

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**ANNE VE BABADAN ÇOCUĞA GEÇEN
STREPTOCOCCUS MUTANS VE *STREPTOCOCCUS SOBRINUS*
KOLONİZASYONLARINDAKİ GENOTİPİK ÇEŞİTLİLİĞİN
BELİRLENMESİ**

ASLI PATIR

**DANIŞMAN
PROF. DR. FİGEN SEYMEN**

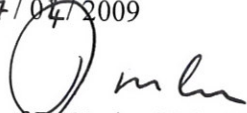
**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
PEDODONTİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

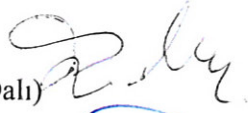


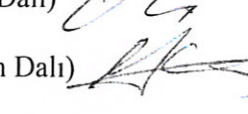

07 / 01 / 2009


Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : PEDODONTİ
Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
Anabilim Dalı : PEDODONTİ ANABİLİM DALI
Tez Sahibi : ASLI PATIR
Tez Başlığı : Anne ve babadan çocuğa geçen Streptococcus mutans ve Streptococcus sobrinus kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesi.
Sınav Yeri : DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
Sınav Tarihi : 29 / 01 / 2009

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. PROF. DR. ZEYNEP AYTEPE (İst. Üni. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı) 
2. PROF. DR. KORAY GENÇAY (İst. Üni. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı) 
3. PROF. DR. FİGEN SEYMEN (İst. Üni. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı) 
4. PROF. DR. GÜVEN KÜLEKÇİ (İst. Üni. Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı) 
5. PROF. DR. İLKNUR TANBOĞA (Mar. Üni. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı) 

BEYAN

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

Aslı PATİR



Aileme...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana her konuda her zaman destek olan danışmanım, İ.Ü. Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Figen SEYMEN'e,

Pedodonti eğitimim sırasında gösterdiği destek, anlayış ve katkılarından dolayı İ.Ü. Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Koray GENÇAY'a,

Doktora tez çalışmalarında bana yol gösteren ve her aşamada danıştığım, çalışmamın planlanmasında büyük emeği geçen İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Güven KÜLEKÇİ'ye

Doktora tezimin laboratuvar işlemlerini hassasiyetle gerçekleştiren, her konuda destek ve katkıda bulunan Sayın Dr. Fahriye KESKİN ve Sayın Dr. Sevgi ÇİFTÇİ'ye

Doktora tezimin istatistiksel değerlendirmelerini yapan Sayın Dr. Sevda ÖZEL'e

Her zaman yanımda olan dostlarım Dt. Mine YILDIRIM, Dr. Sırmahan ÇAKARER, Dr. Fırat SELVİ ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Beni her durumda en iyi koşullarda büyütüp yetiştiren, eğitimimin her aşamasında bana sonsuz destek veren, hayatım boyunca hep yanımda olan, teşekkürlerin yetersiz olacağı annem Hayriye PATIR ve babam Orhan PATIR'a

Ve tez dönemi boyunca büyük bir sabır ve fedakarlıkla bana yardımcı olan eşim Dr. Çağlar MÜNEVVEROĞLU'na

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-934/15122006

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİ
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Çürüğü	3
2.2. Diş Çürüğünün Mikrobiyal Etyolojisi	4
2.2.1. Laktobasiller.....	6
2.2.2. Oral Streptokoklar.....	6
2.2.2.1. <i>Streptococcus salivarius</i>	8
2.2.2.2. <i>Streptococcus sanguinis</i>	8
2.2.2.3. <i>Streptococcus mitis</i>	9
2.2.2.4. Mutans streptokokları (MS)	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. GEREÇ	32
3.1.1. Kullanılan Aletler.....	32
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri	33
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.1.4. Kullanılan Sarf Malzemeler	34
3.1.5. Kullanılan Standart suşlar	34
3.1.6. Kullanılan Sulandırma Ortamları ve Besiyerleri	35
3.1.7. Tampon Çözeltiler ve Solüsyonlar.....	36
3.1.8. Agaroz Jel Elektroforezi İçin Kullanılan Çözeltiler	38
3.2. YÖNTEM	39

3.2.1. Örneklerin Alınması.....	39
3.2.2. Örneklerin Ekimi ve Çoğaltılması	40
3.2.3. Mutans Streptokokların İzolasyonu ve Tanımlanması.....	41
3.2.4. Beyin Kalp infüzyon Sıvı Besiyerine Ekim Yapılması	41
3.2.5. Gram Boyama	42
3.2.6. Sorbitol Besiyerine Ekim Yapılması.....	42
3.2.7. Standart <i>S. mutans</i> ve <i>S. sobrinus</i> Suşlarının Ekilmesi.....	42
3.2.8. Bakteri DNA'sının Elde Edilmesi.....	43
3.2.9. PZR karışımı	44
3.2.10. PZR Programı	45
3.2.11. Kullanılan Primerler.....	45
3.2.12. Agaroz Jelin Hazırlanması	45
3.2.13. Jelin Yürütülmesi ve Görüntülenmesi.....	46
3.2.14. AP-PZR ile Genotiplendirme.....	47
3.2.15. AP-PZR karışımı.....	47
3.2.16. AP-PZR Programı	48
3.2.17. Kullanılan Primerler.....	48
3.2.18. Agaroz Jelin Hazırlanması	48
3.2.19. Jelin Yürütülmesi ve Görüntülenmesi.....	49
4. BULGULAR.....	50
5. TARTIŞMA	67
SONUÇLAR	76
KAYNAKLAR	78
ERİŞKİNLER İÇİN YAZILI ONAM FORMU.....	93
ÇOCUKLARIN KATILIMI İÇİN YAZILI ONAM FORMU	97
ÇÜRÜK AKTİVİTE TESTİ İSTEK FORMU.....	98
ETİK KURUL KARARI	100
ÖZGEÇMİŞ	101

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Oral Streptokokların sınıflandırılması	7
Tablo 2.2 Mutans streptokoklarının ayırt edici özellikleri.	10
Tablo 2.3 Mutans streptokoklarının biyokimyasal özellikleri	11
Tablo 4.1 Çalışmaya dahil edilen anne ve babaların, yaş ve DMFT verilerinin değerlendirilmesi	50
Tablo 4.2 Çalışmaya dahil edilen anne ve babaların MS (10^4 cfu/ml) düzeylerinin değerlendirilmesi	51
Tablo 4.3 Anne ve babaların DMFT ve MS (10^4 cfu/ml) değerlerinin karşılaştırılması.	51
Tablo 4.4 Çalışmaya dahil edilen çocukların aylara göre MS (10^3 cfu/ml) düzeyleri....	52
Tablo 4.5 1.ay, 4. ay, 9. ay ve 12 aylarda çocuklardan izole edilen MS (10^3 cfu/ml) değerleri	53
Tablo 4.6 Anne ve babaların eğitim düzeylerinin karşılaştırılması	54
Tablo 4.7 Anne ve babaların diş fırçalama alışkanlığı ve gargara kullanımı açısından değerlendirilmesi	55
Tablo 4.8 Anne ve babaların lezyon ve kavite varlığı açısından değerlendirilmesi	55
Tablo 4.9 Anne ve babaların son üç yılda yapılmış dolguya sahip olmaları ve diş yüzeylerinde gözle görünür bakteri plağı saptanması açısından değerlendirilmesi	56
Tablo 4.10 Anne ve babaların sabit/hareketli protez kullanımı ve ortodontik tedavi açısından değerlendirilmesi	56
Tablo 4.11 Anne ve babaların bebeklerinin yemeklerini tatma açısından değerlendirilmesi	57
Tablo 4.12 Çocukların 1., 4., 9. ve 12. aylardaki MS (10^3 cfu/ml) düzeylerinin değerlendirilmesi	58
Tablo 4.13 Birbirini takip eden aylardaki MS (10^3 cfu/ml) düzeylerinin karşılaştırılması	58
Tablo 4.14 Anne ve babanın DMFT ve MS değerleri ile, çocuğun 1., 4., 9. ve 12. aylardaki MS değerleri ve genotip sayısı arasındaki ilişki	59
Tablo 4.15 Birey ve ailelerde saptanan genotip sayıları	60
Tablo 4.16 Aile bireylerinden izole edilen S. mutans'ların genotipik çeşitlilik yönünden değerlendirilmesi.....	61

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.0.1 Diş çürüğünün etyolojisinde rol alan faktörler ve bu faktörlerin ilişkisi.....	4
Şekil 2.0.2 Sakkarozun <i>S. mutans</i> tarafından kullanımı ve diş çürüğü patogenezi	19
Şekil 3.0.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi	28
Şekil 3.0.1 Örneklerin tuzlu suda seri dilüsyonları.....	40
Şekil 3.0.2 Mum söndürme kavanozu	40
Şekil 3.0.3 MSB agarda üreyen mutans streptokok kolonileri	41
Şekil 3.0.4 Isısal döngü cihazı	44
Şekil 4.0.1 <i>S. mutans</i> ve <i>S. sobrinus</i> standart suşlarının ve çalışmaya dahil edilen bireylerden ikisine ait olan <i>S. mutans</i> ve <i>S. sobrinus</i> 'un agaroz jel elektroforez görüntüsü	52
Şekil 4.2 1. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	62
Şekil 4.3 2. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	62
Şekil 4.4 3. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	63
Şekil 4.5 4. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	63
Şekil 4.6 5. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	64
Şekil 4.7 6. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	64
Şekil 4.8 7. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü	65
Şekil 4.9 Yedi ailedeki anne, baba ve çocuk genotip dağılımlarının toplu olarak gösterilmesi.....	66

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

CaPO₄:	Kalsiyum fosfat
Ca⁺⁺ :	Kalsiyum
H⁺:	Hidrojen
AP-PZR:	Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction
bç:	Baz çifti
C:	Sitozin
DNA:	Deoksiribonükleik asit
dNTP:	Dinükleotidtrifosfat
G:	Guanin
MS:	Mutans Streptokokları
MSB:	Mitis Salivarius Basitrasin Agar
PFGE:	Pulsed field jel elektroforezi
PZR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
rDNA:	Ribozomal deoksiribonükleik asit
RFLP:	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
T:	Timin
Tag:	Thermus aquaticus
TYCSB:	Trypticase-yeast-cysteine-sucrose-bacitracin agar
pmol:	Pikomol
MLEE:	Multi lokus enzim elektroforezi
GIcNAc:	N-asetilglukozamin
İPS:	İntrasellüler glikojen-benzeri polisakkarit
EPS:	Ekstrasellüler polisakkarit

bç:	Baz çifti
dATP:	Deoksiadenintrifosfat
dCTP:	Deoksisitozintrifosfat
dTTP:	Deoksitimintrifosfat
dGTP:	Deoksiguanintrifosfat
EÇÇ:	Erken çocukluk çürüğü

ÖZET

Patır A. Anne ve babadan çocuğa geçen *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti Anabilim Dalı, Doktora Tezi. İstanbul.2008.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, anne, baba, geçiş, AP-PZR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-934/15122006

Diş çürüğü bulaşıcı infeksiyöz bir hastalık olarak tanımlanmakta ve birçok ülke için önemli bir halk sağlığı problemi olduğu bildirilmektedir. *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* diş çürüğü oluşumunda rol alan başlıca mikroorganizmalar olarak belirtilmektedir.

