

2.5.4. Gebelik

Gebelikte oral mikrobiyota farklılıkları gözlenmiştir. Hamileliğin erken aşamalarında, hamile kadınlarda toplam üreyen mikrop sayısı önemli ölçüde artar. Örneğin, dişeti girintilerinde *P. gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomisetemcomitans'ın* bolluğu, hamile olmayan gruptan çok daha fazladır, oysa *Prevotella intermedia (P. intermedia)* ve *F. nucleatum* değişmemiştir. Hamileliğin 12 ile 28. haftalarından hiçbir değişiklik olmadan ancak geç hamilelik sırasında *Candida* türleri daha sık tespit edilmiştir (68).

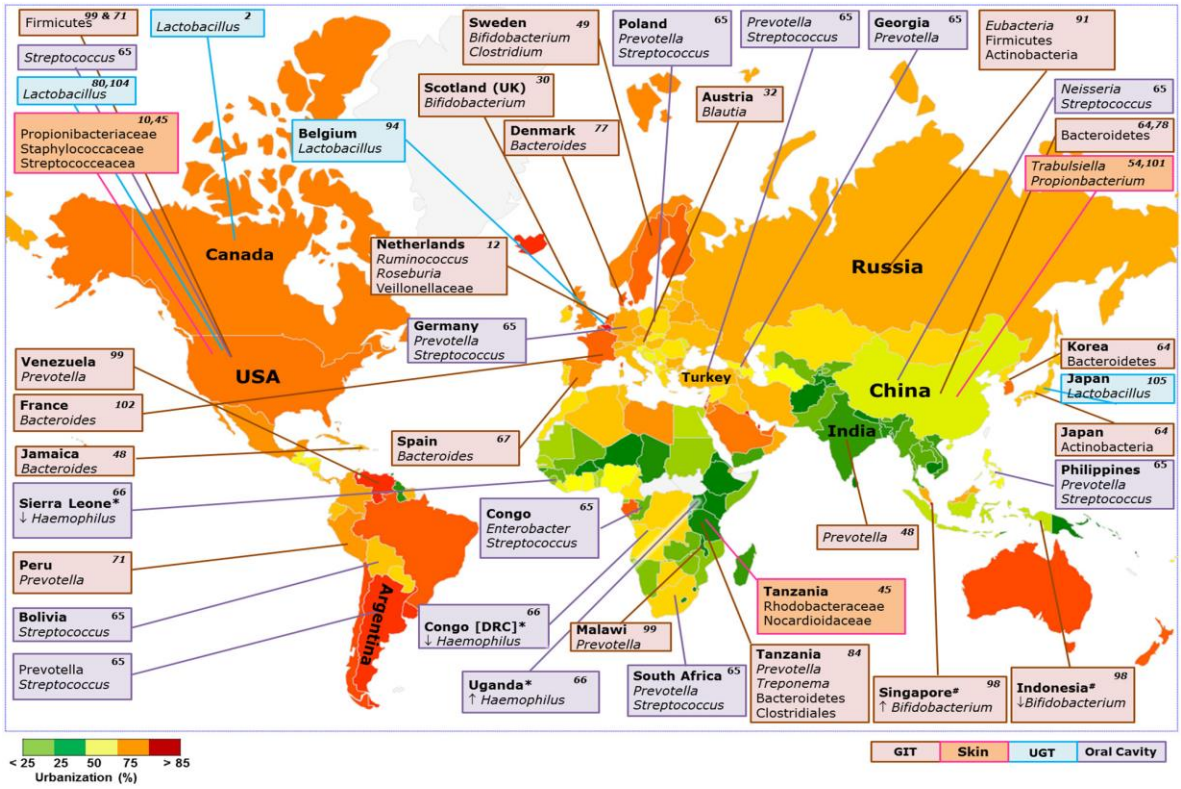
2.5.5. Sosyoekonomik durum

Ağız sağlığını etkileyen faktörler arasında, sosyoekonomik durum (SED) ihmal edilmemesi gereken önemli bir faktördür. Şu anda, SED'daki farklılıkların oral mikrobiyomun bileşimi üzerindeki etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Çalışmalar, bu farklılıkların tükürüğün bakteriyel profilleri tarafından yansıtıldığını bildirmektedir. *Megasphaera micronuciformis, Veillonella atypical, Veillonella parvula, Rothia mucilaginosa, Prevotella histicola, Fusobacterium periodontium, Granulicatella adiacens* ve *Tannerella forsythia* yüksek sosyoekonomik durum grubunda bol iken, *Aggregatibacter segnis II* az görülmektedir (69). Her ailenin SED'u, aile üyelerinin eğitim kazanımları, sağlık kavramları, hijyen alışkanlıkları, beslenme düzenleri ve tıbbi hizmetlerin seçenekleri belirler. Bu nedenle *Chu ve ark* oral mikrobiyomun SED nedeniyle zaman içinde önemli ölçüde değişebileceğini bildirmişlerdir (70).

2.5.6. Coğrafik konum değişimleri

Küresel olarak düşünürsek, insan mikrobiyom çalışmalarının kısmi olduğunu ve çoğunlukla ABD, Avrupa ve diğer sözde WEIRD ülkelerinden (Batı, Eğitimli, Sanayileşmiş, Zengin ve Demokratik Ülkeler) temsil edildiğini düşünürsek, bunlar genellikle kentsel nüfusu temsil eder (71). Yakın zamanda, çeşitli etnik popülasyonlarda insan mikrobiyomunun

karakterizasyonu için bazı ulusal ve uluslararası girişimlerde bulunulmuştur. Çeşitli ABD veya Batı dışı popülasyonlarda mikrobiyom yapılarını tanımlayan hızla büyüyen bir veri koleksiyonu mevcuttur. Bu çalışmalar, çeşitli ırk ve etnik köken kategorilerinde sağlıklı bireylerde mikrobiyom kompozisyonunda önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. (72).



Şekil 3: Dünyadaki çeşitli popülasyonlarda insan vücudunda bulunan mikroorganizmaların çeşitliliği *(73)*.

Li ve arkadaşları, tarafından yapılan bir çalışmada Alaska, Almanya ve Afrika'dan genetik olarak farklı popülasyonların tükürük mikrobiyomunun, tükürükteki mikrobiyota bileşimi için alfa ve beta çeşitliliğinde önemli ölçüde farklı olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, Mason ve arkadaşları, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan İspanyol olmayan zenciler ve beyazlar, Çinliler ve Latinler gibi büyük ırklardaki etnik gruplarda sağlıklı popülasyonlar arasındaki oral mikrobiyom kompozisyonunu karşılaştırdı, araştırma 77 jenerasyonun 33'ünün bu dört popülasyon arasındaki dağılımı açısından önemli ölçüde farklı olduğunu bulmuşlardır (74, 75).

İnsan mikrobiyom kompozisyonundaki etnik veya popülasyona özgü varyasyonlar hakkındaki raporlar, mikrobiyom temelli etkili stratejilerin evrenselliğini sorgulamakta ve mikrobiyom mühendisliğine coğrafi olarak uyarlanmış topluluk ölçeğinde yaklaşımlar için tavsiyelerde bulunmaktadır (73).

2.5.7. Yaş

Oral mikrobiyomu etkileyen faktörlerden biride farklı gruplarındaki bireylerde kolinize olan mikroorganizmaların değişkenlik gösterdiğidir. Yapılan çeşitli araştırmalarda, çocukluk, yaşlılık ve ağız hastalıklarındaki farklılıklar ortaya konularak gelecekteki çalışmalara veri oluşturmuştur (76, 77).

2.5.8. Cep telefonu kullanımı

Son birkaç yılda, cep telefonu kullanımında belirgin bir artış görülmüştür. Cep telefonunu fazla kullanılan kişilerin bedeni üzerindeki farklı zararlı etkilerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla, cep telefonu radyasyonunun insan oral mikrobiyomu üzerindeki etkisi hakkında hiçbir çalışma yapılmamıştır. Ancak mikrobiyomu etkileme olasılığı vardır (78). Dolaylı olarak, artan tükürük akış hızı ve artmış tükürük bezi hacmi ve azalan protein salgısı ile ilişkili olduğu için bir çalışmada, cep telefonu kullanıcılarında tükürük akışı, toplam protein, albümin ve amilaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bu ve benzeri çalışmalar cep telefonlarının aşırı kullanımının tükürük miktarını ve kalitesini dolayısıyla oral ortamı değiştirebileceğini göstermektedir (79, 80).

2.5.9. Diyet

Beslenme ve mikrobiyota ilişkisini belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışma insanların sıklıkla kullanılan hayvansal kaynaklı proteinlerin ve doymuş yağları uzun dönem tüketmesi *Bacteroides* grubu ile, karbonhidrat temelli diyetin ise *Prevotella* grubu ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bu çalışma diyet modifikasyonlarının mikrobiyotada

değişikliklere yol açabildiğini göstermiştir. Çalışma sonucu beslenme alışkanlıkları veya kısa süreli besin kısıtlamalarının vücut kitle indeksi ve mikrobiyota kompozisyonu arasındaki bağlantıda önemli bir parametre olarak düşünülmesi gerektiğini göstermektedir (81). Filipin yakınlarda yaşayan avcı, toplayıcıların ve geleneksel çiftçilerin üç çift popülasyonundan tükürükleri örneklemişlerdir. Sonuçlar, farklı topluluklar için diyette yapılan büyük geçişlerin ve modern oral patojenlerin ortaya çıkmasında muhtemelen rol oynadığı düşünülmüştür (82).

Avcı-toplayıcıdan çiftçiliğe geçişin, oral mikrobik toplumu hastalıkla ilişkili bir yapılandırmaya kaydırdığını göstermiştir. Modern oral mikrobiyotik ekosistemler, tarihi popülasyonlardan belirgin şekilde daha az çeşitlidir ve bu da post-endüstriyel yaşam tarzlarında kronik oral hastalığa katkıda bulunmuştur (83). Metropol Kuzey Amerikalı'nın mikrobiyomlarında bulunan mobil genleri, tek hücreli genomik ve metagenomiklerin bir kombinasyonunu kullanarak 172 tarım Fiji adalı ile karşılaştırmıştır. Fiji ve Kuzey Amerika mikrobiyomları arasında mobil gen içeriğinde büyük farklılıklar buldular. Bu sonuçlar bazı genlerin bolluğunun çevre seçimini yansıtabileceğini düşündürmektedir. Genomik, hastalıkların vb. Evrimini araştırmak için iyi korunmuş diş taşından antik oral mikrobiyomda birçok çalışma yer almıştır (84).

2.5.10. İmplant

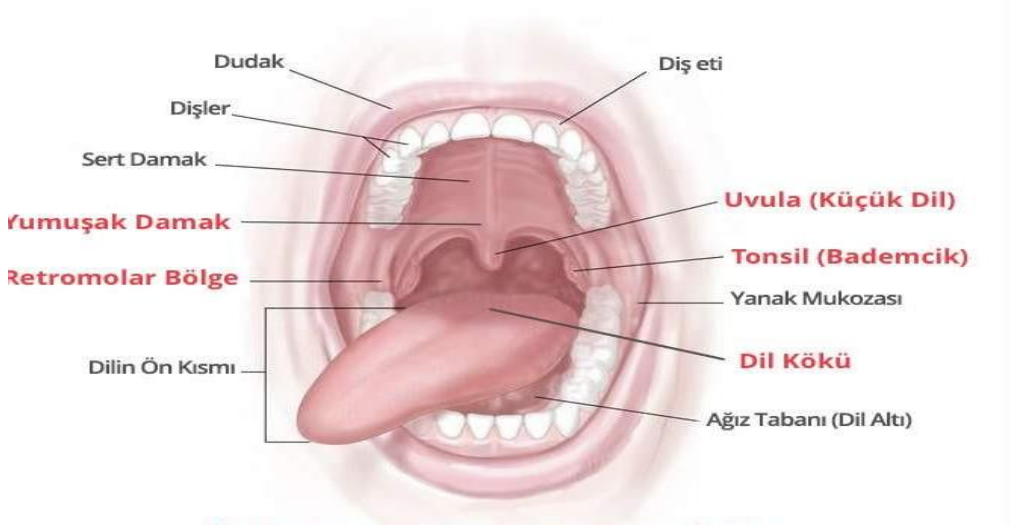
İmplant destekleyici dokuların iltihaplı tahribatı, implant yüzeyinde biyofilm oluşumunun bir sonucudur. Peri-implant enfektif hastalıkların yaygınlığı PIM için%80'e ve PI için%56'ya kadar olduğu bildirilmiştir (85). Hem doğal dişler hem de diş implant yüzeyleri ağız boşluğunda bakteriyel bir biyofilm barındırır. Diş plağın erken kolonizasyon ve olgunlaşma paterni birçok faktör tarafından kolaylaştırılır. Enfeksiyonlara duyarlılığı kolaylaştıran peri-implant doku morfolojisi ve yapısı eşlik eder. Konuyla ilgili oral mikrobiyomların inanılmaz çeşitlendirilmiş bir bileşimi, diş plakı biyofilminde yaşayan bakteriler arasındaki ilişkileri tam olarak anlamayı zorlaştırır. Bu nedenle, sunulan veriler

ışığında, PID'ler klasik anlamda bulaşıcı hastalıklar olarak görünmemektedir. Çünkü bunlar konağın duyarlılığının önemli bir rol oynadığı karmaşık bir etkileşimden kaynaklanmaktadır. Mikrobiyal çeşitlilik ve zenginlik değişmekle birlikte, son çalışmalar sağlık ve hastalıkta karakteristik bir yapıya sahip ortak bir mikrobiyota çekirdeği olabileceğini göstermiştir (86).

2.6. Ağız İçi Yapılar

Mikroskopik ve diğer teknolojilerdeki ilerlemelerle birlikte, mikroorganizma anlayışı gittikçe derinleşti. İnsan ağız boşluğu, dişler, dişeti yarıklar, dil, yanaklar, sert ve yumuşak damaklar ve bademcikler dahil olmak üzere bakteri tarafından kolonize edilen bir dizi farklı habitat içermektedir (Şekil 4). İnsan vücudunun dışını, sindirim sistemini ve solunum yolunu bağlayan bu boşluk mikroorganizmaların kolonizasyonu için uygun bir alan oluşturuyor. İnsan ağız boşluğunda bulunan mikroorganizmalar, oral mikroflora, oral mikrobiyota veya oral mikrobiyom olarak adlandırılmaktadır (87).

Ağız boşluğu insan vücudunda son derece çeşitli, dinamik, benzersiz bir ekosistem ve karakteristik bir özelliğe sahiptir. Ağız boşluğu, keratinize tabakalı skuamöz epitel (örn. damak) ile kaplanmış bir mukoza zarından ve keratinize olmayan bir epitelyumdan oluşmuştur. Oluklar ve oyuklar ise mikroorganizmaların gelişimini destekleyen ayrı ekolojik uygun yer oluşturur. Her bir oyuğun kendine özgü bir mikrobiyomu bulunmaktadır (88).



Şekil 4: Ağızın iç yapısı *(89).*

2.6.1. Dişler

Diş kelimesi Latince (dens-dentis) sözünden türetilmiştir. Oral kavitesi içinde üst ve alt çene kemiklerimizde *Temporomandibuler* eklem yapısı ile birbirine bağlanmıştır. İnsan dişleri dışarıdan bakıldığında her ne kadar cansız gibi görünse de tamamen canlıdır, hayat boyu değişimlere ve gelişimlere uğrayan organlardır. Çiğneme hareketleri ile gıdaları küçük parçacıklara ayırmak, sindirim sistemimizde bulunan diğer organların mide ve bağırsaklarımızın işini kolaylaştırmaktadır. Sindirim sisteminin başlangıcında; besinin parçalanması, ufalanması, koparılması, kesmesi ve kendini destekleyen dokuların korunması ve gelişmesine yardımcı olmak dişlerin en önemli görevlerinden sayılmaktadır. Sindirim sistemi hariç besinin yutulmasında, konuşmamızda ve yüz estetiğine katkıda bulunan son derece yararlı bir organımızdır (90). Dişlerin bölümleri taç, boyun, dişin kök kısmı ve diş pulpası dan oluşurken, Dişlerin sınıflandırılması ise kesici, köpek ve azı dişleri olarak ayrılmaktadır. Dişlerde büyük çoğunluğunu streptokok bakterileri, difteroidler, peptostreptokoklar, Veillonella sp, Bacteroides sp, Fusobakter sp, Neisseria sp, Vibrio sp. türleri bulunmaktadır.

2.6.2. Dil

Dil ağız içinde kaslı ve hareketli bir organ olmak üzeri Mukoza adı verilen nemli, pembe bir doku ile kaplıdır. Papilla adı verilen küçük çizgiler dile pürüzlü bir doku kazandırır. Binlerce tat tomurcuğu papillaların yüzeylerini kaplar. Tat tomurcukları, beyne giden sinirlere bağlanan sinir benzeri hücre topluluklarıdır. Dil, sert doku ve mukoza ağları ile ağızda sabitlenir. Dilin önünü tutan bağlamaya frenum denir. Ağzın arkasında dil hyoid kemiğ ile sabitlenir. Dil, yeme, çiğneme, ağız temizleme ve yutma görevine ek olarak konuşma için de hayati önem taşır. Dilin dört ana tadı ise, tatlı, ekşi, acı ve tuzludur. Umami adı verilen beşinci bir tat, glutamat tadımından kaynaklanır. Dilin, tat sinyallerini beyne tespit etmeye ve iletmeye yardımcı olan birçok sinir vardır. Bu nedenle, dilin tüm parçaları bu dört ortak tadı tespit edebilir (91). Dil kısmen ağız boşluğunda ve kısmen farinkse yerleşen bir organdır. Dil hem iskelet yapılarına (mandibula, oshyoideum ve os temporale'nin processus styloideus'u) hem de yumuşak yapılara (palatum molle ve pharynx duvarı) bağlanır. Dilde bulunan bakteri türleri ise; streptokoklar, Veillonella sp, difteroidler, stafilokok, Fusobacterium sp. ve Vibrio sp. türleridir (92).

2.6.3. Tonsillar (Bademcikler)

Ağız boşluğunda dört ana bademcik grubu mevcuttur; palatin, lingual, faringeal ve tubal bademcikleri. Ek olarak bu dört ana grubu dışında Ektopik bademcik te yer almaktadır. Saldırılara ilk immünolojik bariyeri sağlayarak solunan veya yutulan patojenlere karşı önemli bir savunma görevi görürler (93). Palatin veya faucial bademcikler yanal orofarenkstedir. Ön tarafta palatoglossal ark ile palatine kemerler veya sütunlar olarak bilinen palatofaringeal ark arasında bulunurlar. Bademcikler lenfatik dokudan oluşur ve adenoidler (nazofaringeal tonsil), tubal tonsil ve lingual tonsil ile birlikte Waldeyer halkasının bir bileşenidir. Tonsillerde Çoğunlukla beta hemolitik streptokok, Alfa hemolitik streptokoklar, Staphylococcus aureus, koagülaz negatif stafilokok (KNS), Non-hemolitik streptokok, Pseudomonas sp, E. coli, Enterobakter sp. gibi bakteriler bulunabilmektedir (94).

2.6.4. Ağız ve dişeti mukozası

Bukkal mukoza tümörleri genellikle yan duvardan gelişirken, diş eti tümörleri molar ve premolar bölgelerde dişlerin dişeti kenarından gelişir. Bu tümörler submukozal yayılım, kemik, RMT ve PMR tutulumu ve lenfatik metastaz yönünden değerlendirilmelidir. Bu bölge, alt çenede bulunan diş yapılarını çevrelediği ve çiğneme sırasında kullanılan kasları içerdiği için diş hekimleri ve ağız cerrahları tarafından iyi bilinmektedir. Aynı zamanda, yanak yağ yastığı adı verilen kasların arasında, sinirler, kan damarları ve lenf bezleri arasında bir yağ yastığı içermektedir (95, 96).