Fenotipleme ya da genotipleme yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* taşıyan annelerin, çocukları için başlıca infeksiyon kaynağı oldukları vurgulanmaktadır. Ancak, annede ya da diğer aile bireylerinde saptanmayan genotiplerin çocukta saptanmasının *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'un başka kaynaklardan edinebileceğini gösterdiği bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'un anne ve babadan çocuğa geçişini ve genotipik çeşitliliğini, on iki aylık takip süresince incelemektir. Çalışmaya yedi anne, yedi baba ve sekiz çocuk (bir ikiz) dahil edilmiştir. Çocuklardan doğumdan sonraki on iki aylık süre boyunca 1., 4., 9. ve 12. aylarda; anne ve babalardan ise doğumdan sonraki 1. ayda tükürük örneği alınmıştır. İzolasyon ve identifikasyon işlemlerinin ardından, AP-PZR kullanılarak *S. mutans* ve *S. sobrinus*'ların genotipleri belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda çocuklarda *S. mutans* geçişinin dördüncü aydan sonra gerçekleştiği saptanmıştır. Ayrıca dört anne ve beş çocuğun (iki çocuk ikiz) benzer genotiplere sahip olduğu, iki çocuğun ise anne ve babaları ile hiçbir benzer genotipe sahip olmadığı saptanmıştır. Sonuç olarak, anneler çocukları için başlıca infeksiyon kaynağıdır ve çocuklarda, infektivite penceresi döneminden önce MS kolonizasyonu gerçekleşebilmektedir.

ABSTRACT

Patır A. Identification of genotypic diversity of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* colonies transmitted from mother and father to the children. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pedodontics, Doctorate thesis, İstanbul.2008.

KEY WORDS: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, mother, father, transmission, AP-PCR

This study was supported by the Research Fund of Istanbul University, Project No:T-934/15122006

Dental caries is a transmissible infectious disease that still represents a significant public health problem in many countries. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* are the main microorganisms associated with caries in humans. Studies using phenotyping or genotyping methods suggest that mother is the major source of infection for children who carry *S. mutans* and/or *S. sobrinus* strains. However, detection of genotypes that are not found in children's mothers or other family members indicates that *S. mutans* and/or *S. sobrinus* may also be acquired from other sources.

The aim of this study was to perform a follow-up evaluation of the *S. mutans* and *S. sobrinus* colonization profile of children's oral cavities, which included the pattern of vertical transmission from mother and father to child, genotypic diversity of the strains. The subjects were 7 mother-father and 8 children (one twin). Saliva samples of children were collected on 1st, 4th, 9th and 12th months after birth. And also saliva samples were taken from mother and father on 1st month only. After isolation and identification, the arbitrarily primed PCR method was performed for the genotypic characterization of *S. mutans* and *S. sobrinus* strains. It is found that, *S. mutans* colonization began after 4th month for infants. Genotypes of *S. mutans* in infants appeared identical in 4 mother and 5 child and there were no identical strains between mother and father for 2 children. In conclusion, mother is the major source of infection for children and MS colonization may begin earlier than windows of infectivity period.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürüğü, bakterilerin, ağız ortamındaki karbonhidratları fermente etmeleri sonucunda ortaya çıkan organik asitlerin diş sert dokularında meydana getirdiği dinamik biyokimyasal olaylar dizisi olarak tanımlanmaktadır. Ağız içerisinde yer alan bakteriler dietteki karbonhidratları, minerin yapısındaki kalsiyum fosfatları (CaPO_4) çözebilen asitlere dönüştürmekte ve sonuçta dişlerde çürük meydana gelmektedir (27).

Streptococcus mutans (*S. mutans*) ve *Streptococcus sobrinus* (*S. mutans*) insanlarda en sık izole edilen ve diş çürüğü ile ilişkisi olan mikroorganizmalar olarak bildirilmektedir (34, 40, 47, 82, 116, 166). Epidemiyolojik çalışmalar, dünyadaki tüm insan popülasyonunun *S. mutans* taşıdığını bildirmektedir (85).

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, *S. mutans*'ın epiteliyal yüzeylere yapışma kapasitesinin düşük olduğu ve bu nedenle, bu organizmaların dişsiz bebeklerin ağızında dişler sürmeden önce kolonize olamayacağı sonucuna varıldığı bildirilmektedir (19). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, *S. mutans*'ın dişsiz bebeklerin ağızında kolonize olduğu, tükürüklerinde yüksek oranda *S. mutans* bulunan anneler ile bebekleri arasında sık tükürük teması olduğunda bebeğin erken dönemde infeksiyon riskinin arttığı vurgulanmaktadır (20, 162). Ayrıca annelerin yanı sıra babaların ve diğer bireylerinde çocuklar için infeksiyon kaynağı olabileceği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (93).

S. mutans'ın erken dönemde kazanılmasının, sürekli dentisyonda görülen yüksek çürük sıklığı ile yakından ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Bu nedenle, diş çürüğü oluşumunun engellenmesi amacı ile gerçekleştirilecek olan koruyucu yaklaşımlar içerisinde *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un çocuklara doğal yollardan bulaşmasının araştırılması ve bu bulaşmanın engellenmesi yer almaktadır. Bu sayede, bireyde hem süt hem de sürekli dişlenme döneminde çürük gelişiminin önemli derecede azaltılacağı düşünülmekte ve temel hedefin çocukları erken mutans streptokok (MS) kolonizasyonundan korumak olması gerektiği vurgulanmaktadır (105).

Bu çalışmada da; anne ve babadan çocuğa geçen *S. mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonundaki genotipik çeşitliliğin, ocuk bir yaşına gelinceye kadar geçen süre içinde incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

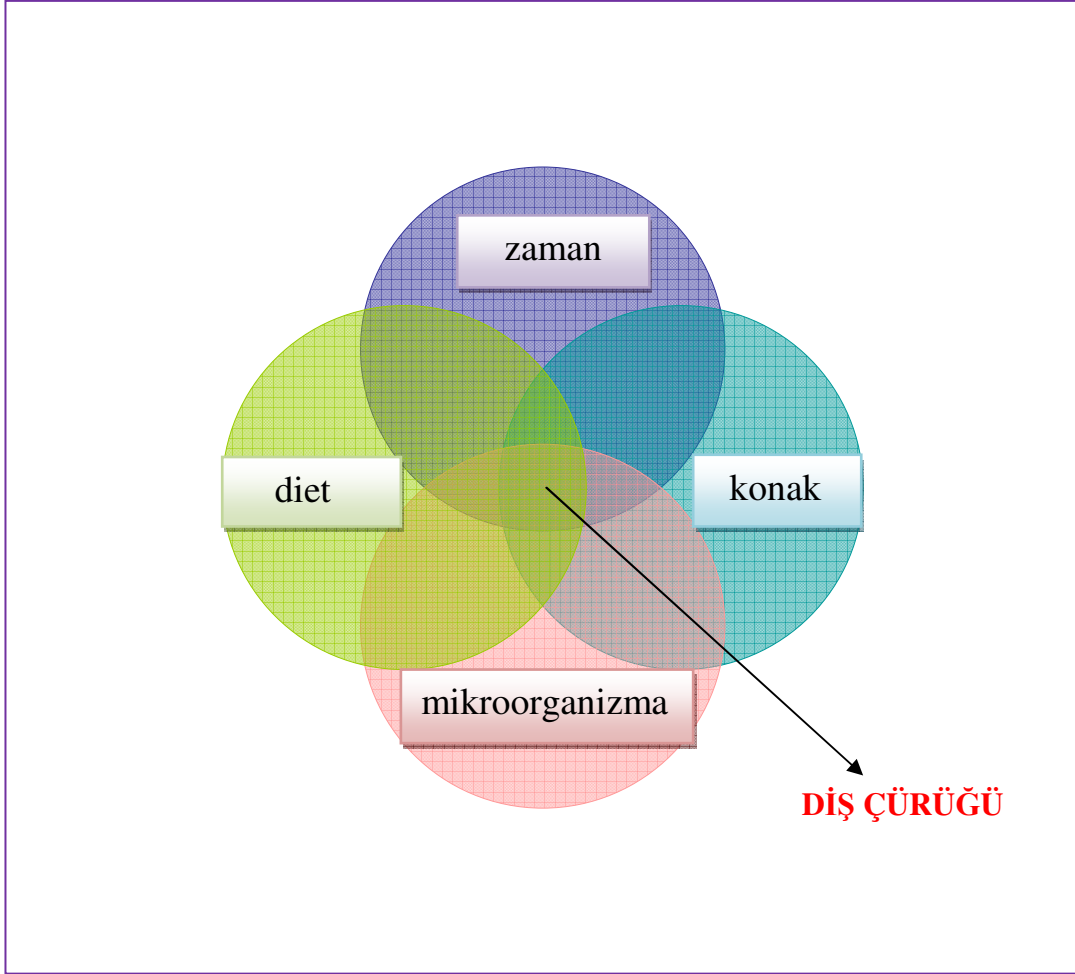
2.1. Diş Çürüğü

Diş çürüğü, dental biyofilmdeki bakterilerin, ağız ortamındaki karbonhidratları fermente etmeleri sonucunda ortaya çıkan organik asitlerin diş sert dokularında meydana getirdiği dinamik biyokimyasal olaylar dizisi olarak tanımlanmaktadır (27).

Normal koşullarda diş sert dokuları ile tükürük arasında sürekli bir iyon alışverişi olmaktadır. Bu iyon alışverişi fizyolojik bir olay olarak belirtilmektedir. Ortamın asite kayması sonucunda, diş sert dokularındaki kalsiyum tuzları iyonize olup dişten uzaklaşmaktadır. Ortam tekrar alkaline duruma gelirse dişten çözülmüş olan iyonlar sert dokulara çökerek tuz kompleksleri oluşturmaktadır. Diş sert dokularındaki kalsiyum (Ca^{++}) tuzlarının iyonize olmasına '**demineralizasyon**', ortamın alkaline kayıp diş sert dokularına tekrar tuz kompleksleri oluşturarak çökmesine ise '**remineralizasyon**' adı verilmektedir. Demineralizasyon ve remineralizasyon olayları belli bir denge içinde gerçekleşmektedir. Bu denge mikrobiyal dental plak varlığında rahatlıkla bozulabilmektedir (27, 41, 42).

Diş çürüğü multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmakta ve oluşumunda dört ana faktörün rol oynadığı bildirilmektedir. Bu faktörler; konak (tükürük ve diş), mikroorganizma, diet ve zaman olarak belirtilmektedir. Diş çürüklerinin oluşumu için bu dört faktörün aynı anda bir arada bulunması gerektiği vurgulanmaktadır (Şekil 2-1) (67, 70, 96).

Şekil 2.0.1 Diş çürüğünün etyolojisinde rol alan faktörler ve bu faktörlerin ilişkisi (67, 70, 96).



2.2. Diş Çürüğünün Mikrobiyal Etyolojisi

Diş çürüğü mikroorganizmalar tarafından oluşturulan ve diş dokularının lokalize yıkımı ile karakterize patolojik olaylar dizisi olarak tanımlanmaktadır. Diş ile dişi çevreleyen mikrobiyal dental plak arasındaki dengenin bozulması, diş sert dokularından bazı iyonların çözünmesine ve çürük lezyonunun oluşmasına neden olmaktadır (41, 42).

Diş, çevre dokular ve tükürük arasında iyon alışverişini dengeleyen bir sistem bulunmaktadır. Diş minesini, esas olarak inorganik minerallerden oluşmasına karşın bu

inorganik minerallerin aynı zamanda diş sert dokusunda bulunan organik mukopolisakkarit, kollajen ve lipitler ile kimyasal bağlar oluşturduğu belirtilmektedir. Çürük oluşumu, organik matriks ile inorganik kalsiyum fosfat (CaPO_4) kristalleri arasındaki bu dengenin hidrojen (H^+) iyonları ile fizikokimyasal düzeyde bozulması ile gerçekleşmektedir (27, 41, 42).

Dişhekimi tarihinde diş çürüğü oluşumu ile ilgili birçok teori ortaya atılmıştır. Ancak W. D. Miller tarafından geliştirilen “Şimiko-Parazitik Teori” de, diş çürüğü oluşumunda bakterilerin rolünü bilimsel olarak açıklayan sonuçların ortaya konduğu bildirilmekte; ağız içerisinde yer alan bakterilerin dietteki karbonhidratları, minerin yapısındaki CaPO_4 kristallerini çözebilen asitlere dönüştürdüğü ve sonuçta çürük oluşturduğu vurgulanmaktadır (63).

Diş çürüğünün etyolojisinde iki bakteri grubunun öne çıktığı belirtilmektedir. Bu bakteri grupları; mutans streptokokları (MS) ve laktobasiller olarak bildirilmekte; MS'nın çürük oluşumunun başlaması, laktobasillerin ise çürüğün gelişimi ile ilişkili oldukları vurgulanmaktadır. (Tablo 2-1) (2, 33, 51, 90, 99, 160).

Streptokokların ve laktobasillerin sadece düşük pH ortamlarında hayatta kalabilme özelliklerine değil, aynı zamanda bu ortamda yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilme ve çoğalabilme özelliklerine sahip oldukları bildirilmektedir. Bu nedenle hem asidojenik (asit üreten) hem de asidürik (asit ortam seven) mikroorganizmalar oldukları belirtilmektedir (27, 161).

2.2.1. Laktobasiller

Laktobasiller, asidürik özellikleri nedeni ile çürük gelişiminde rol oynayan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (148, 151, 159, 160). En önemli özelliklerinin, karbonhidratları parçalayarak laktik asit oluşturmak olduğu belirtilmektedir. Laktobasillerin, çürük lezyonlarından da izole edilebileceği ancak çürük lezyonuna MS'larından daha sonra yerleştikleri vurgulanmaktadır (148).

Gram (+) fakültatif anareob, spor oluşturmeyen mikroorganizmalar olarak tanımlanan laktobasiller, oral mikrofloranın %1' inden azını oluşturmaktadır. Dişler sürmeden önce ağızda buldukları bildirilmekte ve insanlarda öncelikle dil dorsumunda kolonize oldukları ve tükürüğe dil epitelinin dökülmesi sonucu taşındıkları vurgulanmaktadır (63).

2.2.2. Oral Streptokoklar

Oral Streptokoklar; gram (+), küresel ya da oval şekilli, 0.5-2µm çapındaki bakteriler olarak tanımlanmaktadır (34). Ağız mikroflorasının büyük bir çoğunluğunu oluşturdukları bildirilmektedir (147, 158). Tablo 2-1'de oral kavitede yer alan mutans streptokokların sınıflandırılması görülmektedir (8, 164).

Tablo 2.0.1 Oral Streptokokların sınıflandırılması (8, 164)

Grup Adı	Tür Adı
<i>Streptococcus mutans grubu</i> (<i>Mutans streptokokları</i>)	<i>S. mutans</i> , serotip c, e, f, k <i>S. sobrinus</i> , serotip d, g <i>S. cricetus</i> , serotip a <i>S. rattus</i> , serotip b <i>S. ferrus</i> <i>S. macacae</i> <i>S. downei</i> , serotip h
<i>Streptococcus salivarius grubu</i>	<i>S. salivarius</i> <i>S. vestibularis</i>
<i>Streptococcus anginosus grubu</i>	<i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. anginosus</i>
<i>Streptococcus mitis grubu</i>	<i>S. sanguinis</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. parasanguinis</i> <i>S. oralis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. crista</i>

Ağız mikroflorasının başlıca komponentlerinden olan oral streptokokların, diş çürüğü dışında bakteriyemi ve infektif endokarditin etyolojisinde rol oynadıkları bildirilmektedir (56, 100, 111).

2.2.2.1. *Streptococcus salivarius*

Gram (+) mikroorganizmalardan olan *S. salivarius*'un özellikle dilde kolonize olduğu bildirilmektedir. Vücut direnci düşük olan bireylerde infeksiyona neden olan fırsatçı mikroorganizmalar olarak tanımlanmakta ve nötropenili bireylerde çok kısa sürede kana geçerek septisemiye neden oldukları belirtilmektedir (11, 47, 56).

S. salivarius, sakkarozdan fruktan üretmekte ve mitis salivarius basitrasin (MSB) agarda tek, geniş ve kubbe şeklinde koloni oluşturmaktadır. Sorbitol ve manitolü fermente etmemektedir (47).

2.2.2.2. *Streptococcus sanguinis*

Gram (+), fakültatif, 0.8-1.2 µm çapında, küresel veya oval şekilli, orta veya uzun zincirler oluşturan mikroorganizmalardır (147). *S. sanguinis*, diş yüzeyinde erken kolonize olan mikroorganizmalardan biri olarak bildirilmektedir (8).

Kanlı agarda α-hemoliz yapmakta ve anaerop ortamda üreyebilmektedir. Diğer oral suşlardan farklı olarak; arjinini ve eskulini hidroliz etmekte, sakkarozdan glukon üretmekte ve hidrojen peroksit oluşturmaktadır. Mikrobiyal dental plakta bulunan başlıca suşlardan biri olan *S. sanguinis*, dişlerin düz yüzeylerinde kolonize olmaktadır. Ayrıca insanlarda dışkıdan da izole edilebileceği ve kan dolaşımına karıştığı durumlarda kalp kapaklarına yerleşip bakteriyel endokardite neden olabileceği bildirilmektedir. (85,147).

2.2.2.3. *Streptococcus mitis*

S. mitis, α -hemolitik, arjinini, eskülini, sorbitol ve mannitolü hidrolize etmeyen streptokok grubu olarak tanımlanmaktadır. Hücreleri 0.6-0.8 μm çapında, yuvarlak ya da oval şekildedir ve sıvı kültürde uzun zincirler oluşturmaktadır (47). Diğer oral suşlardan farklı olarak; eskulin hidrolizi, inülin fermentasyonu yapmamakta ve ekstrasellüler polisakkarit oluşturmamaktadır. MSB agarda dairesel, yumuşak, kahverengi-siyah koloniler oluşturmaktadır. İnsanlarda boğaz, ağız boşluğu ve kandan izole edilebilmektedir (147). Diş çürüğü, septisemi ya da endokardit oluşumunda rol alabilecekleri de bildirilmektedir (122).