2.6.5. Tükürük bezleri

Tükürük farklı sayıdaki protein, glikoprotein, enzim, elektrolit ve küçük organik moleküllerden oluşmuştur. Tükürük üretimi tükürük bezlerinde yer alan muskarinik reseptörlerin kolinerjik uyarısıyla oluşmaktadır. Sağlıklı bir kişi günde 1,5 litre, yaklaşık olarak dakikada 0,4cc tükürük üretmektedir. Normal şartlarda tükürük yaklaşık olarak dakikada 2ml'dir. Ancak, tükürük bezleri uyarıldığı zaman 5 kat fazla tükürük üretilebilme kapasitesine sahiptir. Tükürük çıkışının %90'ını üretilen, Parotis, submandibuler ve sublingual üç büyük bezlerinden sayılmaktadır (97). Parotis glandı, üç ana tükürük bezinin en büyüğüdür. Yerinde yüzeyseldir ve derin servikal fasyanın yüzeysel tabakası ile çevrelenir ve burada uygun şekilde adlandırılmış parotis boşluğunu oluşturur. Küçük tükürük bezi dokusu aerodinamik kanal boyunca herhangi bir yerde bulunabilse de en çok bukkal mukoza, labial mukoza, lingual mukoza, yumuşak / sert damak ve ağız tabanı boyunca yoğunlaşmaktadır (98).

2.6.6. Dudaklar

Üst ve alt dudaklar sırasıyla labium superius oris ve labium inferius oris olarak bilinir. Hem üst hem de alt dudak mukozal membran, vermilyon ve kutanöz yüzeyler içerir. Üst ve alt dudaklar, komissür olarak adlandırılan ağız açısında kesişir. Bu, dudak hareketine dahil olan birkaç kasın bağlandığı noktadır (99, 100).

Dudaklar ağız boşluğunu çevreler ve çiğneme, yüz ifadesi, fonasyon, dokunma hissi ve yakınlıkta hayati bir rol oynar. Dudaklar, yiyecekleri ağız içinde tutarak ve sıvıların ağız boşluğundan dışarı dökülmesini önleyen hava geçirmez bir mühür oluşturarak yemeye yardımcı olur. Dudaklar ayrıca ıslık çalmak ve üflemeli çalgıların çalınması için de gereklidir. Dudakların büyük derecede hareketliliği, gülümsemek ve kaşlarını çatmak gibi duygusal ifadeyi mümkün kılan önemli hareketlere izin verir. Ek olarak, dudaklar cinsel çekiciliğe aracılık eder, iyi bilinen bir erojen bölgedir ve öpüşme eylemleri sırasında kullanılır (101, 102).

2.7. Ağız Ekolojisi

Diyet, ağız hijyeni, ilaçlar, sigara içimi, sistemik enfeksiyonlar, coğrafi ve iklim koşulları gibi diğer bazı ana faktörler de mikrobiyal kaymayı teşvik edebilir (103). Ağız determinantlar anlam olarak ağız içinde bakterilerin barındırılıp barındırılmayacağını ortam koşulları ifade eder. Çok sayıda besin artıkları, salya proteinleri, ağız hijyen, oksijen kosantrasiyon ve ölü hücreler gibi ağızın besin kaynaklı, ağzın biyolojik koşullu ve kaynak savunmalı ağız ekolojik determeninantları mevcuttur. pH ağızın önemli ekolojik bir determinantıdır. Ağız ve çevresi oral mikroorganizmalara koşullar sunulan bir biyosistem oluşturuyor. Örnek olarak *Basilus* cinsi bakteriler bol miktar oksijene ihtiyacı olduğundan dolayı ağız florasında bulunmamaktadır, aksine Laktobasil, Steptokok, Mikobakteri ve Bakteroides gibi bazı mikroorganizmalar düşük oksijen konsantrasiyone sahip olan bölgeleri tercih ederler, bu yüzden oksijen konsantrasiyonu değiştiği zaman ağız içindeki bakteri listesi de değişiyor. Ağız florasının profili ağız hijyene bağlı olarak değişiyor, eğer diş fırçalanması alışkanlık haline getirilmiş ise ağız florasındaki bakterilerin azalmasına sebep oluyor aksi taktirde hijyeni az olan ağızlarda ağız florasında hem bakteri sayısı hem de çeşitliği normalden fazla oluyor (104).

Bir diğer determinant ise; ağız içi pH değeridir. Ağız içi pH değeri 5-8,5 arası değişmektedir. Örnek olarak laktobasil, streptokok, bakteroides gibi türler düşük pH tercih

ederken; spiroket ve vibrio türleri yüksek pH'da üremeyi tercih eder. Bir diğer determinant olan sıcaklık da bakterilerin florasını etkilemektedir. Ağız boşluğu bakterilerin üremeleri için gerekli olan 35-36 ^{o}C sıcaklığı sağladığı için birçok türden bakterinin çoğalmasına elverişli bir ortamdır. Kötü ağız hijyeni ve diş eti iltihabı ile ilişkili yüksek seviyelerde nöraminidaz ve proteazların, yıkıcı periodontal hastalıklarla ilişkili bazı Gram-negatif bakterilerin kolonizasyonunu destekleyen kriptitoplar üretebileceğini gösteren kanıtlar vardır. Bu enzimler aynı zamanda *S. mitis* ve *S. sanguis* gibi nispeten yararlı türlerin bağlanması için gerekli reseptörleri yok eder. Dolayısıyla, ağız hijyeni zayıf olan bireylerin kreviküler sıvı ve tükürükte daha önce bildirilen yüksek enzim seviyelerinin bakteri kolonizasyonunu düzenleme potansiyeli olduğu görülmektedir (105).

2.8.Tükürük

Tükürük, insanın biyolojik sıvısı olmakla birlikte renksiz opak yoğunluğu 1 ml de 1003-1009 gram olarak gösterilmiştir. Az salgılama oranlarında hipotonik iken çok salgılanma oranlarında izotoniktir. Viskozitesi 19-35 aralığında değişir, pH'ı ortalama 6.4-6.9 arasında olan tükürük yaklaşık olarak %99.5'i sudur ve kalan kısmı organik ve inorganik maddelerden oluşmuştur. Tükürük küçük salgılama bezler haricinde temel olarak üç çift ana bezlerden salgılanır (106). Tükürük içerisinde bakterilerin tutunmasını sağlayan moleküller de içerdiğinden bakterileri ortamdan uzaklaştırabilir. Tükürüğün içinde bulunan tüm antimikrobiyal maddelere inhibin adı verilir. Örneğin tükürükte var olan zidin, Corynebacterium diphteriae'nin ağız içinde tutunmasının engellemektedir. Bir diğer inhibin madde ise lizozimlerdir (107).

Ağız dokularının yüzeyleri ve biyofilmleri sürekli tükürük ile temas halindedir. Tükürük mikrobiyotası biyofilmin oral dokunun yüzeyine dökülmesinden kaynaklanır. Bu nedenlerden dolayı, tükürüğün mikrobik profili, yumuşak doku kolonizasyonuna

benzemektedir. Biyobelirteç olarak kullanılabilen tükürük mikrobiyotası bazı sistemik ve oral hastalıklarda iyi sonuçlar verebilmektedir (108).

Tükürük genellikle birçok cinayet, saldırı ve diğer ceza davalarında bulunan ısırık izlerinde birikir. Deriden, kıyafetlerden, kâğıttan veya diğer cansız nesnelerden tükürük lekeleri toplamak zordur, çünkü tükürüğün biriktiği substrat, özellikle deri, doğrudan çıkartma prosedürlerine gönderilemez (109).

Adli bilimlerde kullanılan ve tükürük leke alanının tarama ve belirlenmesinde en yaygın kullanılan test yöntemi *Phadebas*'tir. Bu yöntem tükürükte var olan sindirim bileşeni amilaza tepki verecek şekilde tasarlanmış olup ve bu mekanizma ile çalışan bir tarama testidir. Kuru tükürük renksiz olduğundan dolayı açık gözle görülmemektedir *Vandenberg* ve arkadaşları tarafından nispeten güvenli, noninvaziv zararı olmayan ayrıca adli çalışmalarda kullanmak için uygun 'polilight ışık kaynağı' yöntemin kullanması ile bu lekeleri görünür hala getirmiştirler (12).

2.8.1. Kurutulmuş tükürük lekelerinin tespit yöntemleri

Tükürük, insanlarda salgılanan hayati sıvılardan biridir. Isırma, emme veya yalama sırasında önemli miktarda tükürük deride birikir. Kriminal ve adli kanıtlarda önemli bir kaynak oluşturuyor (110). Kurutulmuş tükürük lekelerini tespit etmek için çeşitli kimyasallar ve enzimler denenmiştir. Pul ve zarflardan tükürük tespiti, şekerlerin azaltılmasına etki eden ve kırmızı çözünmeyen bir çökelti veren kimyasal tarafından yapılmıştır. En yaygın kullanılan enzimler alkalin fosfataz, nişasta ve amilazdır. Tespit için nitrat ve tiyosiyanat gibi tuzlar da kullanılmıştır. Bunun yanı sıra Lazerler ve ultraviyole ışık, kuvars kemer tüpü ve argon iyon lazeri de mevcuttur tükürük amilazındaki aromatik amino asit, triptofan, floresan spektroskopisi üzerinde karakteristik bir emisyon spektrumu verir. Böylece ciltte kurutulmuş tükürük lekelerinin saptanmasında iyi bir hassasiyete sahiptir. Tüm bu yöntemlerin tükürük

lekesinin yaşına ve birikim miktarına bağlı olarak sınırlamaları ve değişken duyarlılıkları bilinmektedir (109).

2.9. Adli Bilimlerde Kimliklendirme ve Önemi

Delil kavramı, yol gösteren, kılavuz, belge, şahit anlamına gelen Arapça kökenli bir kelimedir. Türkçe sözlüğünde, delil sözcüğü üç ayrı anlam taşımaktadır. Birincisi, insanı aradığı gerçeğe ulaştırabilecek iz, kanıt ikincisi, hukukta kanıt olarak ve en son eski dilde ise kılavuz veya rehber olarak isimlendirilmiştir (111).

Suç ve suçlu kavramları, hemen hemen insan topluluklarının oluşturulmasıyla eşdeğer zamanlarda ortaya çıkmıştır. Bu kavramları ile birlikte ise, ceza muhakemesi hukuku kuralları ile delil araştırması belirginleşmeye başlamıştır. Delillerin toplanması, analiz edilmesi ve sonuçların muhakemeye sunulması, suçluların ortaya çıkarılabilmesi için adli bilimlerin en önemli alanı olmuşlar (112).

Bir kişinin tanınmasında veya tanımlanmasında ve diğer insanlardan ayırt edip etkin olan tüm özelliklere kimlik adı verilir. Ölü ya da yaşayan bir kişinin bu özelliklerinin ortaya konulmasına ise kimlik tespiti denmektedir. Olayla ilgisi olan her kişinin birçok nedenden ötürü hem canlıda hem de ölüde kimlik tespitini yapmak gereklidir. Kimlik tespiti, Adli bilimlerin en esas konularından birini oluşturmaktadır. Adli tıpta incelenmesi gereken ölü ya da canlı kişide yapılan bütün işlemlere öncelikle kimlik tespiti ile başlanmaktadır (113).

Adli tıp ve hukuk uygulamaları açısından iki tür (adli ve tıbbi) kimliklendirme yer almaktadır. Bir şahsın nüfus kayıtlarındaki bilgilerin tümü olanak kimliktir. Cinsiyet, doğum yeri, yılı, anne, baba ve kardeşler gibi özellikler ile ilgili bilgiler başlıca öğeleridir. Kişiye ait fotoğrafı da içeren nüfus cüzdanı, sürücü ehliyeti ve pasaport gibi bilgiler genellikle belge üzerinde gösterilebilir bu tür kimliklendirme adli kimliklendirme olarak adlandırılır. İkincisi, kişinin görüntüsünün fotoğraf gibi tanımlanması yani vücudun tüm özelliklerinin birlikte değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan bilgilerin bütünüdür. Cinsiyet, vücut ağırlığı, boy, cilt rengi, göz rengi, saç rengi, yüz özellikleri (kulak, burun, ağız, bıyık, kaş, kirpik saç, sakal gibi).

Ayrıca dişlerin sayısı ve özellikleri, varsa ameliyat izi, yara, yanık izleri skatrisi, deri üzerindeki benler, lekeleri, dövmeler. Ek olarak, erkek ise sünnet olup olmaması, kadın ise kızlık zarının olup olmaması, doğum bulguları, ekstremite özellikleri kısalık, fazlalık ve eksiklik gibi anomaliler tıbbi kimliğin tanımlanmasında ayrıntılı olarak incelenmesi gereken fiziksel özelliklerdir (114).

3. Gereç ve Yöntem

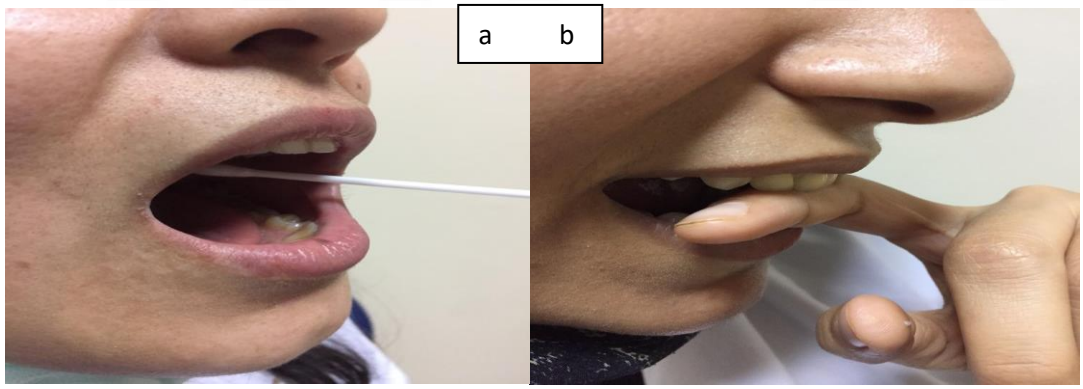
3.1.Çalışmanın Yapıldığı Yer ve Süreç

Yaptığımız bu çalışma İstanbul üniversitesi Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Mikrobiyoloji laboratuvarı ve Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Tez çalışmamızda hedefler ve ihtiyaç duyulan gereç ve malzemeler belirlenerek gerekli olan etik kurulu izni alınmıştır (Ek-1). Çalışmamızın ilk materyal alımı 3 Ağustos 2020'de başladı, Teknik ve Laboratuvar uygulamaları ise 25 Ekim 2020 tarihinde tamamlanmıştır.

3.2.Materyal Alımı

Bu çalışmanın örnekleri, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi çalışanları, hasta yakınları ve öğrencilerden gönüllü olarak toplanmış olup tüm gönüllüler hazırladığımız anket formunu (Ek-2) doldurmasının yanı sıra bilgilendirilmiş gönüllü onam formuna imza atarak çalışmamıza dahil olmuştur (Ek-3).

İlk önce katılan her bir bireyin ağızlarından, daha sonra bireylerden sağ el işaret parmağını beş saniye ısırmaları istenerek svaplar alındı (Şekil 5).



Şekil 5: Ağızdan ve parmaktan alınan biyolojik örnekler (a, b)

3.3. Materyal Özellikleri

Çalışmamıza 12 erkek ve 18 kadından oluşan 30 farklı birey katılmıştır. Gönüllü olarak katılan bu kişilerin ağzından svap numunesi alındı. Daha sonra sağ el işaret parmağını 5sn ısırması istendi, ısırılmış olan parmaktan bir svap daha alınarak iki farklı modül materyalleri alınmıştır. Herhangi bir kontaminasiyon önlemek amacıyla svaplar steril kaplar içeresine

yerleştirildi. Soğuk zincir metodu uygulanarak laboratuvar ortamına transfer edildi. Etiketleme işlemi ise her bir örnek için ayrı ayrı ait oldukları kişinin ismi svap alındığı tarih ve kişinin kod numarası olarak işlem yapıldı. Tüm gönüllülerden alınan svaplar belli zaman aralıklarında oldu. Çalışmaya katılan kişilerin yaş ve cinsiyet dağılımları, sigara tüketim bilgileri, kronik hastalığı, oral implant varlığı ve gün içeresinde diş fırçalama sıklığı gibi önemli koşullar belirlenmiştir (Tablo I).

Tablo I: Çalışma grubuna ait özellikler

Örnek No	Yaş	Cinsiyet	Sigara kullanımı	Kronik Hastalık	Oral implant	Günlük Diş Fırçalama
1 Örnek	23	K	-	Yok	-	2
2 Örnek	39	K	-	Hipotiroidi	-	2
3 Örnek	46	K	-	Diabet	-	2
4 Örnek	48	E	+	Yok	-	1
5 Örnek	41	K	-	Yok	-	1
6 Örnek	35	K	-	Yok	-	1
7 Örnek	39	K	+	Yok	-	2
8 Örnek	37	K	-	Yok	-	0
9 Örnek	53	E	+	Yok	-	2
10 Örnek	61	K	-	Diabet	3	2
11 Örnek	44	E	-	Yok	1	3
12 Örnek	11	E	-	Yok	-	1
13 Örnek	41	K	+	Yok	-	2
14 Örnek	54	K	+	Alerjik astım	1	1
15 Örnek	34	E	-	Uyku apnesi	-	0
16 Örnek	24	K	-	Yok	-	2
17 Örnek	38	K	-	Yok	-	2
18 Örnek	35	K	+	Soliter böbrek	-	1
19 Örnek	35	K	-	Yok	-	1
20 Örnek	10	E	-	Alerjik astım	-	1
21 Örnek	35	E	-	Yok	-	1
22 Örnek	34	E	+	Yok	-	1
23 Örnek	37	K	-	Kronik gastrit	-	1
24 Örnek	24	E	-	Yok	-	1
25 Örnek	40	K	-	Yok	-	1
26 Örnek	39	E	-	Yok	-	2
27 Örnek	34	E	+	Yok	-	2
28 Örnek	11	E	-	Yok	-	1
29 Örnek	30	K	-	Hipotriroidi	-	2
30 Örnek	27	K	-	Yok	-	1

3.4.Kullanılan Sarf, Kimyasal ve Cihazlar

- Svap (Slab L6685)
- Etüv (Thermo)
- Distile su (Aqua)
- Chrom agar toz besiyeri (Merck)
- Kanlı agar toz besiyeri (Merck)
- Defibrine koyun kanı (Becton Dickinson)
- Triptik soy agar besiyeri (Merck)
- MacConkey agar (Merck)
- Kristal viyolet (Merck)
- Lügol çözeltisi (Merck)
- Etil alkol (Merck)
- Formik asit (Merck)
- Asetonitril (Merck)
- MALDI BioTyper (Bruker microflex)
- Hidrojen peroksit (Aqua)
- Serum fizyolojik (Gifrer)
- Barzit VP ayıracı (Rokim)
- Potasyum hidroksit çözeltisi (Merck)
- Simmons sitrat tüpü (TıpKimSan)
- Balon joje (Isolab)
- Lam (Isolab)
- Öze (Isolab)
- İğne (Isolab)
- Pastör pipeti (Krnkmy)
- Steril petri (Fıratmed)

- Pipet uçları (Gilson)
- Eppendorf (TubeOne)
- Bek alevi (Isolab)
- Otoklav (Nüve)
- Binoküler mikroskop (Olympus)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Su banyosu (Isolab)
- Santrifüj (Hettich Universal 320)
- Hassas tartı (Radwag)
- -20°C Derin dondurucu (Arçelik)
- 2-8°C Buzdolabı (Vestel)

3.5.Metodun Uygulanması

3.5.1. Besiyeri hazırlaması

3.5.1.1.Kanlı agar

Kanlı Agar, dehidre besiyeri 40 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartılıp hazırlandı. Isıtılarak 1 lt distile su ile balon joje içerisindeki toz besiyeri tamamladık. Çalkaladıktan sonra su ile toz besiyerin iyice çözülmesi sağlandı. Besiyerin çeşidi, hazırlama tarihi, hacim miktarı olarak balon jojenin üzerinde etiketler yapıştırıldı. Daha sonra balon jojenin ağzı tıkaç ile dikkatlice kapatılıp sterilizasyon işlemi için otoklav cihazına yerleştirdik. Sterilizasyon işlemini otoklav cihazında 121°C'de, bir atm basınç ayarlanarak 15 dakikalık süre içinde bekletildi. Daha sonra otoklavdan çıkan karışım halindeki besiyeri 50°C 'da soğuması için bekletildi. Besiyere %5 oranında Defibrine koyun kanı ilave edilerek karıştırıldı.