2.2.2.4. *Streptococcus mutans* (Mutans Streptokokları - MS)

İnsanlarda diş çürüğüne neden olan en önemli etyolojik ajan olarak kabul edilen MS, dental biyofilmde bulunan ve karbonhidratları fermente eden streptokok grubu olarak belirtilmektedir (29, 34, 135). MS, diş çürüğüne neden olan asit ve ekstrasellüler polisakkarit üretiminin yüksek düzeyde olması gibi biyolojik özellikleri nedeni ile oral kavitede yer alan karyojenik bakteri grubu olarak tanımlanmaktadır (131, 168).

Yapılan serolojik çalışmalarda hücre duvarında bulunan polisakkaritlere göre *S. mutans* (serotip c, e, f), *S. sobrinus* (serotip d, g), *S. cricetus* (serotip a), *S. rattus* (serotip b), *S. ferus* (serotip c), *S. macacae* (serotip c) ve *S. downei* (serotip h) olarak sekiz serotipi tanımlanmıştır (47, 82, 102, 104, 112, 139, 144).

2004 yılında Nakano ve arkadaşları, *S. mutans*'ın rhamnoz-glukoz polimerlerinin glukoz yan zincirlerinde ciddi azalma gösteren suşlarının yeni bir serotip olduğunu ve bu serotipin Japon çocuklarının yaklaşık olarak %2'sinin ağız boşluğunda saptandığını bildirmişlerdir. Bu yeni serotipi serotip *k* olarak adlandırmışlardır. Ayrıca *S. mutans* serotip *k* suşlarının fagositoza daha az duyarlı oldukları ve infeksiyöz endokardit gelişmesi ile yakından ilişkili oldukları bildirilmiştir (101, 102, 103).

Bu grup içinde, *S. mutans* ve *S. sobrinus* insanlarda mikrobiyal diş biyofilminde en sık izole edilen ve diş çürüğü ile ilişkisi olan mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (34, 40, 47, 82, 160, 166).

MSler mannitol ve sorbitolü fermente etmekte ve sakkarozdan glukun sentezlemektedirler. Kanlı agarda genellikle α ya da γ hemoliz yapmaktadırlar. Tablo 2-2'de ve Tablo 2-3'de Mutans streptokok grubunun ayırt edici özellikleri ve biyokimyasal özellikleri yer almaktadır (89, 102, 104).

Tablo 2.0.2 Mutans streptokoklarının ayırt edici özellikleri (85)

	Konak	Serotip	Hücre duvarında bulunan polisakkaritler
<i>S. mutans</i>	İnsan	<i>c, e, f</i>	Glukoz, rhamnoz
<i>S. sobrinus</i>	İnsan	<i>d, g</i>	Glukoz, rhamnoz, galaktoz
<i>S. cricetus</i>	İnsan, hayvan	<i>a</i>	Rhamnoz, galaktoz, gliserol
<i>S. ferus</i>	Rat	..	Rhamnoz, glukoz, galaktoz
<i>S. rattus</i>	İnsan, kemirgen	<i>b</i>	Tanımlanmamış
<i>S. macacae</i>	Maymun	<i>c</i>	Tanımlanmamış
<i>S. downei</i>	Maymun	<i>h</i>	Rhamnoz, glukoz

Tablo 2.0.3 Mutans streptokoklarının biyokimyasal özellikleri (12, 34, 47)

ÖZELLİKLER	<i>S. mutans</i>	<i>S. rattus</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>S. cricetus</i>	<i>S. downei</i>	<i>S. macacae</i>	<i>S. ferus</i>
Havada üreme	Δ	Δ	Δ	Δ	+	w	Δ
10°C'de üreme	-	-	-	-	Ø	Ø	-
45°C'de üreme	Δ	Δ	Δ	Δ	-	-	-
Hemoliz	γ	Ø	γ veya α	γ	Ø	α	Ø
Mannitol fermentasyonu	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol fermentasyonu	+	+	Δ	+	-	+	+
Raffinoz fermentasyonu	+	+	Δ	+	-	+	-
İnülin fermentasyonu	+	+	Δ	Δ	+	-	+
Melibioz fermentasyonu	Δ	+	-	Ø	Ø	Ø	Ø
Arjinin hidrolizi	-	+	-	-	-	-	-
Eskulin hidrolizi	+	+	Δ	Δ	-	+	+
Hidrojen peroksit oluşturma	-	-	+	-	-	-	-
Basitrasin direnci	+	+	-	-	-	-	-

Δ, türün %11-89'u pozitif

+, türün %90 veya daha fazlası pozitif

-, türün %90 veya daha azı negative

W, zayıf üreme

Ø, tanımlanmamış

α, alfa hemoliz, kan agarında yeşilimsi renk değişimi

γ, gama hemoliz, berraklık yok

***S. rattus* (serotip b):**

Rat ve hamsterlardan izole edildikleri bildirilmektedir. Rafinoz ve melibiozu fermente etmektedirler. Aerop ortamda üredikleri ve basitrasine karşı duyarlı olmadıkları bildirilmektedir. Hücreleri 0.5 µm çapındadır ve çiftler ya da zincirler halinde bulunmaktadır. *S. mutans* gibi intrasellüler polisakkarit oluşturmakta ve depo etmektedirler. Sakkaroz içeren besiyerinde üreyen koloniler, pürüzlü, 1 mm çapında ve kümelenmiş halde bulunmaktadır (34, 47, 147, 158).

***S. macacae* (serotip c):**

Maymunlardan izole edildikleri bildirilmektedir. *S. mutans* ile benzerlik gösterdikleri ancak basitrasine karşı duyarlı olmadıkları vurgulanmaktadır. Sakkaroz içeren agarda saydam, 1-2 mm çapında koloniler oluşturmaktadır (34, 47, 147, 158).

***S. critecus* (serotip a):**

Rat ve hamsterlardan izole edildikleri bildirilmektedir. Rafinoz ve melibiozu fermente etmektedirler. Aerop ortamda üredikleri ve basitrasine karşı duyarlı oldukları bildirilmektedir. Hücreleri 0.5µm çapındadır ve çift ya da zincirler halinde bulunmaktadır. Kanlı agarda 2-3 mm çapında koloniler oluşturdukları, sakkaroz içeren besiyerinde ise kolonilerin daha küçük ve düzensiz olduğu belirtilmektedir (34, 47, 147, 158).

***S. ferus* (serotip c):**

Vahşi ratlardan izole edildikleri bildirilmektedir. Rafinoz ve melibiozu fermente etmedikleri ve basitrasine karşı duyarlı oldukları belirtilmektedir. Hücreleri 0.5 µm çapındadır ve çift ya da zincirler halinde bulunmaktadır. Sakkaroz içeren agarda 1mm çapında, kabarık koloniler oluşturmaktadır (34, 47, 147, 158).

***S. downei* (serotip c):**

İngiltere'nin Downe kasabasında yaşayan maymunlardan ilk defa izole edildikleri için bu isimle adlandırılmışlardır. *Mitis salivarius* agarda koyu mavi, kıvrımlı, en çok 1 mm çapında olan koloniler oluşturdukları; sakkaroz içeren agarda ise kolonilerin 2-3 mm çapında, konik ve beyaz bir hale ile çevrili olduğu bildirilmektedir (34, 47, 147, 158). Yoo ve arkadaşlarının 2005 yılında gerçekleştirdikleri çalışmalarında, daha önceki yıllarda sadece maymunlardan izole edildiği bildirilen *S. downei*'nin insanlarda mikrobiyal diş biyofilminden de izole edildiği bildirilmiştir (167).

***S. sobrinus* (serotip d, g):**

S. mutans ile birlikte insanlarda mikrobiyal diş biyofilminde en sık izole edilen ve diş çürüğü ile yakından ilişkisi olan mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (9, 44, 83, 131, 147). Bakteri hücresi 0.5 µm çapındadır ve çift ya da uzun zincirler şeklinde bulunmaktadır. Sakkaroz içeren agarda 1 mm çapında, pürüzlü ve kümelenmiş koloniler oluşturdukları belirtilmektedir (34, 47). İnsan tükürük ve mikrobiyal diş biyofilmi örneklerinden en sık izole edilen mikroorganizmalar olarak tanımlanan *S. mutans* ve *S. sobrinus*, diş yüzeyine yapışma, asit oluşturma kapasiteleri ve fluoride karşı duyarlılık gibi özellikler açısından farklılık göstermektedir (13, 49, 156).

Yapılan çalışmalarda, *S. sobrinus*'un ağız florasında *S. mutans*'tan daha az oranda saptandığı ve düz yüzey çürüklerinin oluşumunda etkili olduğu belirtilmektedir (9, 87).

S. mutans'tan daha az sıklıkla ve daha az sayıda izole edilmesinde, ağızda doğal olarak oluşan bir amino şeker olan N-asetilglukozamin'in (GlcNAc) rolü olduğu bildirilmektedir. *S. mutans*'ın GlcNAc'ı fermente etmesine karşın *S. sobrinus*'un bu amino şekeri fermente edemediği ve ayrıca GlcNAc'ın *S. sobrinus*'un fermente edilebilir karbonhidratları kullanmasını da inhibe ettiği bildirilmektedir (15, 55).

S. sobrinus'un, *S. mutans*'tan daha asidojenik ve asidürik özellikte olduğu, sakkarozdan suda erimeyen polimer yapımının daha fazla olduğu ve gnotobiyotik hayvanlarda çürük yapıcı özelliğinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (55). Ayrıca,

çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda *S. sobrinus* sıklığının yüksek çürük aktivitesi ile *S. mutans*'tan daha çok ilişkili olduğu bildirilmiştir; bu durumun *S. sobrinus*'un *S. mutans*'tan daha hızlı asit üretme özelliğinden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır (87, 112, 114).

***S. mutans* (serotip c, e, f, k):**

S. mutans, c, e, f ve k olmak üzere 4 serotipe ayrılmış ve bu serolojik özelliğın, hücre duvarındaki rhamnoz-glukoz polimerlerinin kimyasal yapısı baz alınarak gerçekleştirildiği vurgulanmaktadır. Ayrıca serotip c'nin insanlarda oral kavitede baskın olarak bulunan serotip olduğu belirtilmektedir (34, 101, 135, 136).

İnsanlardan izole edilen MS 'nın % 74-94'ünü *S. mutans*'ın oluşturduğu, pit ve fissür çürüklerinin gelişiminde rol oynadığı bildirilmektedir (76, 87, 135).

S. mutans, 0.5-0.75 µm çapında, çift ya da kısa zincirler halinde bulunmakta ve kanlı agarda, 0.5-1 mm'lik koloniler oluşturmaktadır. Bu koloniler yarı saydam, beyaz renkte, dairesel, düzensiz bazen pürüzlü yüzeyle ve agara yapışık olabilmektedir. *S. mutans*, genellikle α-hemolitikdir. Ancak β-hemolitik suşlarının da olduğu bildirilmektedir. Sakkaroz içeren besiyerinde *S. mutans*, ekstrasellüler polisakkarit oluşturmakta ve *S. mutans*'a karakteristik özellik kazandıran opak, düzensiz, beyaz koloniler meydana gelmektedir. Bu kolonilerin bazen "ıslak" (suda çözünen) glukan polimerleri tarafından çevrelendiği bildirilmektedir. (34, 85, 147).

S. mutans ve diğer mutans grubunda yer alan suşların sorbitol ve mannitol fermentasyonu yapmaları ile diğer oral streptokoklardan ayrıldıkları belirtilmektedir. Ayrıca *S. mutans*'ın diğer suşlardan farklı serolojik özelliklerinin bulunduğu ve basitrasine karşı dirençli olduğu bildirilmektedir (147).

Bireylerin çürüğe yatkınlığında genetik özelliklerin rol oynadığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. İnsanlarda mine oluşumunda görev alan genlerde meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklerin *S. mutans* düzeyi ile etkileşiminin çürük oluşumunda etkili olduğu, Patır ve arkadaşlarının çalışmasında gösterilmiştir (115).

2.2.3.4.1. MSlerin Epidemiyolojisi

MS, insan ve deney hayvanları modellerinde, diş çürüğüne neden olan başlıca mikroorganizmalar olarak bildirilmektedir (64, 87, 93, 109).

Epidemiyolojik çalışmalarda, dünyadaki tüm insan popülasyonunun *S. mutans* taşıdığı bildirmekte ve MSler, bebeklerde erken çocukluk çürüğünün, çocuklarda ve gençlerde mine çürüğünün, yaşlılarda ise kök çürüğünün etyolojisinde yer almaktadır (4, 85). Ayrıca MSlerin, çok düşük, düşük ve yüksek çürük sıklığı gözlenen bireylerin hemen hemen tümünde saptanacağı bildirilmektedir (13).

Yapılan çalışmalarda bu mikroorganizmaların, dört yaşındaki çocukların %33-75'inde, genç erişkinlerin %80-90'ında ve tüm yetişkin bireylerde bulunduğu belirtilmektedir. c, e, f serotipleri (*S. mutans*) ve d, g serotiplerinin (*S. sobrinus*) insanlarda yüksek oranda bulunduğu bildirilmektedir (116).

2.2.3.4.2. MSlerin Edinilmesi

Normal olarak, doğumdan önce fetusun steril olduğu belirtilmektedir. Doğumdan sonra bebeğin ağız boşluğu, hızla annenin florası ile kolonize olmaktadır. Dişleri sürmemiş olan çocukların ağız boşluğunda sadece epiteliyal yüzeyler ve erken kolonize olan mikroorganizmalar bulunmaktadır. Erken kolonize olan mikroorganizmalar arasında; bazı streptokoklar, *Veilonella*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* ve bazı Gram (-) çomak mikroorganizmalar bulunmaktadır. *S. salivarius*, ilk kolonize olan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır ve dişsiz bebeklerde ilk olarak dil dorsumunda kolonize olduğu bildirilmektedir (21, 22).

MSlerin ağızda optimum düzeyde kolonize olduğu belirli bir zaman aralığı bulunmaktadır. Bu dönem "İNFEKTİVİTE PENCERESİ" olarak adlandırılmakta ve 19-31. ayları (ortalama 26. ay) kapsamaktadır (24, 43, 96, 141, 161). Bununla birlikte, infeksiyonun ilk bulaşma zamanının anne ya da diğer bakıcılardan geçişini değiştiren

çeşitli faktörler, immunolojik özellik, ağız hijyen alışkanlıkları, sakkaroz tüketimi ile değişiklik gösterebileceği belirtilmektedir (92).

Çeşitli populasyonlarda yapılan çalışmalarda beş yaşındaki çocukların %5-42'sinin beş yıllık süre içinde MS ile kolonize olmadığı bildirilmiştir (5, 54, 79, 119). Bu çocukların, yeterli derecede yüksek dozda MS ile karşılaşmaması nedeni ile infektivite penceresi dönemini geçirdikleri düşünülmekte; bu durumda 6-12 yaşları arasında, sürekli dişlenme döneminde, ikinci infektivite penceresi döneminin söz konusu olabileceği bildirilmektedir (141).

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, MSnin epiteliyal yüzeylere yapışma kapasitelerinin düşük olduğu ve bu nedenle, bu organizmaların dişsiz bebeklerin ağızında dişler sürmeden önce kolonize olamayacağı ancak süt dişleri sürmeye başladıktan sonra ya da akrilik obturatör (dudak-damak yarıklı bebeklerde) uygulandıktan sonra izole edilebileceği bildirilmektedir (19).

Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, MSnin dişsiz bebeklerin ağızında kolonize olabildiği vurgulanmaktadır (20, 162). Tanner ve arkadaşları çalışmalarında dil üzerinde bulunan papillaların bu organizmalar için önemli ekolojik yaşam alanı oluşturduklarını bildirmişlerdir (146).

S. mutans'ın tükürük yolu ile geçtiği ve bu suşların erken dönemde kazanılmasının, süt ve sürekli dişlenme döneminde görülen yüksek çürük sıklığı ile yakından ilişkili olabileceği bildirilmektedir (4, 6, 20, 65, 75, 86).

Yapılan çalışmalarda, dişin farklı bölgelerindeki *S. mutans* sayısının o bölgede daha sonra görülebilecek olan çürük durumu ile yakın ilişkisi olduğu bildirilmektedir. Yüksek sayıda *S. mutans* saptanan bölgelerde düşük *S. mutans* saptanan bölgelere oranla daha çok çürük görüleceği belirtilmektedir (14).

2.2.3.4.3. MSlerin geçiş yolları

Vertikal Geis:

Vertikal geçiş, mikroorganizmaların anneden çocuğa geçişi olarak tanımlanmaktadır ve annelerin başlıca infeksiyon kaynağı oldukları belirtilmektedir (26, 62, 66, 74). Annelerin, çocuklarına plasenta ya da kolostrum yolu ile sadece immunglobulinleri değil bazı endojen bakterileri de geçirdikleri belirtilmekte ve anneden pasif olarak alınan immunglobulinlerin, bebekte hangi endojen bakterilerin kolonize olacağını belirledikleri vurgulanmaktadır (74). Yapılan çalışmalarda; annenin başlıca kaynak olduğu bakteriyosin tipleme, serotipleme ya da genotipleme çalışmaları ile gösterilmiş olup yüksek MS düzeyine sahip olan annelerin çocuklarının infeksiyona daha yüksek eğilim gösterdikleri bildirilmektedir (17, 18, 19, 20, 74, 75).

Aktaş ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çürük yapıcı bakterilerin anneden çocuğa bulaşmasında etkili olan faktörlerin belirlenmesinin amaçlandığı çalışmada, çocukların ağız ortamlarına MS bulaşmasında annenin tükürük MS sayısının MS sayısı $>10^6$ cfu/ml ise 10.7 kat, $>10^5$ cfu/ml - $<10^6$ cfu/ml ise 3.2 kat ve $<10^5$ cfu/ml ise 2.5 kat etkili olduğu belirtilmiştir (3).

Horizontal Geis:

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, insan populusyonunda MSlerin anne dışındaki aile bireylerinden ve çocuklar arasında da bulaşabildiği yani horizontal bulaşmanın da söz konusu olabileceği bildirilmektedir. Yuvaların ya da bakıcıların bu organizmaların bebeğe geçişinde önemli kaynaklar oluşturduğu belirtilmektedir (20,84, 93).

2.2.3.4.4. MSlerin virulans faktörleri

Virulans terimi, bir mikroorganizmanın konakta hastalık oluşturma kapasitesi olarak tanımlanmaktadır. MSlerin kariyogenitesinde etkili olan başlıca virulans faktörleri; ekstrasellüler ve intrasellüler polisakkarit sentezi, adezyon, asidojenite ve asit toleransı olarak bildirilmektedir (72).