Elde edilen hazır besiyeri, alev yanında Petri kutularına döküldü. En son besiyeri soğuması için petri kutularıyla +4°C 'da buzdolabına yerleştirerek ekim işlemi için hazır hale geldi. Yapılan katı besiyeri mikrobiyolojik analizlerde, mikroorganizmaların geliştirilmesi ve hemoliz reaksiyonlarının belirlenmesi için tercih edilmiştir.

3.5.1.2.Chrom agar

Ticari olarak hazır satılan Chrom agar toz besiyeri 1 lt saflaştırılmış su içinde 47,7 g toz baz yavaşça dağıtıldı. Toz besiyeri saflaştırılmış su ile iyice çalkalanarak çözülmesi sağlandı. Karışım bir mikrodalga fırınında düzenli olarak karıştırılarak 100°C'da ısıtılıp kaynatıldı. İlk kaynatma işleminden sonra, köpürmeleri önlemek için birkaç kez fırından çıkartılıp hafifçe vurularak tekrar fırına yerleştirildi. Sterilizasyon işlemi için basınç uygulamadan otoklava alındı. Daha sonra, hafifçe karıştırarak su banyosunda 45-50°C'de soğutuldu.

Hazır hale gelen besiyeri petri kutularına yerleştirildi. Katılaşmasına ve kurumasına izin vererek kullanmadan önce karanlıkta saklandı. Chrom agar çeşitli mikroorganizmaların izolasyonuna izin veren ve kolonilerini tanımlayan yeni bir diferansiyel kültür besiyeri olduğu için tercih edilmiştir.

3.5.1.3.Çikolatalı agar

Toz halinde hazır ticari olarak satılan trioptik soy agar besiyeri öncelikle hassas tartıda tartılarak 1 lt distile su için 40 g/L olacak şekilde hazırladı. Toz besiyeri balon joje içerisine döküldükten sonra üzerine 1 lt saflaştırılmış su eklendi. İyice çalkalandıktan sonra balon joje içeresindeki trioptik soy agar tozu distile su içinde çözülmesi sağlandı. Besiyerin çeşidi, hazırlama tarihi, hacim miktarı olarak balon jojenin üzerinde etiketler yapıştırılıp etiketleme işlemi yapıldı.

Daha sonra balon jojenin ağzı tıkaç ile dikkatlice kapatılıp sterilizasyon işlemi için otoklav cihazına yerleştirdik. Sterilizasiyon işlemini otoklav cihazında 121°C'de, bir atm basınç ayarlayarak 15 dakikalık süre içinde bekletildi. Daha sonra otoklavdan çıkan karışım halindeki besiyeri 50°C 'da soğuması için bekletildi. Besiyere %5 oranında defibrine koyun kanı ilave edilerek koyu çikolata şeklini alıncaya dek karıştırıldı.

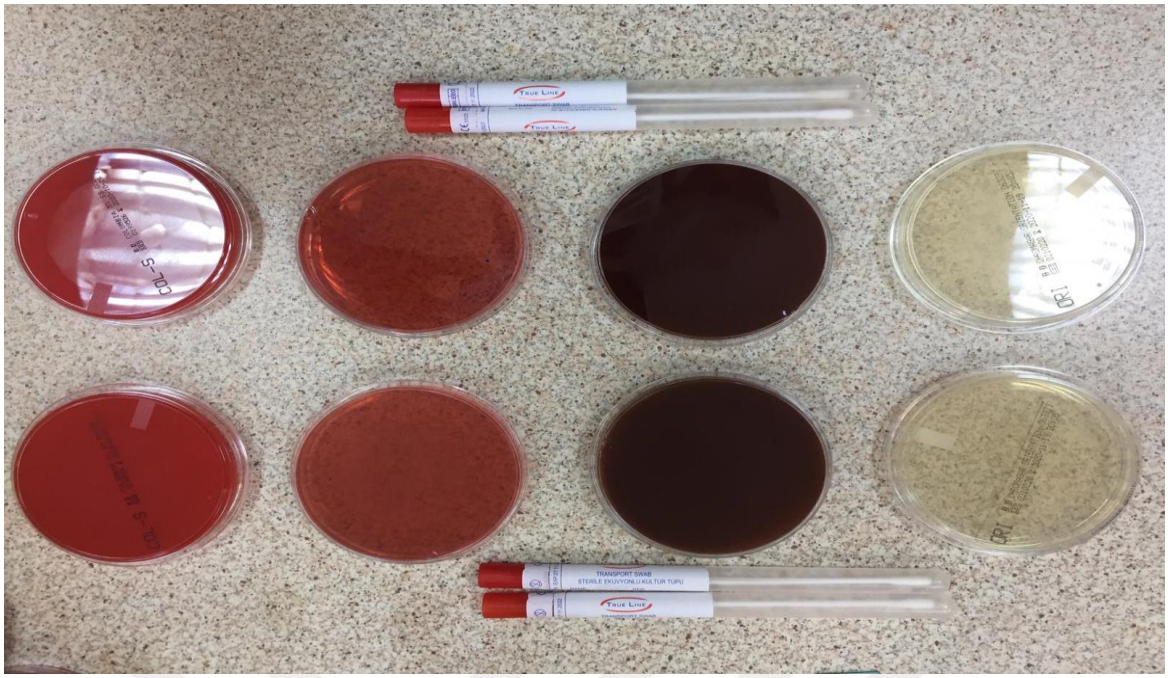
Elde edilen hazır besiyeri, alev yanında Petri kutularına 12,5 ml olarak ölçülüp döküldü. En son besiyeri soguması için petri kutuları +4°C 'da buzdolabına yerleştirilerek ekim

işlemi için hazır hale geldi. Mantar ve küflerin üremesi için, dermofitlerin izolasyonunda kullanılan katı besiyeridir. Chocolatalı Agar, çeşitli klinik örneklerinden gelen seçmesi zor olan mikroorganizmaların, özellikle *Neisseria* ve *Haemophilus* türlerinin izolasyonu ve gelişimi için kullanılan, seçici olmayan besiyeri olduğu için tercih edilmiştir.

3.5.1.4.MacConkey agar

Canlı hücreler üzerinde standart mikrobiyolojik analizlerde koliform grubu bakterilerin ve özellikle *E. coli'nin* kültürlenmesi için seçici katı besiyeri olarak kullanılır. Bu grup bakteriler için hazırlanmış besiyerleri içinde seçiciliği en düşük olanlar arasındadır. MacConkey agar, üremesi zor olan Gram-negatif çubukların, özellikle de *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri izolasyonu ve farklılaşması için kullanılan seçici ve diferansiyel bir besiyeridir.

Toz halinde hazır ticari olarak satılan trioptik soy agar besiyeri öncelikle hassas terazide tartılarak 1 lt distile su için 49.53 g/L olacak şekilde hazırlandı. Toz besiyeri balon joje içerisine döküldükten sonra üzerine 1 lt damıtılmış su eklendi. İyice çalkalandıktan sonra balon joje içeresindeki MacConkey agar tozu damıttık ve su içinde tamamen çözünmesi için kaynatıldı. Besiyerin çeşidi, hazırlama tarihi, hacim miktarı olarak balon jojenin üzerinde etiketler yapıştırılıp etiketleme işlemi yapıldı. Daha sonra balon jojenin ağzı tıkaç ile dikkatlice kapatılıp sterilizasyon işlemi için otoklav cihazına yerleştirdik. Sterilizasyon işlemini otoklav cihazında 121°C'de, 15 lbs basınç ayarlanarak 15 dakika bekletildi. Daha sonra otoklavdan çıkan karışım halindeki besiyeri 50°C 'da soğuması için bekletildi. Elde edilen hazır besiyeri, alev yanında Petri kutularına 12,5 ml olacak şekilde ölçülüp döküldü. En son besiyerinin soğuması için petri kutuları +4°C 'da buzdolabına yerleştirilerek ekim işlemi için hazır hale geldi.



Şekil 6: Hazırlanan besiyerlerin (Kanlı, Çikolata, MacConkey ve Chrom agarların) görüntüsü.

3.5.2. Örneklerin (Mikroorganizmaların) ekim işlemleri

İçerisinde mikroorganizmaların bulunduğu bilinen gönüllülerden alınan svap örnekleri üzerine ekim işlemi yapmadan önce ekim odasında hava akımlarının önlenmesi amacıyla çalışma odası da kapalı tutuldu. Ekim svap örnekleri ve ekim yapılacak olan besiyerleri kolayca alınıp bırakılacak bir yerde konarak ekim yapıldı (Şekil 7).



Şekil 7: Alınan örneklerin kültür edilme işlemi

Ekim işlemi yaptıktan sonra ekim yapılacak olan besiyerlerin üzerine cam kalemi ile etiketleme işlemi yapılarak ekim örneğinin tarihi ve hangi örnekten alındığı yazıldı. Hazırlanan Çikolata, Kanlı, MacConkey ve Chrom Agar besiyerlerine azaltma yöntemi uygulanarak bunzen alevi yanında olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirildi. Besiyerleri, 36,6°C'de 2 gün etüve alındı (şekil 8).



Şekil 8: Alınan örneklerin kültüre edilmesinden sonra etüve'den çıkan petri görüntüleri

3.5.3. Örneklerin (Mikroorganizmaların) tayin yöntemleri

3.5.3.1.Preparat hazırlaması

Mikroorganizmaların belli sıcaklıklarda tutulması ve gelişmeleri sağlandı. Bu işlem için mikroorganizmaları, üreyebilecekleri inkübatör adı verilen cihazda, 12-36 saat bekletildi. Daha sonra besiyeri barındıran petri kutularının kültür değerlendirmesi yapmak üzere işleme alındı. İlk olarak makroskobik değerlendirmeler ele alındı. Bu değerlendirmede kolonilerin (şekli, rengi, kokusu, hemoliz ve yapısı) bakımından tanımlamalar yapıldı. Makroskobik incelemenin yanı sıra, petri plakaların fotoğraflama işlemi de yapıldı.

Mikroskobik açıdan değerlendirme işleminde ise; incelenmek istenen koloniler kültür preparatları üzerinde işaretlenerek; basit ve gram boyama için hazır hale getirildi. Hazırlanan Lam (preparatlar) fiksasyondan sonra gram boyama prosedürüne tabi tutuldu. Lamların temizliğini, yağsız ve çizgisiz olması kontrol edilerek seçildi. Lamlar üzerindeki yağların

uzaklaştırılması için %50‟lik etil alkol çözeltisi kullanılarak steril hale getirildi. Alkolü uzaklaştırmak için lamlar saf sudan geçirilerek saf havada kurutuldu.

Preparatların hazırlanmasında kullanılan diğer gerekli malzemeler iğne, öze ve pastör pipetleri de temiz ve steril hale getirildi. Diğer uçlarından rahat ve tehlikesizce tutulabilmesi için Preparatlar lamın ortası ile bir ucu arasındaki bölgede hazırlandı. Özeyi yaktıktan sonra kültürden örnek alınarak su damlası ile ezindi. Lamın alt yüzünü üç defa bek alevinden geçirilerek fiksasyon yapıldı.

3.5.3.2.Boyama yöntemi

Çoğu mikroorganizmalar renksiz olduklarından normal ışık mikroskobu ile görülmeleri zordur. Bu mikroorganizmaların tanımlaması için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Dolayısıyla mikroorganizmaların mikroskopta görünür hale getirilmesi, morfoloji ve histolojileri hakkında daha iyi bilgi edinilmesi için boyama işlemi yapıldı. Boyama sonrası 100X büyütmede immersiyon yağı damlatılarak; binoküler ışık mikroskobunda mikrororganizmaların morfolojileri gram pozitif ve gram negatif olmaları açısından incelendi

3.5.3.2.1. Basit Boyama

Mikroorganizmaların morfolojik incelenmesi için basit boyama tercih edildi. Her ne kadar Gram boyama ile hem morfoloji hem de Gram reaksiyon belirlenebiliyorsa daima morfolojik incelemeler için basit boyama tercih edilmektedir. Lamların temizliğini, yağsız ve çizgisiz olmasını kontrol edilerek seçildi. Lamlar üzerindeki yağların giderilmesi ve steril hala getirilmesi için %50‟lik etil alkol çözeltisi kullanılarak steril hale getirildi. Lamları temizlendikten sonra ortasına bir damla distile su konuldu. Daha önce hazırlanan kültür besiyerinden öze ile örnek alındı. İlk önce alınan örnek su damlası ile ezildi daha sonra su damlasıyla karıştırılarak lamın üzerine ince bir film halinde yayıldı. Daha sonra havada kuruması sağlandı. Örnekler hazır hale gelebilmesi için lam bunzen beki alevinden 3 defa geçirilmesi sağlandı. Boyamada tek renk olarak kristal violet kullanıldı. Preparat hazırlandıktan sonra üzeri boya çözeltisi ile kaplanarak bir dakika bekletildi. Boya dökülerek

preparat damıtık suyla yıkanıp kurutuldu. En son hazırlanan preparat immersiyon objektifiyle mikroskopta incelendi.

3.5.3.2.2. Gram Boyama

Bilinmeyen bakterilerin tanımlanması için kullanılan Gram boyama yöntemi sadece bakteriler için kullanılabilmektedir. Gram boyama tekniği bakterileri iki gruba ayırıyor. Bakteriler hücre zarındaki lipit ve türevlerine göre boyama tekniği sonunda Gram-pozitif ve Gram-negatif olarak ikiye ayırır.

Bazı Gram-pozitif bakteriler boyama renk giderici çözeltisine duyarlı oldukları için Gram-labil olarak adlandırılır. Bazısı ise çok yaşlı kültürleri verir. Gram-variable olarak tanımlanır. Dolaysıyla Gram-variable değişken etkiden kurtarmak için 18-24 saatlik kültürleri kullanıldı.

Preparat kristal viyolet ile kaplanarak bir dakikalık bekletildi. Hazırlanan preparat bol miktar damıtık su ile yıkanarak kurutuldu. İkinci kez preparat üzerine lugol çözeltisi ile kaplanarak aynı şekilde bir dakikalık süre bekletildi. Gram iyot çözeltisi olan lugol akıtılarak damıtık su ile yıkanma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra preparat uygun bir kaptaki %96'lık etil alkol içine daldırarak 15-20 saniye bekletildi. Dekolorizasyon işlemi yapıldıktan hemen sonra preparat damıtık su ile yıkanarak kurutuldu. En son preparat mikroskop altında immersiyon merceğinde incelendi. Dolaysıyla kristal viyole hücre içinde tutabilen bakteriler Gram-pozitif mor renkte gözüktü ve tutmayan ise Gram-negetif bakteriler olarak pembe-kırmız renkte değerlendirildi.

3.5.4. MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS (*Matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry*) güncel olarak mikroorganizmaların tür tayini ve identifikasyonunda kullanılan ucuz, hızlı, doğru sonuç veren yeni bir tanımlama yöntemidir. Yeni geliştirilmiş bu yöntemde mikroorganizmalara ait protein, peptid, şeker gibi biyomoleküllerin ve makro düzeydeki

büyük organik makro molekül iyonize edildikten sonra elektromanyetik alandan geçirilerek protein profilleri çıkarılmaktadır. Çıkarılan bu profil spektralarına ait grafiksel görüntülerin sistemin içindeki yer alan veri tabanındaki referans organizmalara uyumuna göre mikroorganizmalar tür ve cins bazında tanımlanması yapılmaktadır.

MALDI-TOF MS'de çalışılan izolat formik asit ekstraksiyon yöntemi ile 'polish target' olarak adlandırılan metal bir plak üzerine 300 µl steril distile su içine bakteri kolonisi Üzerine 900 µl etanol eklendi. Karıştırılması için iyice vortekslendi. Daha sonra Santrifüj edilerek süpernatan atıldı. İşlem bir kez daha tekrarlanarak %70 formik asit solüsyonu pellet üzerine eklendi. 50 µl asetonitril eklenerek karıştırıldı. Santrifüjlendikten sonra süpernatandan 1µl polish target üzerine konuldu. Üzerine 2µl bir matriks solüsyonu eklenerek havada kurutuldu. Matriks içerisinde alfa siyano 4 hidroksi sinnamic acid ve çözücü olarak da trifluoroasetik asit ve asetonitril bulunmaktadır. Daha sonra polish target cihaza yüklendi. Cihaz içerisinde lazer ışını verilerek izolat iyonize moleküller haline dönüştü. Uçuşan moleküller bir detektör yardımı ile toplanarak tek yükü olan yalnızca tek bir iyonize tür oluştu. Dolaysıyla, Biotyper ile mikroorganizma tiplendirme işlemini yapıldı. İşlem ortalama 13-15 dk içerisinde tamamlanarak otomatize sistemlerle mikroorganizmaların tanımlanması yapıldı. Tanı kitleri ile şüpheli ve ayıramadığımız bazı plaklardaki kolonilerin ayırımında ise ileri tanımlama analiz yöntemlerinden biri olan MALDI-TOF-MS cihazı(Ticari bir firma desteği) ile tür tayinleri yapıldı.

3.5.5. Biyokimyasal testler

Mikroorganizmalar biyokimyasal aktiviteler bakımından oldukça farklılıklar gösteriyor. Bakteriler sahip oldukları enzim aktivitesi aminoasit ve karbonhidratlardan yararlanma gibi biyolojik özelliklerinin test edilmesi sonucu biyokimyasal testler yapılmaktadır. Kısa sürede sonuçlanması, ucuz olması için biyokimyasal testler tercih edildi.

3.5.5.1.Katalaz testi

Katalaz testi, stafilokokları (katalaz pozitif) streptokoklardan (katalaz negatif) ayırmak için kullanılır. Bütün stafilokoklar katalaz enzimi üretir aksine streptokok türleri katalaz enzimi üretemezler. Katalaz enzimi, oksijen kullanarak Gaz kabarcıkları yapan bakteriler tarafından üretilir ve onları oksijen metabolizmasının toksik yan ürünlerinden korur. Bu testte Mikroskobik slayta bir damla %3 hidrojen peroksit uygulandı. İncelenecek bakteri kolonisinden özeyle alınarak temiz bir lam üzerinde, bir damla distile su ile süspanse edildi. Üzerine %3'lük H_2O_2 damlatılarak karıştırıldı. Elde edilen bu yeni karışım içinde oksijene bağlı hava kabarcıklarının oluşması, testin pozitif olduğunu gösterdi. Bakterileri plastik bir öze ile H_2O_2 solüsyonuna aktarıldı. Katalaz pozitif bakteriler, bakterinin bir katalaza sahip olduğunu gösteren baloncuklar şeklinde gaz (O_2) üretti. Katalaz negatif bakteriler ise bir katalaza sahip olmadığı için bu nedenle oksijen baloncukları oluşturmadı. Streptokok şüphesi olan kolonilere Katalaz testi uygulanmıştır.

3.5.5.2.Koagülaz testi

Bu test patojenik olanlarla nonpatojenik olanları ayırmak amacı ve örneklerde var olan stafilokokların Staphylococcus aureus türü olup olmadığını belirlemek için uygulanmıştır. Patojenik olan *S. aureus* Bazı bakteriler, fibrinojeni fibrine dönüştüren bir enzim olan koagülaz üretir, bu da plazmayı koagüle edebileceği anlamına gelir. Koagülaz üretme kabiliyetinin, stafilokokların virülansıyla ilişkili olduğu varsayılmaktadır. Test, koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilokokları ayırt etmek için kullanıldı. Alınan 0,5 ml plazma içinde şüpheli saf kültürden bir koloni süspanse edilerek. 37ºC'de inkübe edildi. Temiz lamın her iki ucu kullanılarak bir ucuna bir damla serum fizyolojik diğer ucuna kan plazması damlatıldı. Her iki damlanın bulunduğu alana şüpheli koloniler öze yardımıyla alınarak yayıldı. Pozitif reaksiyon vermesine karşın *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* negatif reaksiyon göstererek değerlendirildi.