Ekstrasellüler Polisakkarit (EPS) Sentezi

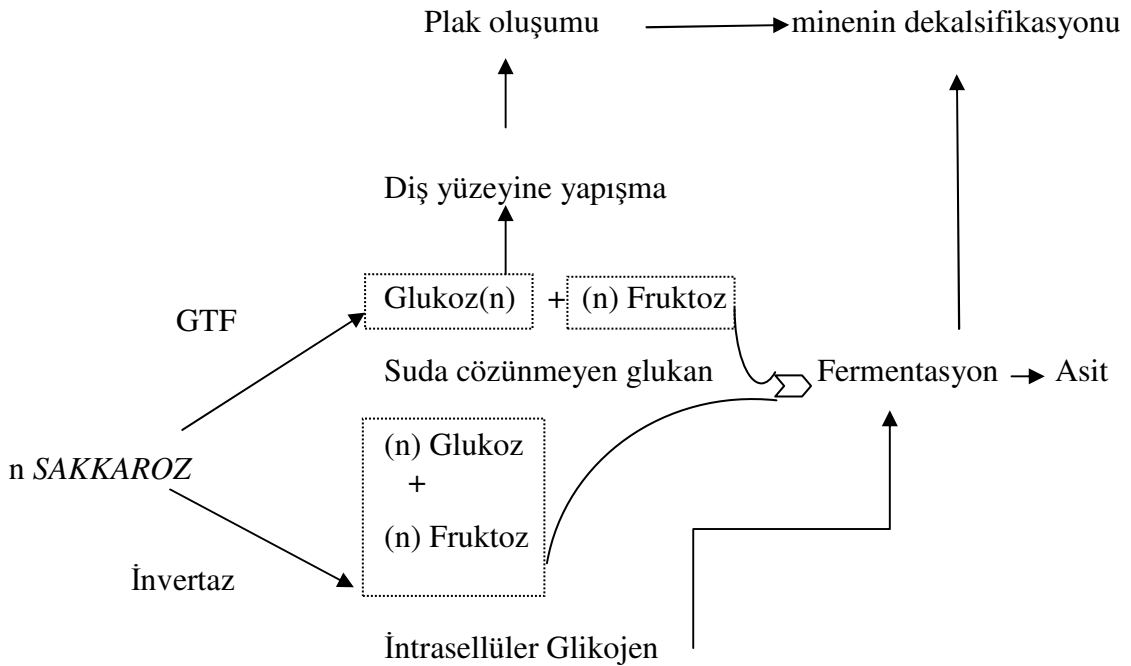
S. mutans dış çürüğünün başlıca patojeni olarak tanımlanmaktadır. *S. mutans*'ın en çok üzerinde durulan virulans faktörleri arasında; sakkarozdan suda çözünmeyen ekstrasellüler glukan sentezleme özelliği yer almaktadır. EPS'lerden özellikle suda çözünmeyen glukanlar dış yüzeyine bakteri yapışmasında rol oynamaktadır (138). Sakkarozdan suda çözünmeyen glukan sentezi, glukoziltransferaz (GTF) aktivitesi ile gerçekleşmektedir. Glukan sentezi, dış biyofilminde bakterilerin birikiminin başlıca nedeni olarak bildirilmektedir (11).

Sakkaroz metabolizması

Polisakkaritler, suda çözünebilir ya da çözünemeyen olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Suda çözünebilir polisakkaritler hareketlidir ve ortamda bulunan bakteriler tarafından metabolize edilebilmektedir. Suda çözünmeyen polisakkaritler ise, dış biyofilminin oluşumuna katılmakta ve bakterilerin biyofilme tutunmasını sağlamaktadır. Sakkaroz, GTF enzimi tarafından suda çözünebilir glukanın sentezi için kullanılan tek substrat olarak bildirilmektedir. Sakkaroz, asit oluşturmak için, ağızda bulunan streptokoklar tarafından kolaylıkla fermente edilebilmektedir (46).

Sakkaroz, *S. mutans* tarafından çeşitli metabolik yollar ile kullanılabilir (Şekil 2-4). *S. mutans* sakkaroz içeren besiyerinde, suda çözünebilir (α -1-6 bağlı) ve suda çözünmeyen (α -1-3 bağlı) glukozun (dekstran) büyük miktarda sentezlenmesini sağlayan GTF enzimi salgılamaktadır (46, 69). GTF enzimi de, hücre yüzeyine bağlanmakta ve sakkarozdan glukoz sentezlemektedir. *S. mutans* GTF enziminin bağlanma özelliği ile diğer oral bakterilerden ayrılmaktadır (91, 94, 106). Sakkaroz; fruktoziltransferaz (FTF) ya da glukoziltransferaz (GTF) enzimi ile ekstrasellüler polisakkaritler (EPS) ve intrasellüler polisakkaritleri (İPS) oluşturmaktadır. Bu monosakkaritler asidik ortam oluşturmak için birçok plak bakterisi tarafından kolaylıkla fermente edilebilmektedir. pH'daki düşüş, mine ya da dentinin dekalsifiye olmasına neden olmaktadır (46, 47, 69, 106, 149).

Şekil 2.0.2 Sakkarozun *S. mutans* tarafından kullanımı ve diş çürüğü patogenezi (46)



Diş yüzeyine yapışma (adezyon):

Diş çürüğünün başlangıç ve ilerlemesinden sorumlu olan diş biyofilmi içinde MSleri çok sayıda bulunmaktadır. MSlerin diş yüzeyine yapışması diş biyofilminin oluşumunda anahtar rol oynamaktadır (140). *S. mutans*'lar sakkaroz varlığında diş yüzeyine yapışmakta ve diyetle alınan çeşitli şekerleri fermente ederek asit oluşturmaktadır (46).

S. mutans'ın diş yüzeyine yapışması iki aşamadan oluşmaktadır: Birinci aşamada, organizma ve tükürük ile kaplı diş yüzeyi arasındaki geri dönüşümlü ilk etkileşim gerçekleşmekte, geri dönüşümü olmayan ikinci aşamada ise GTF enziminin etkisi ile sakkarozdan suda çözünmeyen glukoz sentez edilmektedir (23, 46).

MSlerin sakkarozdan sentezledikleri EPS'ler ve yüzey proteinleri diş yüzeyine yapışmada rol oynamaktadır. *S. sobrinus*'un diş yüzeyine yapışmasında öncelikle EPS'lerin etkili olduğu, yüzey proteinlerinin ise çok az etkisi olduğu bildirilmektedir. Bu mikrobiyolojik özelliklerin yanında konağa bağlı faktörler de diş yüzeyine yapışmayı etkilemektedir (133).

İntrasellüler Glikojen-Benzeri Polisakkarit Sentezi (İPS)

Devamlı ve fazla oranda şeker alımı; *S. mutans*'ın İPS sentezlemesine neden olmaktadır. İPS'lar, eksojen şeker alımının sınırlı olduğu durumlarda organizmaların yeterli düzeyde asit oluşturmasını sağlayacak depo görevi gören glukozlar olarak tanımlanmaktadır (46).

Asit toleransı (asidürite) ve asit üretimi (asidojenite)

MSlerin birçok farklı şekeri fermente ettiği bildirilmektedir (72). Ortamda şekerin fazla bulunduğu durumlarda, glikoliz sonucu oluşan pürivik asit laktatdehidrogenaz (LDH) enzimi ile laktik asite çevrilmekte ve oluşan laktik asit'in, diş çürüğü

oluşumunda en etkili asit olduğu bildirilmektedir (108). Diğer ağız bakterileri ile karşılaştırıldığında MSlerin sakkarozdan laktik asit üretimlerinin daha hızlı olduğu bildirilmektedir (72).

S. mutans ürettiği adenozintrifosfataz (ATPaz) enzimi ile H⁺ iyonlarını hücre dışına pompalamakta ve hücre içi asit konsantrasyonunu azaltmaktadır. Bu özelliği ile *S. mutans* pH<5 olduğu durumlarda glukolize devam etmektedir (16).

2.2.3.4.5. MSlerin izolasyonunda kullanılan kültür yöntemleri

MS, fakültatif anaerop mikroorganizmalar olarak tanımlanmakta ve 37 °C'de optimal üreme gösterdikleri bildirilmektedir (47).

MSlerin izolasyonunda beş farklı besiyeri kullanılabilir. Bu besiyerleri; MSB, mitis salivarius basitrasin kanamisin agar (MSKB), glukoz-sakkaroz-tellürit basitrasin agar (GSTB), basitrasin ve sakkarozlu triptoz soy broth (TYS20B), sakkaroz ve basitrasin içeren tripton-maya ekstrasistein broth (trypton-yeast extracysteine) (TYCSB) olarak sıralanmaktadır (134).

MS agarda, *S. mutans*'ların küçük, kabarık, düzensiz sınırlı koloniler oluşturdukları ayrıca *S. sobrinus* kolonilerinin ise jelatin benzeri kıvamda bir koloni ile sınırlandırıldığı bildirilmektedir (47).

MSlerin primer izolasyonu için en sık kullanılan besiyerinin sakkaroz, basitrasin, ve potasyum tellürit içeren MSB agar olduğu belirtilmekte ve *S. mutans*, *S. sobrinus* ve *S. rattus* için seçici olduğu vurgulanmaktadır. MSB agarda, *S. mutans* kolonilerinin buzlu cam görünümünde olduğu; *S. sobrinus* kolonilerinin ise krem gibi, badem ezmesi kıvamında, mat tanecikli yüzeyli olduğu bildirilmektedir (143).

MSB agara kanamisin sülfat ve sorbitol eklenmesi ile MSKB agar elde edilmektedir. TYCSB agar, TYC agar [triptoz, maya özü ve sistein (trypticase, yeast extract and

cysteine)] sakkaroz ve basitrasın içermektedir (134). TYCSB agarda *S. sobrinus*'un beyaz süt benzeri bir zon ile sınırlandırılan koloniler oluşturduğu bildirilmektedir (143).

2.2.3.4.6. MSlerin belirlenmesinde kullanılan yöntemler

MSlerin belirlenmesi, seçici ve seçici olmayan agarda oluşan koloni morfolojisindeki farklılıklara, gram boyama, ışık mikroskopunda görülen farklı hücre şekli, şeker fermentasyonu ve enzimatik aktivitelere dayanmaktadır (113).

Son yıllarda moleküler mikrobiyolojide geliştirilen yöntemler, bakteriyel izolatların tam olarak saptanmasını sağlamakta ve ayrıca MSlerin genetik çeşitliliğinin ve geçişinin belirlenmesinde kullanılabilmektedir (4, 29, 57).

2.2.3.4.7. MSlerin tiplendirilmesi

Bakteriyel izolatların tiplendirilmesi, spesifik hastalıklar ile ilişkili belirli suşların ve infeksiyonların heterojenitesinin saptanması amacı ile gerçekleştirilmektedir. Özellikle genotipleme yöntemlerinin, tükürük ve mikrobiyal dental plaktan izole edilen MSlerin genotipik heterojenitesini ortaya çıkardıkları bildirilmekte ve bu yöntemler ile bireylerin birden fazla MS genotipi ile kolonize olabileceğinin gösterilmesinin mümkün olduğu vurgulanmaktadır (107). MSlerin tiplendirilmesinde fenotipleme ve genotipleme yöntemleri kullanılabilmektedir.

1. FENOTİPLEME YÖNTEMLERİ

Bakterilerin karakterizasyonunda kullanılan fenotipleme yöntemleri arasında, bakteriyosin tipleme, serotipleme ve biyotipleme yer almaktadır (78).

Bakteriyosin tipleme

Ağızda bulunan streptokoklar için geliştirilen ilk epidemiyolojik tipleme yöntemi olduğu belirtilmektedir. Bakteriyosinler, bakteriler tarafından üretilen ve diğer bakterilerin çoğalmasını inhibe eden protein yapısında maddeler olarak tanımlanmaktadır (59, 86). *S. mutans* tarafından üretilen bakteriyosinler 'mutasin' olarak adlandırılmaktadır (45, 60).

Bakteriyosin tipleme, belirli işaretli suşların bakterilerin çoğalması üzerindeki inhibe edici özelliğinin saptanması ve diğer suşlar tarafından tiplendirilen bakteriyosinlere karşı duyarlılığın ölçülmesi ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemin, mikroorganizmaların anneden bebeğe geçişinin tanımlandığı çalışmalarda ve bakterilerin epidemiyolojik tiplendirilmesi için uygulandığı belirtilmektedir (45, 52, 71, 161).

Serotipleme:

Serotipleme yönteminin, MSlerin tiplendirilmesinde sıklıkla kullanıldığı ve bu yöntemde sınıflamanın, hücre duvarındaki antijenler temel alınarak gerçekleştirildiği bildirilmektedir. Ancak bu yöntemin kolonileri karşılaştırmaya ve farklı bireylerden elde edilen benzer serotipler arasındaki farkların belirlenmesine izin vermediği belirtilmektedir (97).

Biyotipleme:

1974 yılında Shklair ve Keene, mutans streptokoklarını; fermentasyon, arjinin hidrolizi ve bakteriyosin duyarlılık özelliklerine göre a'dan e'ye kadar beş biyotipe ayırmışlardır ve bu biyotiplerin daha önce tanımlanmış olan serotiplerle uyumlu olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca bu yöntemlerin yanı sıra, hücresel yağ asidi analizi, hücre protein analizi gibi yöntemlerin de biyotiplerede kullanılabileceği belirtilmektedir (61).

2. GENOTİPLEME YÖNTEMLERİ

Moleküler tiplendirme yöntemlerinin, mikroorganizmaların DNA'ları ile ilgili, ayırt ediciliği ve tekrarlanabilirliği yüksek yöntemler oldukları belirtilmektedir. Bu tiplendirme yöntemleri arasında; Arbitrarily-Primed Polimeraz Zincir Reaksiyonu (AP-PZR), Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi: RFLP) gibi yöntemler yer almaktadır (48, 126, 158).

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR)

1983 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Karry Mullis tarafından geliştirilen bu yöntem nükleik asitlerin canlı organizma içinde bulunmadan, uygun koşullar altında çoğaltılması esasına dayanmaktadır (98). Hem araştırmada hem de klinik laboratuvar tanısındaki uygulama alanlarıyla büyük öneme sahip olan PZR'unun geliştirilmesindeki çalışmaları nedeniyle, Karry Mullis'in, 1993 yılında Nobel Ödülünü aldığı bildirilmektedir (128, 137).

PZR, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir. Kolay uygulanabilir olması ve hızlı sonuç vermesi gibi avantajları nedeniyle; kalıtsal hastalıkların tanısında, prenatal (doğum öncesi) tanıda, klinik örneklerde patojen (hastalık yapabilecek) organizmaların saptanmasında, adli tıpta, klonlamada; gen tanımlaması araştırmaları, adli tıp örneklerinin genetik tiplendirilmesi (annelik-babalık tayini), doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesi gibi tıp alanlarında, tarımda (tohum saflığının belirlenmesi), sistematik ve evolüsyon çalışmaları gibi birçok farklı alanda (doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı) kullanılabilir (98, 137, 154).

PZR'IN TEMEL BİLEŞENLERİ

PZR'ın temel bileşenleri, kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi, primerler, dNTP karışımı, tampon ve MgCl₂ 'dür (125, 154).

Kalıp DNA:

PZR'da genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir. Kalıp olarak tek ya da çift iplikli DNA'nın yanı sıra RNA'da kullanılabilir (154).

Polimerazlar:

DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere, orjinal kalıp iplikteki baz bilgisini kullanarak primer çiftine bir enzim yardımıyla dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) ekleyerek zincirin sentezini gerçekleştirirler. Enzim sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan primer çiftine gerek duymaktadır. Termotabil (ısıya dayanıklı) DNA polimeraz enzimlerinden PZR'de en yaygın olarak kullanılan, *Thermus aquaticus*'dan elde edilen **Tag DNA polimeraz** enzimidir (153, 154).

Primerler:

PZR'nun birçok uygulaması için kalıp DNA'ya tamamen tamamlayıcı olan ve genellikle 18-20 oligonükleotidden oluşan primerlere gerek duyulmaktadır. Primerler, primer sentezi yapan laboratuvarlardan ya da ticari olarak elde edilebilir. Primer tasarımı yapılırken çoğaltılması istenen DNA dizisinin iki ucundaki, dizisi bilinen kısımlar dikkate alınmakta ve bu bölgelere tamamlayıcı olan primerler tasarlanmaktadır. Primer tasarımı yapmak için bilgisayar programları da geliştirilmiş olmakla birlikte, çoğu zaman araştırmacılar ilgilendikleri genleri ya da DNA parçalarını çoğaltmak için kendileri primer tasarımı yapmak durumundadırlar (153, 154).

dNTP Karışımı:

Deoksiribonükleozid trifosfatlar (dNTP, dATP, dGTP, dTTP, dCTP), tek tek ya da dÖrtlü karışım halinde ticari olarak sağlanmaktadır. Her deoksiribonükleozid trifosfat konsantrasyonunun eşit olması (20-200mM) ürünün özgünlüğü ve doğru sonuç elde edilebilmesi açısından önem taşımaktadır. Stok dNTP solüsyonlarının pH'nın 7.0 olması gerektiği ve konsantrasyonlarının spektrofotometrik olarak kontrol edilmesi gerektiği belirtilmektedir (153, 154).

Tamponlar ve MgCl₂ :

Tamponlar ve MgCl₂, DNA polimeraz enziminin çalışması için gerekmektedir. PZR'da kullanılan çeşitli tamponlar arasında genellikle önerilen PZR tamponunun, -20 °C'de saklanan 10-50 mM Tris-HCl olduğu bildirilmektedir. Tris amplifikasyon süresince pH'nın 6.8 ile 7.8 arasında olmasını sağlamaktadır (154).

Mg⁺² iyonları, dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluşturmakta, polimeraz aktivitesini uyarmakta ve çift iplikli DNA'nın denatürasyon derecesini artırmaktadır. Düşük MgCl₂ konsantrasyonu ürün oluşumunda azalmaya; yüksek MgCl₂ konsantrasyonu ise spesifik olmayan ürün birikimine yol açabilmektedir (153, 154).

PZR'NUN OLUŞUM MEKANİZMASI

PZR, çift iplikli bir DNA molekülünde hedef diziye iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanmaktadır. Kalıp DNA molekülü, yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra primerler, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelerle hibridleşmektedir. Primerlerin spesifik olarak hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşmektedir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dNTP varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlamaktadır (154).

PZR, denatürasyon, primerlerin bağlanması ve DNA sentezi olmak üzere üç basamaktan oluşan döngülerin tekrarlanması ile gerçekleştirilmektedir. Her tekrarlanışta iki primer arasında kalan hedef DNA'nın iki zincirine ait kopyaları çıkartılmaktadır (129).

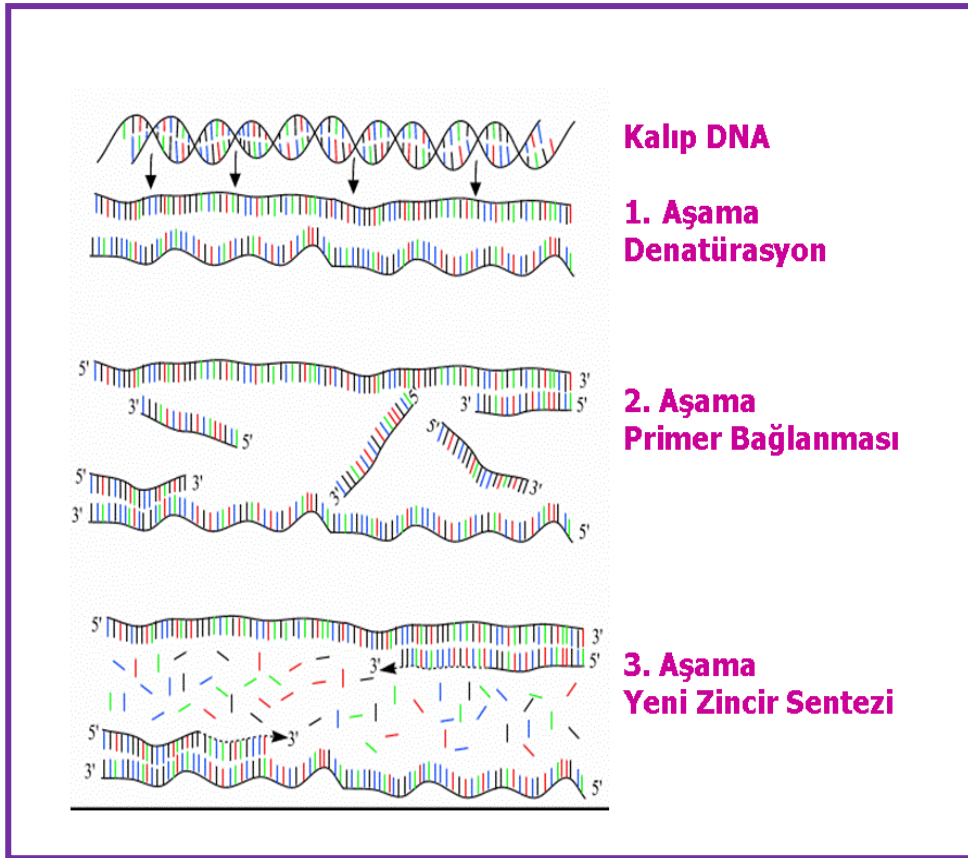
Denatürasyon: çoğaltılması istenen çift zincirli kalıp DNA, 94-96 °C'ye kadar ısıtılarak zincirleri birleştiren hidrojen bağlarının kopması sonucunda birbirinden ayrılmaktadır. Eğer çalışılacak genetik materyal RNA ise önce revers transkriptaz enzimi ile komplementer DNA (cDNA) oluşturulmakta ve daha sonra oluşturulan cDNA primere kalıplık etmektedir (129, 157).