3.5.5.3.Voges- Proskauer (VP) testi

Bu test, bakteri türlerini belirlemede kullanıldı. Glikozu parçalayan bazı bakteriler nötral bir ürün acetoin oluşturur. Nötral ürünler identifikasyonda önemli göreve sahiptir. İçinde glikoz bulunan bufferlı besiyerine kültürlerden ekildikten sonra 37°C de 3-5 gün inkube edildi. Tüplere ayıraçtan Barzit VP ayıracı 1 ml ilave edilerek hafifçe çalkalanarak su banyosunda 4 saat tutuldu. Aralıklı olarak çalkalandı. Besiyerin 2-5 dakika beklendikten sonra içinde pembe bir renk oluştuğu zaman acetoin varlığının göstermesi pozitif reaksiyon olarak sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi. Barzit VP ayıracı testi, ortamda oluşan Acetoin'e bağlıdır.

3.5.5.4.KOH testi

Potasyum hidroksit testinin (KOH testi) amacı, Gram negatif bakterileri belirlemektir. Gram boyamada pozitif veya negatif ayrımı yapılamayan kolonilere KOH Testi uygulanmıştır. KOH, Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarının ince peptidoglikan tabakasını çözer, ancak Gram pozitif hücre duvarlarını etkilemez. Gram negatif hücre duvarlarının ayrışması, hücreyi parçalayarak DNA dahil içeriğini serbest bırakır. DNA, çözeltiyi çok yapışkan hale getirecek ve dokunulduğunda çözelti plastik öze yapışacaktır. Gram pozitif bakteriler, hücre duvarında daha kalın peptidoglikan tabakasına sahip oldukları için KOH'den etkilenmezler. Böylece hücreler parçalanmayacak, DNA salınmayacak ve viskozite gözlenmeyecektir. 3% KOH Potasyum hidroksit çözeltisinin mikroskobik slayt üzerine uygulandı. Öze ile Bakteriler aktarıldı ve KOH solüsyonu ile karıştırılarak Çözeltinin viskoz olacağı ve bir mukoid ipi oluşturacağı Gram negatif bakteriler olarak belirlendi. Çözeltinin viskoz olmayacağı Gram pozitif bakteriler olarak değerlendirdi.

3.5.5.5.Sitrat testi

Bazı bakteriler sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilir ve sitrat testi, gerçek bakterinin bu yeteneğe sahip olup olmadığını gösterir. Az miktarda bakteri ile sitrat besiyeri

içeren bir tüpü inoküle edildi. Sürtünme yöntemi ile Simmons sitrat tüpüne ekilerek derin bir aşılama yapıldı. 30-37ºC'de 24-48 saat inkübe edildi. sitrat ortamında büyüme veya Simmon'un sitrat tüpünde maviye renk değişimi ile büyüme pozitif olarak değerlendirildi. Sitrat besiyerinde büyüme ve Simmon'un sitrat tüpünde renk değiştirme olmaması negatif olarak değerlendirildi.

3.5.5.6. API 20 Strep tayin kiti

API 20 Strep tayin şeridi, biyokimyasal şekerlerin enzimatik aktivitesi ya da fermentasyonunun belirlenmesi için substratlar içeren mikrotüplerden oluşmaktadır. Bu aktivitelerin oluşup oluşmaması durumlarında; kit içeriğindeki veritabanından yararlanılarak mikroorganizmaların tayini yapılabilmektedir. Bakteri hareketliliğinin (flagella) gösterilmesi için hareketlilik testi vb. gibi biyokimyasal testler ile mantar tanımlanması için API 20C, Streptokokların tanımlanması için API 20 Strep kullanıldı.

3.6. Veri Analizi

Besiyeri plaklarında mikroorganizmaların istatistiksel veri analizi IBM-Spss 22 versiyonu kullanılarak yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler ve karşılaştırmalar *Pearson* korelasyon ve *Pearson* Ki-kare testi (*Chi-Square Tests)* kullanılarak belirlenmiştir. P değeri 0.05'ten küçükken anlamlı olarak belirlendi. Sıralı veri setinde; aritmetik ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler belirlenirken, nominal veriler de ise frekans ve yüzde olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi uygulandı.

4. Bulgular

4.1. Genel Fenotipik ve Mikroskobik Değerlendirme

Çalışmamıza 10-60 yaşlar arasında olan 12 (%40) erkek ve 18(%60) kadınlardan oluşan 30 farklı birey katılmıştır. Gönüllü olarak katılan bu kişilerin ağzından svap numunesi alındı. Daha sonra sağ el işaret parmağını 5sn ısırması istendi, ısırılmış olan parmaktan bir svap daha alınarak iki farklı modül materyalleri alınmıştır.

Alınmış toplam 60 svap örneğin mikroorganizmaları seçici ve zenginleştirici 4 farklı (Kanlı Agar, Çikolatalı Agar, Chrom Agar, MacConkey Agar) besiyerlerinde ekimi yapıldı. Daha sonra Gram ve Basit boyamaları işlemleri uygulandı. Boyanan tüm mikroorganizmalar Binoküler mikroskop altında (10x100) büyütme objektif 100'lük immersiyon okülerde ayrı ayrı incelendi. Basit biyokimyasal test yöntemler ile tanısını koymadığımız bazı mikroorganizmaların ileri tanı test yönteminden biri olan MALDİ-TOF MS otomatize sistemi ile tanımlanması yapılmıştır.

Mikroorganizmaları birbirinden ayırmak için farklı biyokimyasal (Katalaz, Koagülaz, Voges-Proskauer (VP), KOH ve Sitrat) testleri uygulandı.

4.1.1. Ağız materyallerin değerlendirilmesi

Toplam 30 kişiden alınan ağız svap materyallerin plakta üreyen mikroorganizma türleri, Gram boyama özellikleri ve oransal olarak yüzdeleri (Tablo II)'de verilmiştir. Bu verilere göre; alınan svap örneklerinin ekildiği besiyerlerinde, en çok üreme gösteren (toplam 30 kişinin 22 (%72,6)'sında) mikroorganizma türü alfa hemolitik streptokoklar olduğu tespit edilmiştir.

Tablo II: Ağızda üreyen mikroorganizmaların plaklara göre dağılımı.

Mikroorganizma Türü	Alınan Plak Sayısı	Örnek Swap Oran %	Gram boyama Özellikleri
Alfa Hemolitik Streptokok	22 plak	%72,6	+
Beta Hemolitik Streptokok	4 plak	%13,3	+
Streptococcus pneumoniae	6 plak	%19,8	+
Neisseria sp.	17 plak	%56,1	-
Micrococcus sp.	4 plak	%13,3	+
Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS)	16 plak	%53,3	+
Staphylococcus saprophyticus	1 plak	%3,3	+
Sarcinia sp.	3 plak	%9,9	+
Staphylococcus aureus	2 plak	%6,6	+
Enterecoccus sp.	1 plak	%3,3	+
Morexella sp.	2 plak	%6,6	-
E.coli	1 plak	%3,3	-
Hemafilus influenza	2 plak	%6,6	-
Candida sp.	3 plak	%9,9	+
Bacillus sp.	3 plak	%9,9	+

4.1.2. Isırılan parmak materyallerin değerlendirilmesi

İkinci modülde ise aynı kişilerden alınan parmak materyallerinin plakta üreyen mikroorganizma türleri, Gram boyama özellikleri ve oransal olarak yüzdeleri (Tablo III) ‘te verilmiştir. Bu verilerine göre; alındığı svap örneklerin ekildiği besiyerlerinde, en çok üreme gösteren mikroorganizma türü (toplam 30 kişinin 13(%43,3)’ünde) alfa hemolitik streptokoklar olmuştur. Ayrıca, ağızdan alınan örneklere nazaran parmaktan alınan materyallarda oransal olarak tüm mikroorganizma dağılımında düşüşler görülmüştür.

Tablo III: Isırılmış parmakta üreyen mikroorganizmaların plaklara göre dağılımı

Mikroorganizma Türü	Alınan Plak Sayısı	Örnek Swap Oran %	Gram boyama özellikleri
Alfa Hemolitik Streptokok	13 plak	%43,33	+
Beta Hemolitik Streptokok	2 plak	%6,6	+
Streptococcus pneumoniae	4 plak	%13,3	+
Neisseria sp.	9 plak	%29,9	-
Micrococcus sp.	3 plak	%9,9	+
Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS)	10 plak	%33,3	+
Sarcinia sp.	2 plak	%6,6	+
Staphylococcus aureus	1 plak	%3,3	+
Enterecoccus sp.	1 plak	%3,3	+
Morexella sp.	1 plak	%3,3	-
Hemafilus Influenza	2 plak	%6,6	-
Candida sp.	1 plak	%3,3	+
Bacillus sp.	2 plak	%6,6	+

4.1.3. Modül materyallerin değerlendirilmesi

Tüm plaklarda üreme gösteren mikroorganizmaların türleri ve 30'ar farklı örneklerden alınan 2 farklı modül materyallere göre dağılımı ve bu mikroorganizmaların yer aldığı, her iki (ağız ve ısırılmış parmak) modüllerinde ayrı ayrı gösterilmiştir. Tüm plaklar incelendiğinde en yoğun mikroorganizma içeren örnekler, ağız svaplarının ekildiği plaklar olmuştur. Isırılmış parmak svaplarının ekildiği plaklarda daha az mikroorganizmalar türü görülmektedir. Bu durum, parmağın ağızda ne kadar süre tutulduğu ve ağzın hangi anatomik yapılarına değdirildiği ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Tablo IV).

Tablo IV: Plaklarda üreme gösteren mikroorganizma türlerinin modül materyallere göre dağılımları.

Örnek No	Ağız modülü	Parmak modülü
1	Alfa Hemolitik Streptokok, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria* sp.	Alfa Hemolitik Streptokok
2	*Neisseria* sp. KNS	*Neisseria sp*. KNS
3	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. *Sarcinia* sp.	*Neisseria sp.*
4	Alfa Hemolitik Streptokok, *Streptococcus pneumoniae*, KNS	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS
5	*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria* sp. *Sarcinia* sp., *Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pneumoniae, Neisseria sp. Sarcinia sp*.
6	Alfa Hemolitik Streptokok, Beta Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. KNS	Alfa Hemolitik Streptokok, Beta Hemolitik Streptokok
7	Alfa Hemolitik Streptokok, *Micrococcus* sp. *Morexella sp.*	Alfa Hemolitik Streptokok
8	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. *Candida* sp.	*Neisseria sp. Candida sp*.
9	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS, *Staphylococcus saprophyticus*	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS
10	Beta Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. *Hemafilus influenza*	Beta Hemolitik Streptokok, *Hemafilus influenza*
11	*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria* sp. KNS	Streptococcus pneumoniae, KNS
12	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. *Bacillus* sp.	Alfa Hemolitik Streptokok, *Bacillus* sp.
13	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS, *Morexella sp.*	Alfa Hemolitik Streptokok, *Morexella sp*.
14	Alfa Hemolitik Streptokok, *Micrococcus* sp.	*Micrococcus sp.*
15	*Neisseria* sp. KNS, *Candida* sp.	*Neisseria sp.*
16	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. *Staphylococcus aureus*	Alfa Hemolitik Streptokok, *Staphylococcus aureus*
17	*Neisseria* sp. KNS, enterecoccus sp,	*Neisseria sp, Enterecoccus sp*
18	Alfa Hemolitik Streptokok, *Sarcinia* sp.	Alfa Hemolitik Streptokok, *Sarcinia* sp.
19	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. KNS,	*Neisseria sp*. KNS
20	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. KNS, *E. coli*	*Neisseria sp*.
21	Alfa Hemolitik Streptokok, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria* sp.	*Streptococcus pneumoniae*
22	Alfa Hemolitik Streptokok, Beta Hemolitik Streptokok, KNS	Beta Hemolitik Streptokok, KNS
23	*Neisseria* sp. KNS, *Hemafilus influenza*	*Neisseria sp*. KNS
24	Alfa Hemolitik Streptokok, *Neisseria* sp. *Candida* sp. *Bacillus* sp.	Alfa Hemolitik Streptokok, *Bacillus* sp.
25	Alfa Hemolitik Streptokok, *Micrococcus* sp.	*Micrococcus* sp.
26	Alfa Hemolitik Streptokok, Beta Hemolitik Streptokok, KNS	Alfa Hemolitik Streptokok
27	Alfa Hemolitik Streptokok, *Streptococcus pneumoniae*	*Streptococcus pneumoniae*
28	*Micrococcus* sp. KNS	*Micrococcus sp.*
29	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS, *Bacillus* sp.	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS
30	Alfa Hemolitik Streptokok, *Streptococcus pneumoniae*, KNS	Alfa Hemolitik Streptokok, KNS

4.2. Üreyen mikroorganizmaların türlerinin genel değerlendirilmesi

Alınmış toplam 60 svap örneğinin 4 farklı (Kanlı Agar, Çikolatalı Agar, Chrom Agar, MacConkey Agar) besiyerlerde ekim yapılarak üreme gösteren mikroorganizmalar toplam 15 adet olmuştur. Bu mikroorganizmaların familyası, filumu ve şekilleri (Tablo V)'te verilmiştir.

Tablo V: Üreyen mikroorganizmaların ailesi, filumu ve şekli

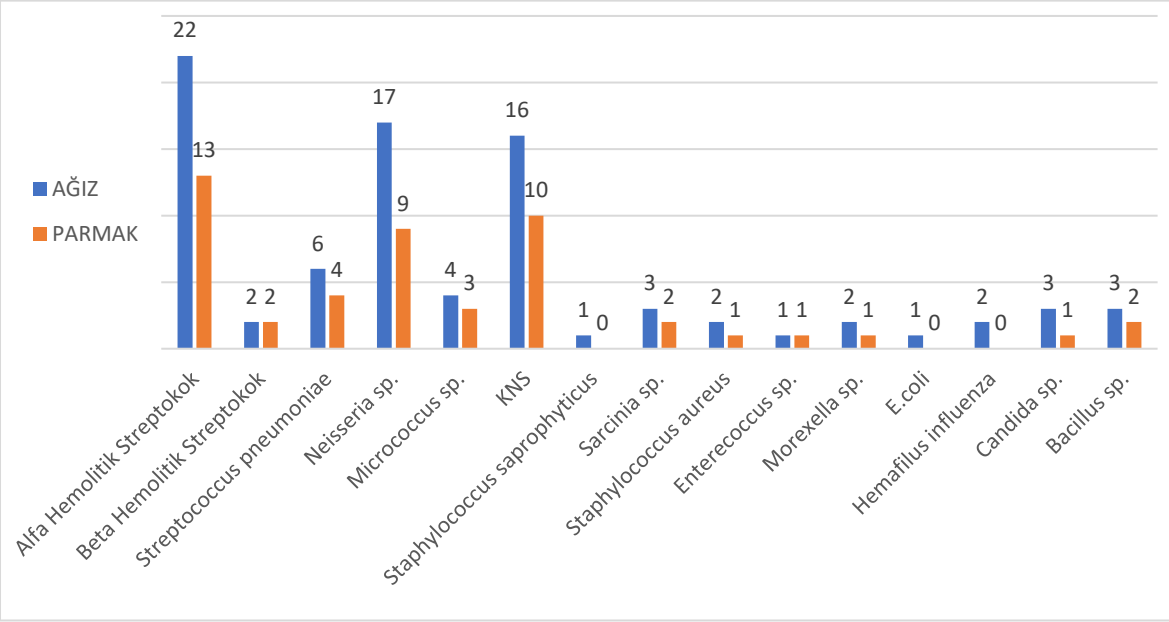
Mikroorganizma Türü	Aile ve filum	Şekil
Alfa Hemolitik Streptokok	*Firmicutes (Streptococcucea)*	Kok
Beta Hemolitik Streptokok	*Firmicutes (Streptococcucea)*	Kok
Streptococcus pneumoniae	*Proteobacteria (D-group streptococci)*	Basil
Neisseria sp.	*Proteobacteria (Neisseriaceae)*	Kok basil
Micrococcus sp.	*Actinobacteria (Micrococaceae)*	Kok
Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS)	*Firmicutes (Staphylococcaceae)*	Kok
Staphylococcus saprophyticus	*Firmicutes (Staphylococcaceae)*	Basil
Sarcinia sp.	*Firmicutes Clostridiaceae*	Kok
Staphylococcus aureus	*Firmicutes (Staphylococcaceae)*	Basil
Enterecoccus sp.	*Proteobacteria (Enterobacteriales)*	Kok
Morexella sp.	*Proteobacteria (Neisseriaceae)*	Kısa çubuklu kokbasil
E.coli	*Proteobacteria (Enterobacteriaceae)*	Basil
Hemafilus Influenza	*Proteobacteria (pasturella)*	kokbasil
Candida sp.	*Ascomycota Saccharomycetaceae*	Smal oval Maya
Bacillus sp.	*Firmicutes (Bacillaceae)*	Basil

Alındığı svap örneklerin ekildiği besiyerlerinde, en çok üreme gösteren mikroorganizma filum türü sırasıyla *Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria* ve *Ascomycota Fungi* olmuştur (Tablo VI).

Tablo VI: Mikroorganizmaların filumlara göre dağılımı

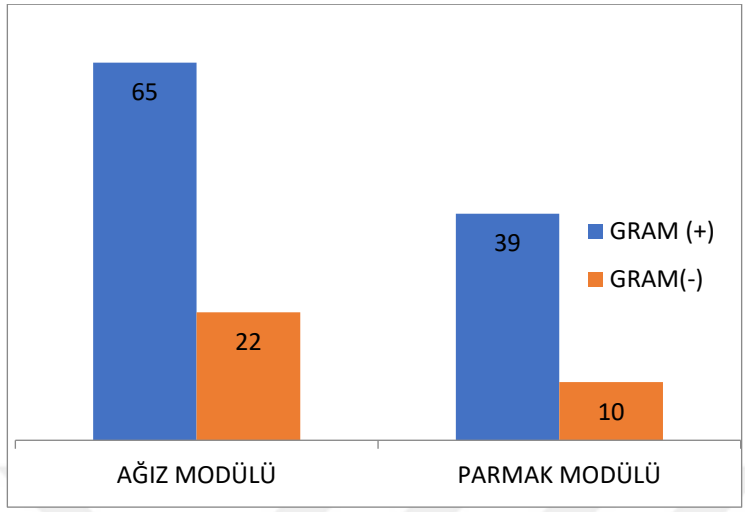
Firmicutes	Proteobacteria	Actinobacteria	Ascomycota Fungi
Bacillus sp.	*Hemafilus influenza*	*Micrococcus sp.*	*Candida sp.*
Staphylococcus aureus	*E. coli*		
Sarcinia sp.	*Morexella sp.*		
Staphylococcus saprophyticus	*Enterecoccus sp*		
Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS)	*Neisseria sp.*		
Beta Hemolitik Streptokok	*Streptococcus pneumoniae*		
Alfa Hemolitik Streptokok			

Toplamda 30 kişiden alınan modül plakta gözlenen mikroorganizma türleri ve oransal olarak yüzdeleri tabloda verilmiştir. Tablodaki verilere göre çalışmamızda 30 kişiden, iki farklı materyal üzerinden alınan svap örneklerinin besiyeri plaklarına ekilmesiyle ortaya çıkan veriler diyagram haline getirilmiştir (Şekil 1). Tükürük mikrobiyotanın oransal olarak en baskın bakterileri Streptokoklardır. Bu bakteriler ısırma eylemi ile nesnelere ve insan derisine tükürük ile taşınmaktadır.



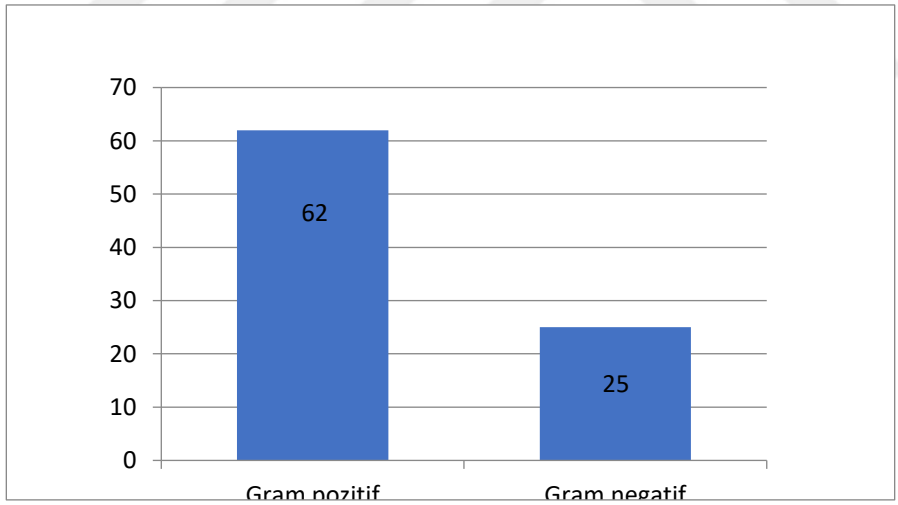
Şekil 9: Üreyen mikroorganizma türlerinin modül materyallere göre dağılımı

Gram boyama özelliklerine göre dağılım da ise ağız mikroorganizmalara nazaran parmak mikroorganizmaları daha az miktar dağılımı gösterilmiştir (Şekil 10).



Şekil 10: Üreyen mikroorganizma türlerinin Gram boyama özelliklerine göre dağılımı

Hem mikroorganizma çeşitliğinde hem oransal olarak Gram boyama özelliklerine göre parmaktan alınan örneklerde ciddi azalışlar tespit edilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11: Isırılmış parmak modülün Gram özelliklerine göre mikroorganizmaların dağılımı.

4.3. İstatistiksel analizler

Deneklerin ağız ve parmak materyallerinde üreyen mikroorganizmaların ve davranışları (yaş, cinsiyeti, sigara-içme alışkanlıkları, kronik hastalığı, implant ve günlük diş fırçalama) Arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla Ki-Kare

Bağımsızlık testi uygulanmıştır. Üreyen her bir mikroorganizma deneklerin her bir davranışıyla teker teker ilişkilendirildi. Ancak, çıkan sonuçlara göre bireylerin sigara içme alışkanlıkları ile *Neisseria* ve günlük diş fırçalama ile *Candida sp* arasındaki anlamlı fark olduğu ortaya çıkmıştır. Diğer verilere ait anlamlı bir ilişki olamadığı saptanmıştır.

Candida sp kişilerin günlük diş fırçalama göre farklılık gösterip göstermediği Tablo VII'de incelenmiştir.

Tablo VII: *Candida sp* ve günlük diş fırçalama sayısının çapraz tablosu

			Candida sp		Total
			Var	Yok	
Günlük diş fırçalama sayısı	0 kez	Count	2	0	2
		% within günlük diş fırçalama	100.0%	0.0%	100.0%
		% within *Candida sp*	66.7%	0.0%	6.7%
	1 kez	Count	1	14	15
		% within günlük diş fırçalama	6.7%	93.3%	100.0%
		% within *Candida sp*	33.3%	51.9%	50.0%
	2 kez	Count	0	12	12
		% within günlük diş fırçalama	0.0%	100.0%	100.0%
		% within *Candida sp*	0.0%	44.4%	40.0%
	3 kez	Count	0	1	1
		% within günlük diş fırçalama	0.0%	100.0%	100.0%
		% within *Candida sp*	0.0%	3.7%	3.3%
Total		Count	3	27	30
		% within günlük diş fırçalama	10.0%	90.0%	100.0%
		% within *Candida sp*	100.0%	100.0%	100.0%

Tablo VII'deki değerlerden deneklerin gün içerisinde 3 kez, 2 kez, 1 kez ve bir günden fazla zaman aralığında dişlerinin fırçalaması görülmektedir. Toplam 30 deneğin çapraz tablosundaki verilerine göre günde 3 kez dişlerini fırçalayan 1 kişi, 2 kez dişlerini fırçalayan

12 kişi, 1 kez dişlerini fırçalayan 15 kişi ve 0 kez (iki günde bir kez veya daha fazla zaman zarfında) dişlerini fırçalayan 2 kişi olduğunu gözlenmektedir. Bu durum tabloda gösterilen toplam 3 *Candida sp* mikroorganizmaların iki adet 0 kez ve bir adet 1 kez grupları karşılaştırıldığında net olarak görülmektedir. Bununla birlikte daha sağlıklı ve anlaşılır bir yorum yapabilmek için Ki-Kare Testi uygulaması yapılmıştır (Tablo VIII).

Tablo VIII: *Candida sp* ve günlük diş fırçalama sıklılığının Ki-Kare testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	19.630[a]	3	.000
Likelihood Ratio	12.157	3	.007
Linear-by-Linear Association	8.332	1	.004
N of Valid Cases	30		

a. 6 cells (75.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .10.

Ki-Kare Testi'nde anlamlılık değerinin p=,000 olduğu görülmektedir. Bu değer p<0,01 şartını karşıladığından ötürü *Candida sp* ile günlük diş fırçalama sayısı arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu söylenebilir. Benzer şekilde *Neisseria sp* ile deneklerin sigara içme alışkanlıkları arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla bu iki değişken arasında da çapraz değerlendirme yapılarak Ki-Kare Testi uygulanmıştır (Tablo IX).

Tablo IX: *Neisseria sp* ve sigara kullanımı çapraz tablosu

			Neisseria sp		Total
			Evet	Hayır	
Sigara kullanımı	Evet	Count	0	8	8
		% within Sigara kullanimi	0.0%	100.0%	100.0%
		% within *Neisseria sp*	0.0%	61.5%	26.7%
	Hayır	Count	17	5	22
		% within Sigara kullanimi	77.3%	22.7%	100.0%
		% within *Neisseria sp*	100.0%	38.5%	73.3%
Total		Count	17	13	30
		% within Sigara kullanimi	56.7%	43.3%	100.0%
		% within *Neisseria sp*	100.0%	100.0%	100.0%

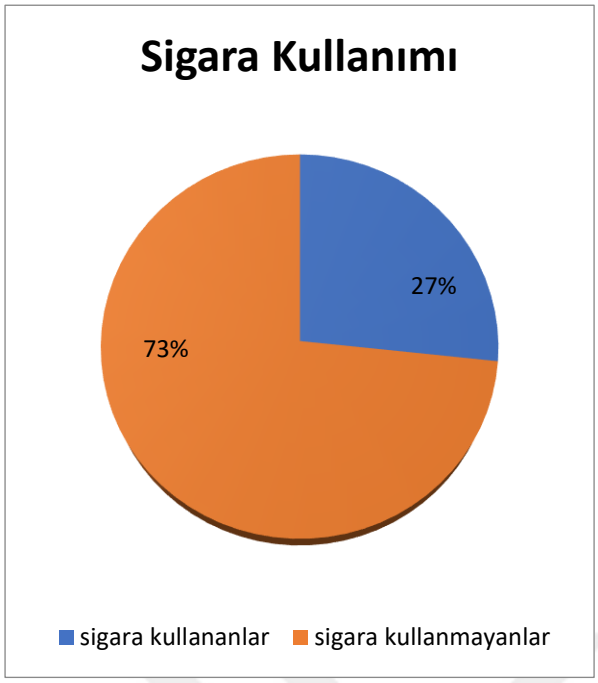
Tablo IX'deki Yine benzer şekilde toplam bireylerin sigara içme alışkanlıkları ve *Neisseria sp* mikroorganizma arasındaki ilişkisini gözlenmektedir. Üreyen mikroorganizmaların plaklardaki dağılımın %56,7 *Neisseria sp* oluşturmaktadır. Bu durumda, toplam 30 deneğin sigara içen sayısı 8 ve içmeyen sayısı ise 22 olarak gösterilmektedir. Tablodaki verilere göre sigara içenlerde hiç *Neisseria sp* görünmezken, toplam 22 sigara içmeyen deneklerin 17'sinde net olarak görülmektedir. Aynı şekilde, daha sağlıklı ve anlaşılır bir yorum yapabilmek için Ki-Kare Testi uygulaması yapılmıştır (Tablo X).

Tablo X: *Neisseria sp* ve sigara tüketiminin Ki-Kare testi

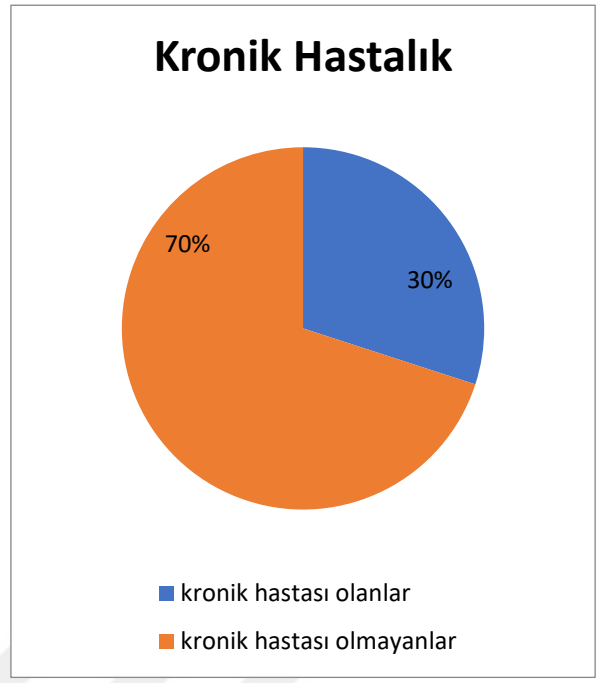
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	14.266[a]	1	.000		
Continuity Correction[b]	11.292	1	.001		
Likelihood Ratio	17.472	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	13.790	1	.000		
N of Valid Cases	30				

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.47.
b. Computed only for a 2x2 table

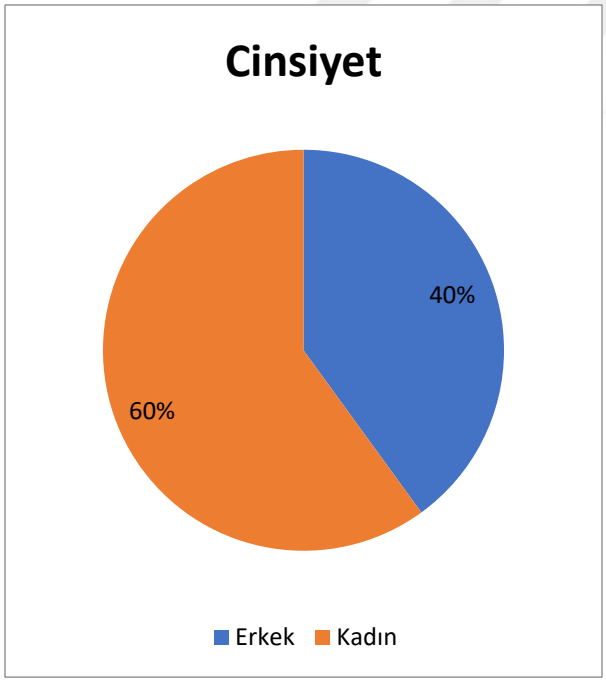
Ki-Kare testinde Fisher's Exact Test anlamlılık değerinin p=,000 olduğu görülmektedir. Bu değer p<0,05 şartını karşıladığından ötürü *Neisseria sp* ile sigara-içme alışkanlığı arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu söylenebilinir.



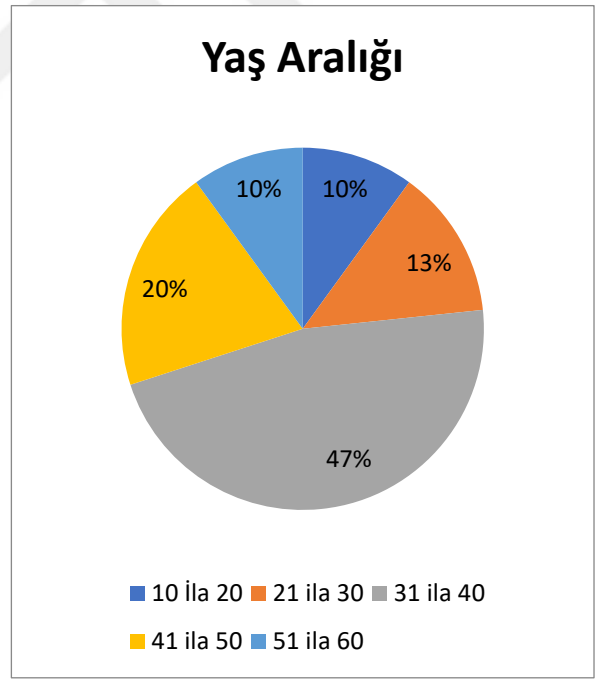
Şekil 14: Mikroorganizmaların sigara tüketimine göre dağılımı.



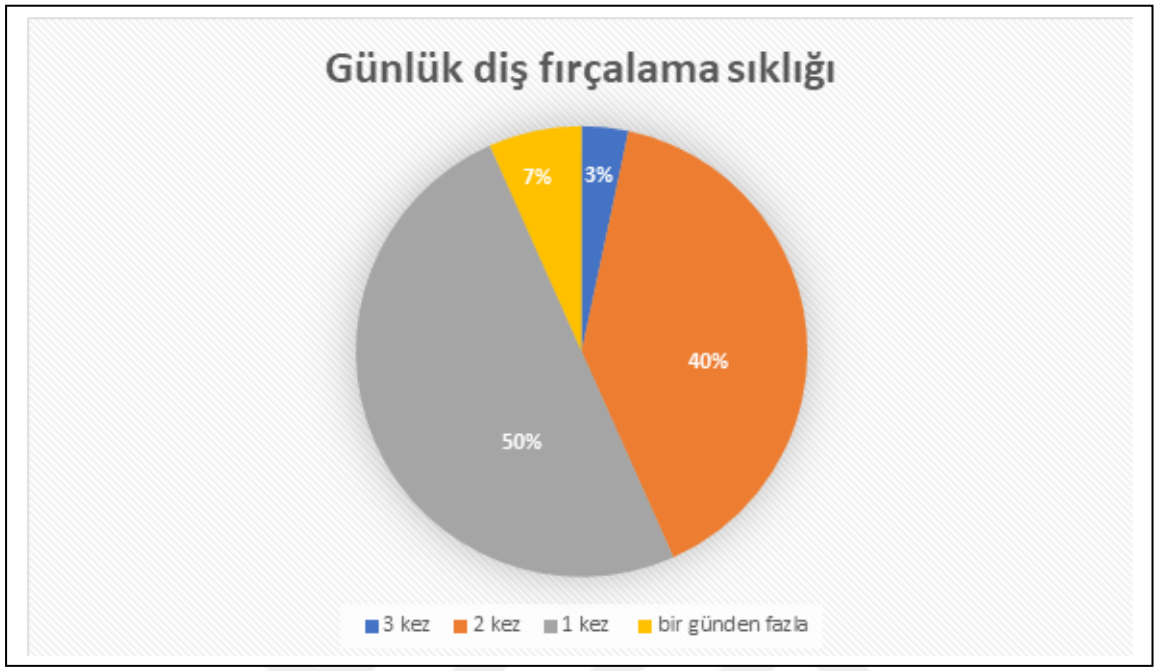
Şekil 13: Mikroorganizmaların kronik hastalıklara göre dağılımı



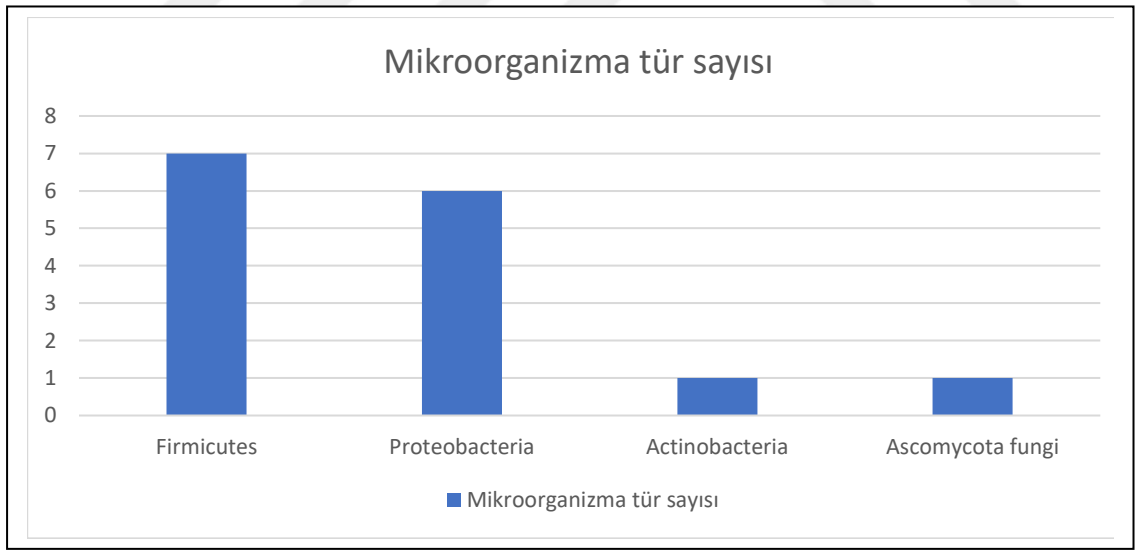
Şekil 15: Cinsiyete göre mikroorganizmaların dağılımı



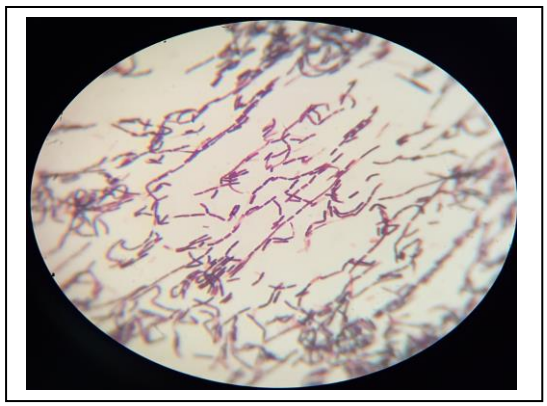
Şekil 12 : Yaş aralıklarına göre mikroorganizmaların dağılımı



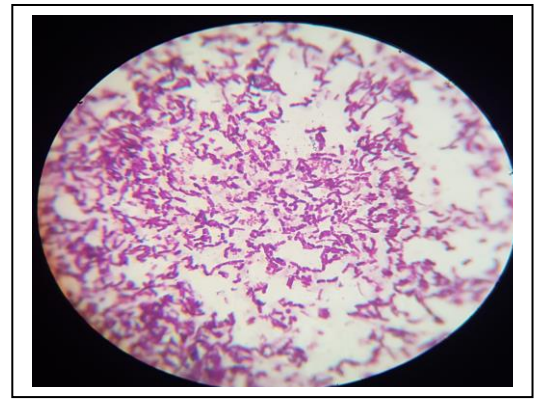
Şekil 16: Günlük diş fırçalama 'ya göre mikroorganizmaların dağılımı



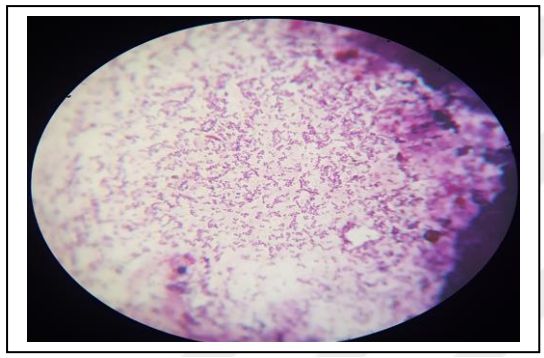
Şekil 17: Mikroorganizmaların filum ve türüne göre dağılımı



Şekil 19: *Basilus* mikroskopik görüntüsü



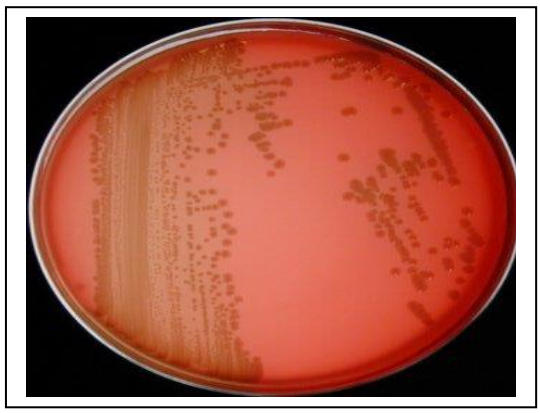
Şekil 18: *E. coli* mikroskobik görüntüsü



Şekil 20: *Hemafilus influenza* mikroskobik görüntüsü



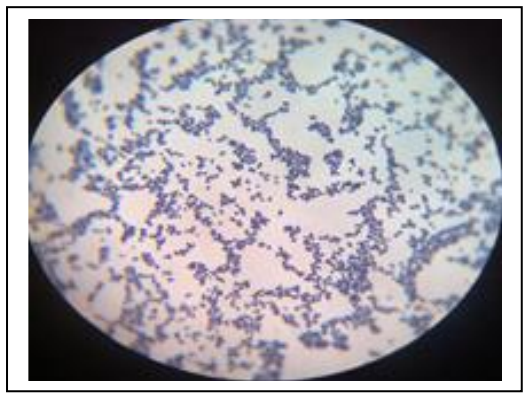
Şekil 21: *Morexella.sp* mikroskobik görüntüsü



Şekil 23: Alfa hemolitik streptokok plaktaki görüntüsü



Şekil 22: *Candida sp* mikroskobik görüntüsü



Şekil 24: Koagülaz negatif staphylokokların mikroskobik görüntüsü



Şekil 25: Streptokokların mikroskobik görüntüsü

Yukarıda gösterilen şekil 18 ile şekil 25 arasındaki mikroskobik[1] görüntüleri çalışmamızda üreyen bazı organizmalara ait görüntülerdir.

[1] Bakteri Mikroskop Görüntüleri (10x100) Büyütmededir.

5. Tartışma ve Sonuç

Delillendirme, bir olayı çözmek amacıyla olayın zamanı, mekânı ve mağduru ile fail kişi arasında bağlantı kuracak ispat vasıtalarını ortaya çıkarmaktır. Adli olayların aydınlatılması, delillendirmenin doğru ve planlı bir şekilde yapılmasına bağlıdır. Meydana gelen her türlü adli olaylar sonrası delillendirme maksadıyla, olay yerinde bulunan ve olayla ilgili herhangi bir nesne ve kişiler üzerinde sistematik inceleme ve araştırmalar yapılmaktadır. Dolaysıyla, bu faaliyetlerin tümüne olay yeri incelemesi denir. Olay yeri incelemesinde, olayı dolaylı veya dolaysız bir şekilde aydınlatmaya yarayacak her türlü materyal, kanıt olabilme maksadıyla delil olarak değerlendirmeye tabi tutulacaktır (111). Delillerin tanımlanması, toplanması ve suçluların tespitine yönelik çalışmaların bir kısmı adli bilimlerin alt dallarından biri olan adli mikrobiyolojinin ilgi alanıdır. Adli mikrobiyoloji araştırması, olay yeri incelemesi, delil zinciri uygulamaları, delil toplama, koruma, delil analizi, sonuçların yorumlanması gibi klasik delil çalışmalarının yanı sıra etkenin etiyolojisini ve tipini belirlemeye yönelik çalışmaları da içermektedir. Adli bilimlerin diğer bir alt dalı olan Adli Diş Hekimliğinin, suçun tespiti ve çözümünde veya hukuk davalarında kanun yaptırımına sunacağı çok şey vardır. Adli odontoloji, her yaştaki insanlar arasında istismarın tanınmasında önemli bir role sahipti (115, 116). İnsan dişlerinin parmak izi gibi özellikleri vardır ve ikizlerde bile farklılık göstermektedir. Isırık izlerinin karşılaştırılması, diş hekimliğinin adli bilime hayati katkısını temsil etmektedir. Isırık izleri, şüphelinin diş yapısının ve diş özellikleri ile karşılaştırılır. Olay yerinde koşullara bağlı olarak, suçlu kişi gıda maddelerinde, diğer nesnelerde, bir saldırı veya cinayet kurbanı üzerine bir ısırık izi bırakabilir veya farklı olarak, ölen bir kurban tarafından yaşayan bir saldırgan üzerinde de ısırık izi bırakabilir. Aynı zamanda, ısırık izlerinde vücut salgısı olan tükürük, birikebilmektedir (115, 117). Olay yerinde bulunan bu delilleri, kimi zaman gözle görülebilir, makroskobik düzeyde olabildiği gibi kimi zaman gözle görülmeyen, mikroskobik düzeydedir. Elde edilen bu mikroorganizmaların yapısı, popülasyonu, genetik yapısı ve filogenetik verileri adli bilimlerde önem taşımaktadır.

Adli vakalarda bulunan bu mikro düzeydeki delillerin var olmasından söz edilen, yeni bir çalışma alanı olan adli mikrobiyoloji de farklı toplumsal yaşantı sonucu, suçlu olan kişinin tanımlanması aksine masum olan kişileri korumak amacıyla, mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmıştır (3).

Tükürük, çeşitli mikroorganizmaların bulunduğu, ağız boşluğunda salgılanan ve ortamın pH'sını kontrol eden özel bir vücut sıvısı olmakla birlikte, adli vakalarda mühim bir kanıt olabileceğine yönelik çalışmalar hızla büyümektedir. Cinsel saldırı vakalarında insan derisi üzerinde, yalama, emme ve ısırmaya bağlı olarak ekimozlar ve çeşitli lezyonlar meydana gelebilir. Bu çeşit saldırı vakalarda, gerekli kanıtların toplanması önemli rol taşır (10; 16). İşte bu gibi durumlarda yalama, öpme, ısırma ve ısırık izlerinde biriktirilen tükürük sekresyonu, adli bilimciler için olaylara yön gösteren önemli bir kanıt olmuştur.

Olay yeri usul ve yöntemlerine göre nesnelerden veya kişilerden toplanan tükürük örnekleri genelde DNA uygulamaları için faydalanmaktadır veya sadece adli diş hekimliği açısından diş izleri morfolojik olarak tiplendirilmektedir. Dolaysıyla, *A.J. Jeffreys'in* tanımladığı genetik parmak izi metodu ile yapılan DNA çalışmaları günümüzde de Adli bilimlerde geçerliğini koruyan ve suç ilişkili olaylarda sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmuştur (118, 119). Ancak bu yöntem sadece bozunmamış yani; herhangi bir degrade veya dejenerasyona uğramamış örneklerde daha doğru sonuçlar vermektedir. Aynı zamanda ekonomi açısından çok pahalı kitler ve ekipmanlar gerektiren bir yöntemdir. Buna benzer, odontoloji çalışmalarında olay yerinde herhangi bir obje veya kişi üzerinde dişlerin bulunmaması durumunda ısırık izleri yeterli sonuçlar vermeyebilir (119).

Adli mikrobiyoloji incelemelerde mikroorganizmaların tanısı aslında tek bir yöntem ile yaklaşması yanlıştır. O nedenle diğer yöntemler de denenerek bir sonuca gidilmesinde fayda vardır. Dolaysıyla gelecekte pahalı ve rutinde henüz kullanılmayan pek çok metagenomik yöntemlerin ucuzlaması ileri tanı yöntemleri daha da yerini alacaktır. O nedenle

geleneksel (konvansiyonel) yöntemlerin hala hazırda altın standart olarak kullanılması çok önemlidir.

Tüm bu bilgilerin yaklaşımında bu tez çalışmamızda; adli vakalarda özellikle cinayet, cinsel saldırı, şiddet, istismar vb. gibi olaylarda nesnelerin, mağdur veya suçluların vücutlarında bulunabilmekte olan tükürük, konvansiyonel mikroskobik yöntemler kullanılarak adli bilimler açısından bu önemli insan biyolojik sıvısı tükürük sekresyonunda bulunabilecek İndikatör mikrobiyotanın varlıkları karşılatıralarak mikroorganizmaların (bakterilerin), birbirleriyle örtüşecek şekilde kıyaslanmasıyla ilgilidir. Isırık izlerinin fiziksel incelemelerin yanı sıra adli mikrobiyoloji ışığında mikroskobik bir yaklaşımı izlemeye çalıştık. Olay yerinde bulunabilen suçla ilişkili olabilecek her delil, karşılaştırma sonucu dışlama veya dahil etme açısından değerlendirmesi önemlidir (120).

Ek olarak, Şüpheli ile delil ilişkilendirmesinde kullanılabilecek her yöntem aynı amaç için uygulanmaktadır. Günümüzde gelişen teknoloji daha kısa sürede ve detaylı bilgi edinmeyi sağlarken mikrobiyoloji alanında kültüre edilemeyen, tanımlanamayan örnekler moleküler yöntemler ile tespit edilebilmektedir (121). Günümüzde teknolojinin geliştiği gibi planlı ya da plansız işlenen suçlarda da delil yok etme amacıyla farklı düşünce ve teknikler geliştirilmektedir. Bırakılan veya sahip olunan ısırık izini, tükürük lekelerinin silinmesi ya da DNA'yı yok etme çabalarına karşılık kişisel mikrobiyolatalarla ilişkilendirme farklı bir bakış açısı sağlamıştır.

Böylece var olan ısırık izlerini DNA uygulamalarına tamamlayıcı bir çalışmayla daha görünür ve kesin deliller olarak bakmamızı sağlayacak bir pencere açmayı hedefledik. Bu açıdan son zamanlarda mikrobiyolojiye yeni yaklaşımlar getiren; İnsan Mikrobiyom Projesi, İnsan Genom Projesi'nin deneysel bir devam projesi olarak geliştirilmiştir. Bu kapsamda aynı zamanda insan oral mikrobiyom olarak tanımlanan terimi de yer almaktadır (20). Ağız mikrobiyotası kişiler arası hatta aynı kişide oral boşluğu içeresinde farklı bölgelerde

değişiklikler gösterir. Bu dinamiklik ve farklılık ilişkisi anlamak için ağız içi boşluğu morfolojisi ve fizyolojisi farklı ekosistemlerde incelenebilir. İnsan gelişmesi ile orantılı olarak ağız içi kavitede farklı habitatlar yerleşip gelişiyor. Farklı anatomik ve fizyolojik yapılar, oksijen miktarı, besin türleri, sıcaklık ve konak savunma yanıtının etkisine göre oral mikrobiyotasında bazı mikroorganizma türleri daha baskın ve bol miktarda gözlenir. Ağız mikrobiyotasının bir habitatı tercih etmesindeki en önemli özellik, belirli bir alanın yüzeysel dokusunun; yumuşak veya sert dokulardan oluşup oluşmadığıdır (26). Ağız boşluğundaki yumuşak dokuların çoğunluğu oral mukoza oluşturmaktadır. Oral mukoza Sağlık ve Hastalıkta Oral Kavitelerine göre farklı alt tiplerde bulmaktadır (27).

Biz yapılan bu çalışmamızda, değişen yaşam şekli sahip olan bireylerin ağızındaki tükürük mikrobiyotasının değişim ve farklılığından faydalanarak adli kimliklendirme için yeni bir pencere açmayı hedefledik. Oral mikrobiyotanın büyümesini etkileyen faktörler sıcaklık, Anaerobiyoz, pH, Besinler, konak savunmaları, Konak genetik, Antimikrobiyal ajanlar ve inhibitörler yer almaktadır. Bunun yanı sıra, Oral mikrobiyota bileşimini etkileyen çok sayıda faktörler arasında implant, coğrafik konum, yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, sigara içme, ağız hijyeni, antibiyotik kullanımı ve muhtemelen genetik faktörler de söz konusudur (55; 38).

Çoğunluk olarak *Actinobacteria, Bacteroides, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes* ve *Saccharibacteri* filumları bulunmaktadır (26). Tükürük mikrobiyotası mikrobiyal içeriğinden zengin olduğu için çürük, periodontitis, ağız skuamöz, hücreli karsinom, pankreas kanseri gibi oral içi ve dışı sistemik hastalık durumunun teşhisinde çok önemli bir materyal olarak kullanılabilir (33).

Birçok çalışma raporlarına göre Antibiyotik kullanımı çok önemli özellikle yakın dönemde antibiyotik kullanımının tükürük mikrobiyotasının üzerinde ciddi etkileri olduğunu göstermiştir. Birçok çalışma sonuçları antibiyotik kullanımı çok önemli olduğunu göstermiştir. Özellikle yakın dönemde antibiyotik kullanımının ciddi etkileri vardır. Antibiyotik

kullanımından sonra bağırsak mikrobiyotasının normal durumuna dönmesi 6 ay veya hatta 4 yıldan fazla sürebilir, bu da antibiyotiğin tipine ve dozuna bağlıdır. Ek olarak metformin, proton pompa inhibitörleri da oral mikrobiyota üzerinde etkisi vardır (58). Ayrıca, sigara içme alışkanlığı, ağızdaki çeşitli zararlı değişikliklerle ilişkilidir. Duman, oral bakterilerle doğrudan temas eden birçok toksik maddenin büyük bir kaynağıdır; bu farklı toksik maddeler antibiyotik etkileri, oksijen yoksunluğu ve diğer potansiyel mekanizmalar yoluyla ağzın mikrobiyal ekolojisini bozabilir (59). Aynı zamanda alkol kullanmasında da kendi çapında etkileri vardır. Kırmızı likör ve şarabın oral mikrobiyota üzerindeki etkisi farklıdır. Likör, *S. mutans* gibi Gram-pozitif bakterilerin konsantrasyonunda ve sayısında bir artışa yol açabilir. Fermantasyon, damıtma veya olgunlaşma işlemlerinde üretilen özel safsızlıklar, kirleticiler, N-nitrosodietilamin ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar da oral ortamı değiştirir ve belirli türleri etkiler (65; 66). Tüm bu faktörler yanında, Gebelikte de oral mikrobiyota farklılıkları gözlenmiştir. Hamileliğin erken aşamalarında, hamile kadınlarda toplam üreyen mikrop sayısı önemli ölçüde artar. Hamileliğin 12 ila 28. haftalarından hiçbir değişiklik olmadan ancak geç hamilelik sırasında *Candida* türleri daha sık tespit edilmiştir (68). Ek olarak, her ailenin sosyoekonomik durumu aile üyelerinin eğitim kazanımları, sağlık kavramları, hijyen alışkanlıkları, beslenme düzenleri ve tıbbi hizmetlerin seçeneklerini belirler. Bu nedenle *Chu ve ark.* Sosyoekonomik durumu iyi ve kötü olan komşular arasında bir çalışma yapmıştır. Durumu iyi olanların zaman içinde önemli ölçüde değişebileceğine ve oral mikrobiyal çeşitliliği azaltma gösterirken düşük sosyoekonomik durumu olan komşularında ise orantısız olarak artış olduğunu görülmüştür (70).

Farklı yaştaki bireylerin oral mikrobiyotasında da anlamlı farklar gözlenmiştir. Bir çalışmada 8, 28 ve 56 yaşlarında rastgele seçilmiş üç kadının ağzından örnekler toplamışlardı, DNA'yı ekstrakte ederek ve 16S rRNA V_4 bölgesini amplifiye etmişler. Çalışma, çeşitli

bakterilerin, farklı yaş gruplarındaki kadınlarda denekleri kolonize ettiğini ortaya koyarak anlamlı farklılıklar görülmüştür (76, 77).

Buna ek olarak cep telefonu radyasyonunun insan oral mikrobiyomu üzerindeki etkisi hakkında hiçbir çalışma yapılmamıştır. Ancak mikrobiyomu etkileme olasılığı görülmektedir (78). Dolaylı olarak, artan tükürük akış hızı ve artmış tükürük bezi hacmi ve azalan protein salgısı ile ilişkili olduğu için bir çalışmada, cep telefonu kullanıcılarında tükürük akışı, toplam protein, albümin ve amilaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bu ve benzeri çalışmalar cep telefonlarının aşırı kullanımının tükürük miktarını ve kalitesini dolayısıyla oral ortamı değiştirebileceğini göstermektedir (79, 80).

Bu bilgilerin ışığında, kriminal adli olaylar bütününde soruşturmacıların yanıt aradığı (suçu kim işledi) sorusuna adli mikrobiyota ile cevap vermemizin göstermesi açısından önemli bir tez çalışması olmakla birlikte, oral mikrobiyotanın bireyler arasında objeler ile temas sırasında mikrobiyota transferinin ve yüzeylerdeki depolanma sırasında mikrobiyota parametrelerinin sürekliliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışmamızda; 30 kişinin ağız ve ısırılmış parmak svapları olmak üzere 60 farklı svabın besiyerine ekim işlemi yapılmıştır. Kişilerin tükürük mikrobiyotasında var olan tüm mikroorganizmalar (Tablo II) ve (Tablo III)'te gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre; bu mikroorganizmalardan en baskın tür olarak alfa hemolitik streptokoklar (ağız plaklarında 22 ve parmak plaklarında 13) olduğunu gösterilmiştir. *Kreth* ve arkadaşlarına göre; farklı türlerin tükürük mikrobiyotasında bulunması kişilerin beslenme, cinsiyet, yaş, restoratif dişlerde oluşan galvanik akım, ağız içi pH, yabancı cisim ısırma alışkanlığı gibi çeşitli şartlardan kaynaklanmaktadır (122). Yine yapılan başka bir çalışmada oral mikrobiyota mikroorganizmaların oransal olarak en baskın bakterileri streptokoklardır ve ısırma eyleminde objelere tükürük ile taşınmaktadır (123). Çalışmamızda mikroorganizmalar arasında her iki modül için en çok gözlenen alfa hemolitik streptokoklara göz atacak olursak; bu durum bize

alfa hemolitik streptokokların izlediği yayılmacı stratejiyi avantaja çevirmemize olanak sağlamaktadır. Şöyle ki tükürük mikrobiyotası bildiğimiz bir kişinin herhangi bir objede bıraktığı ısırık izlerinde var olan mikroorganizmaları tespit ettiğimizde hedef olan bu kişiye ulaşma şansımızı artırmış olabileceğinin bir göstergesi olarak değerlendirilebileceğini düşünüyoruz. Adli bilimlerde bilindiği üzere bir olayla ilişkilendirme oransallık hipotezinde ya dahil etme ya da dışlama terimiyle örtüştüğünü söylemek mümkündür.

Çalışmamızda ilk önce katılan her bir deneğin ağzından svaplar alındı ve daha sonra bireylerden sağ el işaret parmağını 5 saniyelik süre ısırarak tutulması istenmiştir daha sonra ısırılan bölgenden svaplar alınmıştır. Tüm plaklar incelendiğinde en yoğun mikroorganizma içeren örnekler, ağız svaplarının ekildiği plaklar olduğunu gösterilmiştir. Isırılmış parmak svaplarının ekildiği plaklarda daha az oranda mikroorganizmalar görülmektedir (Tablo IV). Bu durum, parmağın ağızda ne kadar süre tutulduğu ve ağzın hangi anatomik bölgelere değdirildiği ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Dolaysıyla ısırma işleminde parmak sadece dudak, diş ve dil ucuna değdirilerek az miktarda mikroorganizmaların transferi olmuştur. Bu nedenle bir objenin veya ısırık izinin ağızda tutulma süresinin ve ağız anatomik alanların değdirilmesi mikrobiyota transferi de kimliklendirme açısından tartışılır bir konu olabilmektedir (119). Sigaraya bakıldığında özellikle kullanmayan kişilerde neredeyse yok denecek kadar az sayıda mikroorganizmalara rastlamaktayız. Bu durum sigaranın sadece dudakla temas etmesi, alan olarak nüfuz ettiği dudak bölgesinin dar olması ve kısa sürede içilmesine bağlı kaldığı söylenebilir.

Öte yandan, Bir mikrobiyal popülasyonun kompozisyonu onun habitatı tarafından belirlenir. Habitatlar ve habitatların kendi popülasyonları arasındaki farklılıklar, çeşitli kriminal davalarda mikrobiyal popülasyonların kullanımı için potansiyel yaratmaktadır dolayısı ile çalışmamızla objeler ve olay yeri/kişi ile hücre tipi kimliklendirme arasındaki bağlantıların saptanmasında adli bilimlerle ilgili bazı mikrobiyal popülasyonların potansiyelini

ortaya çıkarılmıştır (11). Bizim çalışmamızda ise asıl amaç tükürük mikrobiyotasının adli kimliklendirme açısından değerlendirilmesi için, denek seçim kriterlerimizi gerçek bir suç vakasında olabileceği gibi olasılıkların sınırlandırılmayacağı bir şekilde serbest bıraktık. Deneklerin tükürük içinde var olan mikroorganizmalrın miktarı ve türü, kişinin günlük hayattaki beslenme şekli, sigara içme alışkanlığı, yaş, cinsiyet, kronik hastalık ve oral implant gibi değişik davranışları ile ilişkisi adli kimliklendirme açısından değerlendirilmesi ve popülasyonda bir kişiye ait mikroorganizmaların tespit edilmesi; kişilerin o popülasyonda diğer bireylere göre mikrobiyolojik açıdan fark oluşturup oluşturmayacağının araştırılması da hedeflenmiştir. Çalışmamızın standartlara uygun olarak deneklerin anket formu doldurarak %40'ı erkek ve %60'ı kadınlardan oluşan 30 farklı bireyler katılmıştır. Gönüllü olarak katılan bu kişilerin ağzı ve parmaktan svap numunesi alınmıştır. Alınmış toplam 60 svap örneği 4 farklı (Kanlı Agar, Çikolatalı Agar, *Chrom* Agar, *MacConkey* Agar) besiyerlerde ekimi yapılmıştır. Materyallerin laboratuvar analiz sonucu bu 4 farklı besiyerlerdeki üreyen mikroorganizmalar toplam 15 tür gözlenmiştir. Gözlenen bu mikroorganizmalar ve deneklerin yaşam davranışları arasındaki ilişkiler ve karşılaştırmalar ayrı ayrı *Pearson* Ki-kare testi kullanılarak belirlenmiştir. İstatistiksel veri analiz sonucu, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için diğer mikroorganizmalar ve deneklerin davranışları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak *Candida sp* ile deneklerin günlük diş fırçalama sıklığı arasındaki Ki-Kare Testi'nde anlamlılık değerinin p=,000 olduğu görülmektedir (Tablo VII) ve (Tablo VIII). Bu değer $p<0,05$ şartını karşıladığından ötürü *Candida sp* ile günlük diş fırçalama sayısı arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu gösterilmiştir.

Mayalar ökaryotik organizmalardır ve *Candida* cinsi ağız boşluğu için en önemli elemanlar olarak nitelendirilir. Ağız mikrobiyotasının az bir kısmını oluşturur ve mikobiyom olarak da adlandırılır. Oral yüzeyinde en çok *Candida* grubu mantarlar bulunmaktadır (40).

Hadžic S ve arkadaşlarına göre, önceki çalışmalar, kötü ağız hijyeni ile bakteri ve mantar gelişimi arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Kötü ağız hijyeni, oral homeostaz bozukluklarına ve bakteri ve mantar sayısının artmasına neden olmaktadır (124). *Darwazeh* ve arkadaşlarına göre oral kandidal taşıma hızı ve yoğunluğu, diş plağı veya dişeti durumundan etkilenmedi. Diş ipi kullanmayanlarda oral kandidal taşıyıcılık prevalansı, diş ipi kullananlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gösterilmiştir (125).

Benzer şekilde *Neisseria sp* ile deneklerin sigara içme alışkanlıkları arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla bu iki değişken arasında da çapraz değerlendirme yapılarak Ki-Kare Testi uygulanmıştır (Tablo IX) ve (Tablo X). Çalışmadaki tüm üreyen mikroorganizmaların plaklarındaki dağılımın %56,7'i *Neisseria sp* oluşturmaktadır. Bu durumda, toplam 30 deneğin sigara içen sayısı 8 ve içmeyenlerin sayısı ise 22 olacak şekilde gösterilmektedir. Tablodaki verilere göre sigara içenlerde hiç *Neisseria sp* görünmezken toplam 22 sigara içmeyen deneklerin 17'sinde net olarak görülmektedir. Anlamlılık değerinin p=,000 olduğu için *Neisseria sp* ile sigara-içme alışkanlığı arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu söylenebilir. Sigara içmenin ağzın mikrobiyal ekolojisini büyük ölçüde değiştirmesi şaşırtıcı değildir. Nitekim, diğer bazı çalışmalar da sigara içmenin oral bakteriler üzerindeki etkilerini gözlemlemiştir. Kültüre dayalı yöntemler kullanan ilk in vitro çalışmalar, sigara dumanının *Neisseria* sp türlerinin büyümesi üzerinde güçlü bir engelleyici etkiye sahip olduğunu belirtmiştir (126). *Jing Wu* ve arkadaşları Sigara içenlerde düşük *Neisseria* seviyesinin görülmesi, sigaranın neden olduğu ağız ekolojisinin değişmesi ve ağız boşluğunda oksijen yoksunluğunun etkisiyle ilişkili söylemiştir. Bu bulgu, sigara dumanının aeroblara göre fakültatif anaerobları tercih eden bir ortam yarattığını göstermektedir (127). Proteobakteri filumunun nispi bolluğunun sigara içme durumuna göre önemli ölçüde farklılaştığını ve mevcut sigara içenler arasında Proteobakterilerin açık bir şekilde tükendiğini bulmuştur (62). Bulgularımızda gerek tükürük gerekse ısırılan parmaktaki mikroorganizma

çeşitliği sindirim kanalındaki bazı türlerin temsilcisi olduğu *Tsuda* ve arkadaşların bu araştırmanın yaptığı çalışmayla ilişkilendirmek mümkün olacaktır (31).

Bu durumda, kişilerin herhangi bir yer, olay ve objede bıraktığı ısırık izi o kişiyi ele verecek hale gelmektedir. Yani *Neisseria sp'*nin görülmediği bir matreryal da kişinin sigara kullandığını ortaya çıkartmaktadır. Benzer şekilde olay yerinden elde edilen materyalde *Candida sp*'nin varlığı kişinin kötü ağız hijyene sahip olduğunu göstermektedir. Bu durumlar kimliklendirmede dışlanma olasılığı olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Söylemesi gereken önemli bir husus şu ki, bu süreçte tüm dünya COVİD-19 global pandemiye karşı denk gelmiştir. Yaptığımız çalışma sonuçları daha önce yapılan benzer çalışmalara nazaran dönemdeki farklı ortam şartlarından dolayı değişiklik gösterebilir. Bunun sebebi içinde bulunduğumuz pandemi süreci insanların yaşam şartlarını etkilemiş, doğal olarak hijyene verilen önem artırılmıştır. Bununla birlikte, ortamın haraketliliği, beslenme şekillerinde değişiklik ve artırılan sağlık önlemleri tükürük mikrobiyotasındaki değişiklere neden olabileceğini göz ardı etmemek gerekir. Yapılan bazı çalışmalar COVİD-19 dönemindeki araştırmamızın tükürükte bulunan streptokokların (bakterin) yetersiz hijyen ve sanılasyon eksikliği ile hastalığa (pnömoni) yatkınlığını artırabileceğini söylemek mümkün olacaktır. Çalışmadaki bazı koşulları örneğin *Neisseria sp'*nin sigara kullanmayan kişilerde bulunmaması, kalan (yaş, cinsiyet, kronik hastalığı vb. gibi) diğer davranış ve özelliklerin mikroorganizmalar ile ilişkisi anlamlı olup olmadığı bu sürecin etkisinden kaynaklanmakta olduğunu düşünmekteyiz. Tezimizde anaerobik mikroorganizmaları araştıramadık çünkü geç, güç ve zor üreyen bu mikroorganizmalar belki de tükürüğe salgıladıkları bazı kimyasal maddeler diğer üreyebilecekleri de engelleyebileceklerini söylemek mümkündür.

DNA identifikasyonu Adli bilimlerde en çok kullanılan yöntem olmasına rağmen kontamine veya degrade örnek sorunlara sıkça rastlanmaktadır ve bu nedenle değerlendirme için yetersiz kalmaktadır. Bu gibi durumlarda aynı veya farklı delil materyalinin farklı

yöntemle incelenmesi olayın açıklanabilmesi için yön vericidir (128). Bu açıdan suç soruşturmasında şüpheli kişilerin var olan bozunmuş ya da yetersiz olan ve ısırık izlerinden elde edilen DNA prosedürünün işlemediği durumlarda veya genotipik yaklaşımlara ek olarak tamamlayıcı bir sonuç elde etmek amacıyla bu çalışmayı adli bilimlere kazandırmış bulunmaktayız. Tükürükte var olan mikrobiyotayı pahalı ve farklı ekipmanlar gerektiren genotipik tanımlamanın aksine; ekonomik açıdan ucuz fenotipik ve morfolojik özelliklerden yararlanarak tanımlamak ve belirlenen bu mikroorganizmaların bir kişinin diğer kişilere göre ne kadar özgün ve karakteristik özelliklerine sahip olduğunu kontrol ederek adli bilimlerde kimliklendirilme açısından önemini araştırdık. Çalışmanın geleceğine dair; aslında yapılacak pek çok mikrobiyotadaki tükürük çalışmaları ile, tükürük mikrobiyotasının adli bilimlerde kimliklendirme ile kullanılmasına bir basamak teşkil etmesi açısından; ülkemizin adına yapılan ilk orijinal çalışmalardan biri olması açısından da önemli olduğu söylenebilir. Aynı zamanda gelecekte tüm dünyayı etkileyecek olan mikroorganizmalara karşı ucuz tanı ve tedaviye yönelik çalışmaların uygulama ve kullanım alanlarını geliştirilmesi gerekecektir.

Son olarak, Çeşitli ortamlarda nesneler üzerinde bırakılan mikrobik özelliklerin, adli uygulamalar adına faydalı bir mikrobik parmak izi oluşturmak için yeterli bir model bırakıp bırakmadığının yakın gelecekte, tıpkı bir dedektifin eşsiz bir izi algılayabildiği gibi, farklı tanı ve teknolojileri kullanarak mikrobiyal bir izi algılayıp takip edilebileceğini söyleyebiliriz.

6. Kaynakça

1. Murangira BT. Improving Rwandan Criminal Justice through forensic DNA evidence: An appraisal., Beijing, *Scientific Research Publishing,* 2016;7:400-419.

2. Wickenheiser RA. Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. *J Forensic Sci,* 2002*;* 47(3):442–450

3. Breeze R., Budowle B., Schutzer S. Adli Mikrobiyoloji, Çvr: Prof. Dr. Özdem Anğ, Ankara, Nobel Tıp, 2011

4. Ayşim T. Adli bilimler ve mikrobiyoloji. *Adli Tıp Dergisi,* Ankara, 2009;23(1): 47-55

5. Aaspollu A., Lillsaar T., Tummeleht L., Simm J., Metsis M. Can microbes on skin help linking persons and crimes?, *ScienceDirect,* 2011; 3(1): 269-270

6. Gupta VK., Paul S., Dutta C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol,* 2017,23;8:1162

7. Kapoor P., Aman, Ch. Salivary Signature in Forensic Profiling: A Scoping Review. *National Library of Medicine,* Hyderabad, 2018, 10(3): 123-127

8. Anazi-kanto E., Hirata MH., Hirata RDC., Nunes FD., Melani RFH., Oliveira RN. DNA Extraction From Human Saliva Deposited on Skin and Its Use in Forensic Identification Procedures, *Brazilian Oral Research,* 2005;19(3): 1807-3107

9. Nicole Marie D. Evaluation of Phadebas Forensic Press test paper as a source of biological material for immunochromatographic testing and DNA analysis. *Boston University,* United States, 2014.

10. Volkan G. Tükürüğün Biyokimyası, İşlevleri ve Ağız Sağlığı Açısından Önemi, *Yök Ulusal Tez Merkezi,* Izmir, 2005, Bitirme Tezi.

11. Kaya A. Adli bilimlerde insan el florasındaki bakterilerin kimliklendirme amaçlı kullanımı. *Yök Ulusal Tez Merkezi,* İstanbul, 2018, Yüksek lisans tezi.

12. Beytullah K., Şükriye K., Nurdan S. Biyolojik Delillerin Tespitinde Kullanılan Tarama ve Doğrulama Testleri ve Bu Konudaki Son Gelişmeler. *J Foren Sci Leg Med*, Istanbul, 2018; 15(2): 80-92

13. Breeze R., Budowle B., Schutzer S. Adli Mikrobiyoloji, Çvr: Prof. Dr. Özdem Anğ. Ankara: Nobel Tıp, 2011.

14. Erol A. Cinsel İstismar ve Saldırı Suçlarına İlişkin Sorunlar-Eleştiri ve Öneriler/ruh Sağlığının Bozulması Kavramı, Muğla: *Türk Hukuk sitesi*, 2009.

15. Okkesim A., Mısırlıoğlu M., Adışen MZ., Akyıl YY. Adli Bilimlerde Diş Hekimliğinin Yeri. *Jornal of clinical science*, 2018; 9(1): 1593-1600

16. Kılıççıoğlu DB., Yücel Beyaztaş F., Aydın H., Aker M. Sürüntü yöntemiyle deri üzerindeki tükürük kalıntılarında amilaz enzim aktivitesinin tespiti. *Adli Tıp Dergisi*, Sivas. 2005; 19(3): 23-28

17. Karademir A., Karadayı B., Çakan H., Öz V., Çevik F.E., Karadayı Ş. Okul Kantinlerindeki Yiyeceklerin Adli Mikrobiyolojik Açıdan Değerlendirilmesi. *Med-Science*, İstanbul, 2014; 3(3): 1456-1469

18. Marsh PD., Do T., Beighton D., Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000*, 2016; 70(1): 80-92

19. Raju SC., Lagström S., Ellonen P., de Vos WM., Eriksson JG., Weiderpass E., et al; Gender-Specific Associations Between Saliva Microbiota and Body Size. 00767, Helsinki Finland, *Front. Microbiol*; 10 April 2019

20. Kilian M., Chapple I L C., Hannig M., Marsh PD., Meuric V., Pedersen AML, et al; The microbiome- an update for oral healthecare professionals. *Br Dnet*, 2016; 221(10): 657-666

21. Chen T. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database (Oxford);* 2010; PMC2911848,

22. Pgajare. eHOMD. Expanded Human Oral Microbiome Database. [Çevrimiçi] eHOMD updated to V9.13, 23 10 2020.

23. Dewhirst FE., Chen T., Izard J., Paster BJ., Tanner ACR., et al. The Human Oral Microbiome. *jornal of bacteriology*, 2010; 192(19): 5002-5017

24. Digvijay V., Pankaj KG., Ashok KD. Insights Into the Human Oral Microbiome., *Arch Microbiol*, 2018; 200(4):525-540

25. Nimish D., Priya., Deshmukh, R. Oral microbiome: Unveiling the Fundamentals. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2019, 23(1): 122-128

26. Huttenhower C., Gevers D. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Project, The Human Microbiome*. 2012, nature 48:207–214

27. Sabine EG., Joerg, M. Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontol 2000,* 2015; 69:46-67

28. Chen J., Ahmad R., Li W., Swain M., Li Q. Biomechanics of oral mucosa. *J R Soc Interface*, 2015; 12(109): 20150325

29. He J., Li Y., Cao Y., Xue J., Zhou X. The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. *Folia Microbiol (Praha)*, 2015; 60(1): 69-80

30. Sato Y., Yamagishi J., Yamashita R., Shinozaki N., Ye B., Yamada T., et al. Inter-Individual Differences in the Oral Bacteriome Are Greater than Intra-Day Fluctuations in Individuals. *PLoS One*, 2015;10: e0131607,

31. Kodukula K., Faller DV., Harpp DN., Kanara I., Pernokas J., Pernokas M., et al. Gut Microbiota and Salivary Diagnostics. *BioResearch Open Access,* 2017;6(1):

32. Zhang CZ., Cheng XQÇ, Li JY., Zhang P., Yi P., Xu X., et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci,* 2016; 8(3): 133-137

33. Yılmaz D., Altındiş M. Sağlık ve Hastalıkta Oral Kavite Mikrobiyotası. *J Biotechnol and Strategic Health Res,* sakarya, 2018; 2(1): 9-21

34. Takahashi, N. Microbial ecosystem in the oral cavity: Metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. *International Congress Series*, 2005;1284: 103-112

35. Collins LM., Dawes C. The surface area of the adult human mouth and thickness of the salivary film covering the teeth and oral mucosa., *Dent Res*, 1987; 66(8): 1300-1302

36. Dewhirst FE., Chen T., Izard J., Paster BJ., Tanner ACR., Yu WH., et al. The human oral microbiome. Bacteriol, 2010;192: 5002-5017

37. Jiang WX., Hu YJ., Gao L., He ZY., Zhu CL., Ma R., et al. The impact of various time intervals on the supragingival plaque dynamic core microbiome. *PLoS One*, 2015; 10(5): 0124631

38. Chaturvedi M., Punj A. Human oral microflora. *İjcar*, 2018;7(7): 14065-14070; ISSN: O: 2319-6475.

39. Faran ali SM., Tanwir F. Oral microbial habitat a dynamic entity. *Oral Biol Craniofac Res*, 2012; 2(3): 181-187

40. Saeed S., Hasan S., Kuldeep., Parmar SS., et al. Conventional and Recent Diagnostic Aids in oral Candidal Infections: A Brief overview. *Biomed Pharmacol*, 2017;10(1):

41. Krishnan PA. Fungia infection of the oral mucosa. indian, *Dent Res*, 2012, 23: 650-659

42. Hans-peter H., Georg C. Methanogenic Archaea and oral infections – ways to unravel the black box. *Division of Oral Microbiology and İmmunology RWTH*, 2011; 5940, Aachen, Germany

43. Lepp PW., Brinig MM., Ouverney CC, Palm K., Armitage GC., Relman DA. Methanogenic Archaea and human periodontal disease. *PNAS*, 2004;101(16): 6176-6181

44. Kumaraswamy KL., Vidhya M. Human papilloma virus and oral infections: An update. *Can Res Ther*, 2011;7(2): 120-127

45. Huai-Chia C., Jong-Ding L., Wen-Chuan H. Pathogenesis and mechanism of disease progression from hemophagocytic lymphohistiocytosis to Epstein-Barr virus-associated T-cell lymphoma: nuclear factor-kappa B pathway as a potential therapeutic target. *Cancer Sci,* 2007;98(9):1281-1287

46. Jorgen S. Oral viral infections of adults. *Periodontology 2000,* 2009; 49: 60-86

47. Singh JA., Sunita VS., Bandewar B., Bukusi EA. The impact of the COVID-19 pandemic response on other health research. *Bulletin of the World Health Organization.* 2020;98: 625-631

48. Khurshid Z., Ibrahim Asiri FY., Al Wadaani H. Human Saliva: Non-Invasive Fluid for Detecting Novel Coronavirus (2019-nCoV). *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(7): 2225

49. Braz-Silva PH., Pallos D., Giannecchini S., Kai-Wang To K. SARS-CoV-2: What can saliva tell us?. *Oral Dis*, 2020, Cilt 10.1111.

50. Sabino-Silva R., Gomes Jardim AC., Siqueira WL. Coronavirus COVID-19 impacts to dentistry and potential salivary diagnosis. *Clin Oral Investig*, 2020;24(4): 1619-1621

51. Golda A., Malek N., Dudek B. Infection with human coronavirus NL63 enhances streptococcal adherence to epithelial cells. *J Gen Virol*, 2011;92: 1358–1368.

52. Scannapieco F., A. Role of Oral Bacteria in Respiratory Infection. *J Periodontal Res*, 1999;34: 340–345

53. Sampson V., Kamona N., Samps A., Could there be a link between oral hygiene and the severity of SARS-CoV-2 infections?. *British Dental Journal*, 2020;228:12

54. Moore SC., Penrice-Randal R., Alruwaili M., Dong X., Pullan ST., Carter DP., et al. Amplicon based MinION sequencing of SARS-CoV-2 and metagenomic characterisation of nasopharyngeal swabs from patients with COVID-19. *MedRxiv*, 2020; doi: 10.1101/2020.03.05.20032011:

55. Lazarevic V., Whiteson K., Hernandez D., François P., Schrenzel J., et al. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genomics*, 2010; 523(11): 1471-2164

56. Ling Z., Liu X., Jia X., Cheng Y., Luo Y., et al. Impacts of infection with different toxigenic Clostridium difficile strains on faecal microbiota in children. *Sci Rep*, 2014;4: 7485

57. Ferrer M., Méndez-García C., Rojo D., Barbas C., Moya M., et al. Antibiotic use and microbiome function. *Biochem Pharmacol*, 2017;134: 114-126

58. Köroğlu M. Mikrobiyota Çalıştayı Sonuç bildirgisi. *Sakarya üniversitesi*, 2017.

59. Zerbska C., Martina T. Psychoneuroendocrinology Research Trends. *new york : Nova Biomedical Books*, 2007. ISBN-10: 1-60021-665-X (hardcover).

60. Macgregor D. Effects of smoking on oral ecology. A review of the literature. *Clin Prev Dent*, 1989; 11(1): 3-7

61. Wu J., Peters BA., Dominianni Ch., Zhang Y., Pei Z., et al. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *ISME*, 2016;10: 2435-2446

62. Macgregor ID. Effects of Smoking on Oral Ecology. A Review of the Literature. Clin *Prev Dent*, 1989;11(1): 3-7

63. Willis JR., Gabaldon O. The Human Oral Microbiome in Health and Disease: From Sequences to Ecosystems. *Microorganisms*, 2020;8(2):308

64. Wu J., Peters BA., Dominianni Ch., Zhang Y., Pei Z., et al. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *ISME*, 2016;10: 2435-2446

65. Jabbour Z., Nascimento C. Assessing the oral microbiota of healthy and alcohol-treated rats using whole-genome DNA probes from human bacteria. *Arch Oral Biol*, 2013;58: 317-323

66. Wight AJ., Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer a review. *Oral Oncol*, 1998; 34: 441-447

67. Daglia M., Papetti A., Grisoli P.,Aceti C., Dacarro C., Gazzani G. Antibacterial activity of red and white wine against oral streptococci. *Agr Food Chem*, 2007;55(13): 5038–5042

68. Fujiwara N., Tsuruda K., Lwamoto Y. Significant increase of oral bacteria in the early pregnancy period in japanese women. *İnvesting Clin Dent*, 2015;8: 12189-12197

69. Belstrom,D., Holmstrup P., Nielsen CH., Kirkby N., Twetman S., et al. Profiles of saliva in relation to diet, lifestyle factors, and socioeconomic status. *Oral Microbiol*, 2014;6: 1-9

70. Miller GE., Engen PA., Gillevet PM., Shaikh M., Sikaroodi M., Forsyth CB., et al. neighborhood socioeconomic status associated with reduced diversity of the colonic microbiota in healthy adults. *Plos One*, 2016;11: e0148952–e0148969.

71. Morton ER., Lynch J., Froment A., Lafosse S., Heyer E., Przeworski M., et al. Variation in Rural African Gut Microbiota Is Strongly Correlated with Colonization by Entamoeba and Subsistence. *PLoS Genet*, 2015; https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005658.

72. Moossavi S. The Necessity for an Iranian Gut Microbiome Initiative. *Middle East J Dig Dis*, 2014;6(2): 109–110

73. Gupta VK., Paul S., Dutta C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol*, 2017,23;8:1162

74. Li J., Quinque D., Horz HP., Li M., Rzhetskaya M., et al; Comparative analysis of the human saliva microbiome from different climate zones: Alaska, Germany, and Africa. *BMC Microbiology*, 2014; Article number, 14.

75. Mason MR., Nagaraja HN., Camerlengo T., Joshi V., Kumar PS., et al. Deep Sequencing Identifies Ethnicity-Specific Bacterial Signatures in the Oral Microbiome. *Plos One*, 2013; 8: e77287. doi: 10.1371

76. An JY., Darveau R., Kaeberlein M., Oral health in geroscience: animal models and the aging oral cavity. *Geroscience*, 2018; 40(1): 1-10

77. Anukam KC., Agbakoba NR. A comparative study of the oral microbiome compositions of healthy postmenopausal, premenopausal, and prepubertal Nigerian females, using 16s rRNA metagenomics methods. *J Clin Pract,* Niger. 2017; 20(10):1250-1258

78. Bhargava Sİ., Motwani MB., Patni VM. Effect of handheld mobile phone use on parotid gland salivary flow rate and volume. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol,* 2012;114(2): 200-206

79. Goldwein O., Aframian DJ. The influence of handheld mobile phones on human parotid gland secretion. *Oral Dis,* 2010;16(2): 146-150

80. Hamzany Y., Feinmesser R., Shpitzer T., Mizrachi A., Hilly O., Hod R., et al. Is human saliva an indicator of the adverse health effects of using mobile phones?. *Antioxid Redox Signal,* 2013;18(6): 622-627

81. Özdemir, A. Mikrobiyota Çalıştayı Sonuç bildirgisi. Sakarya üniversitesi, 2017.

82. Lassalle F., Spagnoletti M., Fumagalli M., Shaw L., Dyble M., Walker C., et al. Oral microbiomes from hunter-gatherers and traditional farmers reveal shifts in commensal balance and pathogen load linked to diet. *Mol Ecol,* 2018;27(1): 182-195

83. Brito IL., Yilmaz S., Huang K., Xu L Jupiter SD., Jenkins AP., et al. Mobile genes in the human microbiome are structured from global to individual scales. *Nature,* 2016;535(7612): 435-439

84. Gao L., Xu T., Huang G., Jiang S., Gu Y., Chen F., et al. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell,* 2018;9(5): 488-500

85. Romanos GE., Weitz D. Therapy of peri-implant diseases. Where is the evidence?. *Evid Based Dent Pract,* 2012 sep; 12(3): 204-208

86. Pokrowiecki R., Mielczarek A., Zaręba T., Tyski S. Oral microbiome and peri-implant diseases: where are we now?. *Ther Clin Risk Manag,* 2017;13: 1529-1542

87. Anil K., Nikita CH. Role of Microbes in Human Health. *Appli Microbiol Open Access,* 2017;3(2): 2471-9315

88. Strużycka I. the Oral Microbiome in Dental Caries. *Polish Journal of Microbiology,* Medical University of Warsaw, Poland, 2014; 63(2): 127-135

89. Vural Ç. Ağız Bölgesi Kanserleri. http://www.cetinvural.com/agiz-bolgesi-kanserleri/.

90. Hillson S. Teeth second edition. New York : *Cambridge University Press*, 2005. ISBN-10 0-521-54549-8 Paperback.

91. Hoffman, M. Picture of the Tongue. *WebMD Image Collection.* New York Times Health Guide: Leukoplakia., 2019.

92. Singh, DR. Cavitas Oris (Ağız Boşluğu) İçindeki Yapılar: Dil (Lingua). Diş Hekimliği için Anatominin Temelleri. *İstanbul Tıp Kitabevleri,* 2019: 543-560

93. Masashi, K; Kervancıoğlu, P; Bahş, İ; Çvr: Orhan, M; et al; Ectopic Oral Tonsillar Tissue: A Case Series with Bilateral and Solitary Presentations and a Review of the Literature. *Case Reports in Dentistry* , 2015;6 Article ID 518917.

94. Nuwan M., Brian WD. Anatomy, Head and Neck, Palatine Tonsil (Faucial Tonsils). *StatPearls* , 2020.

95. Trotta BM., Pease CS., Rasamny JKJ., Raghavan P., Mukherjee S. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell cancer: key imaging findings for staging and treatment planning. Radiographics, 2011; 31(2): 339-354

96. Duce MN. Ağız ve Ağız Boşluğu. *Trd Sem,* 2018;6:413-431,

97. Şehrazat E. Ağız Kuruluğu. *ADO Klinik Bilimler Dergisi,* 2011;5(1): 804- 809

98. Alexander TK., Alok AB. Review of the Major and Minor Salivary Glands, Part 1: Anatomy, Infectious, and Inflammatory Processes. *J Clin Imaging Sci,* 2018, Cilt 8:47

99. Cao Li H., Zhou H T., Hou Y. Lip position analysis of young women with different skeletal patterns during posed smiling using 3-dimensional stereophotogrammetry. *Am J Orthod Dentofacial Orthop,* 2019;155(1): 64-70

100. Liu X., Daugherty R., Konofaos P. Sensory Restoration of the Facial Region. *Ann Plast Surg*, 2019, 82(6):700-707

101. Sălan AI., Mărăşescu PC., Camen A., Ciucă EM., Matei M., Florescu AM., et al. The prognostic value of CXCR4, α-SMA and WASL in upper lip basal cell carcinomas. *Rom J Morphol Embryol,* 2018;59(3) 839-849

102. Naidoo S., Bütow KW. Philtrum reconstruction in unilateral cleft lip repair. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2019;48(6): 716-719

103. Kilian M., Chapple ILC ., Hannig M., Marsh PD., Meuric V., Pedersen AML., et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *Br Dent jornal,* 2016; 221(10): 657-666

104. Aydın M., Mısırlıgil A. Ağız mikrobiyolojisi. *MN medikal Nobel Kitapevi,* İstanbul: 2012.

105. Gibbons RJ. Bacterial Adhesion to Oral Tissues: A Model for Infectious Diseases. *Forsyth Dental Center and Harvard School of Dental Medicine,* 1989;750-760.

106. Yıldız G., Yavuz MF., Asırdızer M., Yavuz MS. Tükürük Kalıntılarından Cilt Sürüntü Yöntemi ile Amilaz Tespiti. *Adli Tıp Dergisi*, İstanbul, 2003;17(1): 1-10

107. Barutçu Ö. Tükürük α-amilaz aktivitesinin farklı yöntemlerle ölçülmesi ve stres fizyolojisinde kullanımı. *malatya inönü üniversitesi, fizyoloji anabilim dalı* , 2017; Yüksek Lisans Tezi .

108. Akpınar O. Orofasiyal mikrobiyota. *Akademisyen Kitabevi A.Ş.*, 2020; 978-605-258-944-1

109. Susmita S., Sanjeev K. Saliva in forensic odontology: A comprehensive update. *Oral Maxillofac Pathol*, Muradnagar, Uttar Pradesh, 2015;19(2): 263-265

110. Nanda KDS., Ranganathan K., Umadevi KM., Joshua E, et al. A rapid and noninvasive method to detect dried saliva stains from human skin using Fluorescent spectroscopy. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, Tamil Nadu İndia 2011;15(1): 22-25,

111. Dinler V. Ceza Muhakemesinde Delillerin Toplanması. *Yök Ulusal Tez Merkezi,* Istanbul, 2009. Yüksek Lisans Tezi

112. Özen M., Özocak G. Adli Bilişim,Elektronik Deliller ve Bilgisayarlarda Arama ve El Koyma Tedbirinin Hukuki Rejimi (CMK M. 134*). Ankara Barosu Dergisi,* Ankara, 2015.

113. Ruitberg CM., Reeder DJ., Butler JM. A short tandem repeat DNA database for the human identity testing community. *Nucleic Acids Res,* 2001; 29(1): 320-322

114. Zeyfeoğlu Y., Hancı İH. İnsanlarda Kimlik Tespiti., İzmir: 2011;10:10-375

115. Louise Avon S. Forensic Odontology:The Roles and Responsibilities of the Dentist. *J Can Dent Assoc,* 2004;70(7):453–458

116. Tuğ A. Adli bilimler ve mikrobiyoloji. Ankara: *Adli Tıp Dergisi*, 2009;23(1): 47-55,

117. Afşin H. Klinik Adli Tıp. 2001;1(2) s. 31-45

118. Jeffreys AJ. Genetic Fingerprinting. *Nat. Med,* 2005;11:1035-1039

119. Sbiha Bozaslan B. Ağız florasındaki streptokokların adli bilimlerde kimliklendirme açısından araştırılması. *Yök, Ulusal Tez Merkezi, Istanbul*, 2016; Yüksek Lisans Tezi

120. Houck MM. Forensic Science: Modern Methods of Solving Crime First Edition. Virginia. 2007; 978-0275993238.

121. Schommer NN., Gallo RL. Structure and function of the human skin microbiome. Trends in Microbiology, 2013, Cilt 21:12

122. Simon K., Titball R., Michell S. Lipoproteins of bacterial pathogens. *Infections and Immunity*. 2011; 79 (2):548-561

123. Whiley RA., Beighton D. Current classification of the oral streptococci.*Oral Microbiol Immunol*, 1998, Cilt 13: 195–216

124. Muzurovic S., Babajic E., Masic T., Smajic R., Selmanagic A., et al. The Relationship Between Oral Hygiene and Oral Colonisation with Candida Species. *Med Arh*, 2012;66(6): 415-417

125. Darwazeh A M-G., Hammad MM., Al-Jamaei AA. The relationship between oral hygiene and oral colonization with Candida species in healthy adult subjects. *Nt J Dent Hygiene*, 2010, Citations: 24.

126. Bardell D. Viability of six species of normal oropharyngeal bacteria after exposure to cigarette smoke in vitro. *Microbios*, 1981;32(127): 7-13

127. Wu J., Peters BA., Dominianni Ch., Zhang Y., Pei Z., et al. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *ISME*, 2016;10: 2435-2446

128. Yılmaz SS. El mikrobiyotasının kişilerin tanımlanmasında kullanılmasını sağlayacak yeni bir metodun geliştirilmesi. *Yök, Ulusal Tez Merkezi*, İstanbul, 2019. Doktora tezi.

.

7. Ekler

EK-1

İÜC Tarih ve Sayı: 07/11/2019-84084

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
Adli Tıp Ve Adli Bilimler Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı :86669574-302.14.06-
Konu :Zargai ROSTAMKHIL'in tez Çalışmasının Etik Açıdan Değerlendirilmesi

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Fen Bilimleri Anabilim Dalımızın 2802170030 numaralı Yüksek Lisans öğrencimiz Zargai ROSTAMKHIL'in "Tükürük Mikrobiyotasının Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Önemi" konulu tez çalışması 05.11.2019 tarihinde toplanan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup alınan karar benzeri ilişikte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Faruk AŞICIOĞLU
Enstitü Müdürü

EK :
1

DAĞITIM
Gereği:
Zargai ROSTAMKHIL

Bilgi:
Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanlığı

İÜC Tarih ve Sayı: 06/11/2019-170548

* B E L C E Y Z 7 L *

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı :59491012-604.01.02-
Konu :üksek Lisans Öğr. Zargai Rostamkhıl'in etik kurul kararı A-31

ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi :16.10.2019 tarih, 86669574-302.14.06-158969 sayılı yazı

Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyesi **Doç.Dr. Hüseyin ÇAKAN'nın** danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğr. Zargai ROSTAMKHIL'in** yürütücülüğünde **"Tükürük Mikrobiyotasının Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Önemi" başlıklı Yüksek Lisans Tezi** hakkında ilgi yazınız ve ekleri **05 Kasım 2019** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla; etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Muhlis Cem AR
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

EK-2

Gönüllü Anket Formu

1. Yaşınız kaç?
2. Cinsiyetiniz nedir?
3. Sigara kullanıyor musunuz?
4. Günde kaç kez dişlerinizi fırçalıyorsunuz?
5. Herhangi bir kronik hastalığınız var mı?
6. Ağzınızda implant var mı?

EK-3

Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü yüksek lisans tezi için yapılacak bir araştırmaya katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağının çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız.

Eğer çalışmaya katılmaya karar verirseniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Formu imzalamanız çalışmanın kapsamı ve riskleri hakkında bilgilendirildiğinizi ve kararınızı serbestçe verdiğinizi belirtmektedir. Bu onay formunun bir kopyası size verilecektir. Bu formda anlamadığınız ifadeler varsa çalışmadaki araştırmacılara sorarak bilgi edinebilirsiniz.

Tükürük Mikrobiyotasının Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Önemi

Çalışmamızda; Tükürük sekresyonunda bulunabilecek İndikatör mikrobiyotanın varlıkları karşılattırılarak mikroorganizmaların (bakterilerin), birbirleriyle örtüşecek şekilde kıyaslanıyoruz. Bu mikroorganizmaların adli kimliklendirme açısından biriler arası farklılıkları tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına bağlıdır. Araştırmaya katıldığınızda, araştırmanın herhangi bir aşamasında bir gerekçe göstermeksizin ayrılabilirsiniz. Bunun için herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalması söz konusu değildir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılacağı bildirilebilir. Sizden araştırma ile ilgili herhangi bir para talebinde bulunulmayacağı gibi kendisine de ödeme yapılmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumundan (SGK)dan herhangi bir ücret alınmayacaktır.

Araştırmanın sizin açınızdan hedeflenen herhangi bir klinik yararı bulunmamaktadır.

İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer ilgili sağlık otoriteleri sizin orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişimde bulunabilecektir. Ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır. İlgili mevzuat gereğince sizin kimliğinize ait kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanamayacağı; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi sizin kimliğiniz gizli kalacaktır.

Araştırma konusu ile ilgili ve sizin araştırmaya katılmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde siz ya da yasal temsilciniz zamanında bilgilendirilecektir.

İster doğrudan ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verilmektedir.

Araştırmaya katılması beklenen tahmini hasta ve kontrol grubu 50 kişidir. Sizden tükürük örneği alınacaktır. Sizden elde edilecek olan biyolojik materyal; proje yürütücüsü tarafından tıbbi personel yönetiminde ve denetiminde gerekli örnekler alınacaktır. Araştırma ile ilgili analizler İ.Ü Adli Tıp Enstitüsü Adli Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılacaktır.

Kendi haklarınız ve hasta yakınınız hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir bilgi almak istediğinizde, araştırmacı Zargai Rostamkhil'e şu irtibat numaralarından ulaşabilir.

Tel: 05355015225 e-mail: rostamkhillzargai@yahoo.com

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen görevli tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi veya kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından da araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

"Tükürük **Mikrobiyotasının Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Önemi** "tez çalışması kapsamında alınan tükürük örneğinin (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

- □ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- □ İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- □ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum."

Gönüllünün Adı Soyadı:

Gönüllünün İmzası

Tarih:

Yetkin Araştırmacının Adı: Soyadı: Zargai ROSTAMKHIL

Yetkin Araştırmacının İmzası:

Tarih:

Özgeçmiş

Zargai ROSTAMKHIL

PERSONAL INFORMATION

Name Zargai ROSTAMKHIL

Date of Birth

Place of Birth

Marital Status

CONTACT INFORMATION

Address

GSM

E-Mail

social media content

Facebook:

LinkedIn:

twitter:

WORK EXPERIENCE

April,2019- September, 2019

I worked at Karabük Province migration office as a translator of Persian, Turkish and English language.

2018

I worked at Kastamonu Province migration office as a translator of Persian, Turkish and English language.

july2016- september2016

I worked as an internship student in biomedical department of Afyon University Education and Research Hospital.

February, 2016- April, 2016

I worked as an internship student in stem cell research laboratory of Kayseri Erciyes stem cell research center "Genkök"

EDUCATION

2017-2021

University of Istanbul Cerrahpaşa, Institute of Forensic Sciences. (Trk)

2014-

University of TC. Anadolu, Department of Economic and Social Affairs, Economic Faculty. (Trk)

2013-2017

University of Erciyes , Engineering Department, Biomedical Engineering. (Trk)

2005-2007

General High School of Rostamkhil. (Afg)

1995-2005

Khomar secondary school. (Afg)

SEMINAR AND COURSES

2013 Computer aided project drawing AutoCad.

2012-2013 Erciyes university school of foreign languages.

2016 Basic occupational health and safety training.

SCHOLARSHIPS AND PROJECTS

2012-2017 Biomedical Engineering scholarship.

2018 Reinforcement of Turkey's national asylum system project (certificate of paticipation).

FOREIGN LANGUAGES

Persian	native speaker
Pashto (afghan)	native speaker
Turkish	advance
English	advance
Arabic	weak

SKILLS

Computer	Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint) MATLAB, C++, LabVIEW.
Certificates	AutoCAD, English Language, Health and Safety Training, Reinforcement of Turkey's national asylum system project