Bağlanma (Annealing): Sıcaklığın düşürülmesi ile, çoğaltılması düşünülen DNA için spesifik primerler kendilerine özgü dizileri tanıyıp bağlanmaktadır. Her primer, örnekteki orijinal DNA sarmalının 3' veya 5' sarmalından birinin tamamlayıcısıdır (157). Ortam sıcaklığının, primerlerin optimum koşullarda bağlanabildiği sıcaklığa kadar soğutulması ile primerler kendileri için özgül dizileri tanıyarak 5'—>3' yönünde bağlanırlar. Primerlerin özgül olarak bağlanması için kullanılan sıcaklık genellikle 55-65 °C arasında değişmektedir (88).

Uzama (Elongasyon): Her primer hibridleştiği tek ipliğin karşılığını sentezler. Bu sentezin gerçekleşmesi için termostabil özelliği olan ve *Thermus aquaticus* bakterisinden elde edilen Taq DNA polimeraz enzimine gereksinim vardır. Ortam sıcaklığı Taq DNA polimerazın çalıştığı optimum sıcaklık 72 °C'ye getirildiğinden enzim molekülleri primerlerin 3' uçlarına bağlanarak DNA sentezine başlar. Enzim, primerlerin 3' ucuna dNTP'leri ekleyerek her iki zincir üzerinde 5'—>3' yönünde DNA sentezi yapar. DNA sentezi diğer uçtaki primer bölgesine de geçer. Dolayısıyla yeni zincirler ile birlikte yeni primer bağlanma bölgeleri oluşturulmaktadır (88, 129).

PZR protokolü üç aşamalı bir döngü olarak kabul edilir ve tipik olarak 30-50 döngüden oluşmaktadır:

Şekil 3.0.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi (169)



Ardarda tekrarlanan denatürasyon, primerlerin bağlanması ve primerlerin uzaması evreleri ile DNA parçaları üssel olarak artmaktadır. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PZR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkması ile sonuçlanmaktadır. PZR boyunca biriken ürünlerin boyu iki primerin boyu ve hedef DNA bölgeleri arasındaki mesafelerin toplamı kadardır. Çoğaltılan PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile görünür hale getirilmektedir (154).

Agaroz jel elektroforezi, elektriksel güç uygulanarak DNA'nın katoddan anoda doğru göç etmesi ilkesine dayalı olan ve DNA'nın moleküler ağırlığının ve/veya saflığının belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir (110).

Varsayılan patojenlerin saptanmasında direkt mikroskop incelemesi, kültür, enzim testleri gibi çeşitli yöntemler kullanılabilir. Diğer geleneksel yöntemler ile

karşılaştırıldığında, PZR yöntemi ile bakteri suşlarının daha hassas bir şekilde saptanabildiği vurgulanmaktadır. Ayrıca PZR incelemesinin, *S. mutans* ve *S. sobrinus* gibi karyojenik bakterilerin saptanmasında ve tanımlanmasında kolaylıkla uygulanabileceği belirtilmektedir (114, 124, 130).

PZR yöntemi, yüksek kesinlik ve kısa sürede sonuç elde edilmesi nedeni ile tanımlanan DNA sekanslarının amplifikasyonu yapılarak bakteri ya da virüslerin saptanmasında kullanılabilir (123, 124).

PZR TIPLERİ

Çok farklı PZR tipleri olmakla birlikte; ağız mikrobiyolojisinde en çok kullanılan PZR tipleri aşağıda açıklanmıştır:

❖ Arbitrarily Primed Polimeraz Zincir Reaksiyonu (AP-PZR)

İlk olarak 1990 yılında Welsch ve McClelland tarafından geliştirildiği bildirilen AP-PZR yöntemi, rastgele amplifiye edilmiş polimorfik DNA (random amplified polymorphic DNA) yöntemi olarak da adlandırılmaktadır (163). Bu yöntem, DNA'nın birçok bölgesinin, rastgele seçilmiş bir ya da birden fazla primer kullanılarak çoğaltılması esasına dayanmaktadır (31). Kullanılan primerler yaklaşık 9-10 baz çifti uzunluğunda kısa primerler olup bunların bağlanma dereceleri düşüktür. Bu düşük sıcaklıkta seçilen primer kendisi için özgül olan bölgelere bağlanabildiği gibi özgül olmayan yerlere de gidip bağlanabilmektedir (77, 126, 142).

Günümüzde kullanılan en basit DNA temelli tiplendirme yöntemi olarak tanımlanan AP-PZR, çeşitli türlerdeki suşların tür içindeki değişik serotiplerin ve serotip içerisindeki çeşitli alt tiplerin ayrılmasında kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, *S. mutans* ve *S. sobrinus* tiplendirilmesinde, geçiş ve kolonizasyon özelliklerinin saptanmasında kullanılabilir uygun bir yöntem olarak bildirilmektedir (10, 154, 158).

Uygulamasının kolay olması, kısa sürede sonuç vermesi yöntemin avantajları arasında yer alırken; standardizasyonunun sağlanamamış olması yöntemin dezavantajı olarak bildirilmektedir (48, 83, 126).

❖ **Nested PZR**

Bu yöntemde klasik PZR'den farklı olarak iki takım amplifikasyon primeri kullanılmaktadır. Bir primer seti ile DNA sekansının birinci amplifikasyonu gerçekleştirilmekte, ikinci primer seti ile reamplifikasyon sağlanmaktadır. Kullanılan ikinci primer seti diziye özgüdür. Tek aşamalı PZR yöntemine göre daha hassas ve spesifik bir yöntem olduğu bildirilmektedir. Toplam döngü sayısının fazlalığı nedeni ile yüksek oranda duyarlı olan bu yöntem mikrobiyal dental plaktan mutans streptokoklarının direkt olarak saptanmasında da kullanılabilir. Bu yöntemin en önemli avantajının mutans streptokoklarının kültür ve izolasyon işlemleri gerekmeden direkt olarak saptanması olduğu; en büyük dezavantajının ise, ilk amplifikasyon aşamasının tamamlanmasından sonra ürünlerin ikinci tüpe transferi sırasında yüksek kontaminasyon riski taşıması olduğu belirtilmektedir (58, 131, 154).

❖ **Multipleks PZR**

Multipleks PZR, aynı tüpe farklı hedefler için özgül olan iki veya daha fazla primerin birlikte konulduğu ve aynı zamanda çok sayıda hedef dizinin amplifiye edildiği bir amplifikasyon reaksiyonu olarak tanımlanmaktadır (38, 53).

Bu yöntem, farklı bakteri türlerinin, aynı zamanda tanımlanmasına izin vermektedir. Klasik PZR ile aynı basamaklarda gerçekleşmektedir. Verilen hedef bakteriye özgü olan çeşitli primer çiftleri, tek tüplü amplifikasyon reaksiyonunda kullanılmaktadır. Multipleks PZR ile daha az zamanda daha çok hedef bölge amplifikasyonu gerçekleştirildiğinden bu yöntemin oldukça kullanışlı bir yöntem olduğu belirtilmektedir (38, 137).

❖ Real Time (RT) PZR (Gerçek Zamanlı PZR)

Reaksiyon sırasında oluşan ürünlerin devamlı ölçülmesi ile karakterize olduğu bildirilmektedir. RT-PZR'de DNA, işaretli bir probun yardımıyla çoğaltılmaktadır. Bu yöntemde; her bir PZR döngüsünde oluşan floresans ışınımı aracılığı ile son ürün miktarı eş zamanlı olarak saptanabilmektedir. Cihaz boyayı ışık ile yaymakta ve optik sistem ile oluşan floresan miktarını okumaktadır. RT-PZR kapalı bir sistem içinde gerçekleştiğinden dolayı bu yöntemde çok sayıdaki örnekle son derece az kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir (90,154).

Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi: RFLP)

RFLP, kromozomal DNA veya viral RNA'nın endonükleaz enzimleri ile kesilmesi ve elde edilen farklı büyüklükteki bantların agaroz jel elektroforezi ile görüntüledikten sonra UV ışık altında incelenmesi esasına dayanan bir yöntem olarak tanımlanmaktadır. *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un tanımlanması için kullanılan yöntemlerden biri olan RFLP, suşların besiyerlerinde kültür ve izolasyonu yapıldıktan sonra uygulanmaktadır. İşlemlerin uzun zaman gerektirmesi, bu yöntemin dezavantajı olarak bildirilmektedir (97, 130, 131, 153, 154).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kullanılan Aletler

Agaroz jel elektroforez düzeneği, E-C Apparatus Corporation EC250-90

Agaroz jel elektroforez güç kaynağı, Edi

Mum kavanozu, Oxoid

Bunsen beki

Buzdolabı, Arçelik No Frost

Derin dondurucu -20° C, Arçelik

Derin dondurucu -80° C, Thermo

Distile su cihazı, Simplicity, Millipore

Etüv, Memmert

Güç kaynağı, Edi

Hassas terazi, Shimadzu Ax200

Isısal döngü cihazı, Eppendorf Mastercycler personal

Laminar flow, Heraeus

Manyetik karıştırıcı, Nüve MK 418

Mikrodalga fırın, Vestel

Mikroskop, Olympus CH-2

Otoklav, Nüve OT 4060

Otomatik mikropipetler, Finn

Pasteur fırını, Dedeoğlu

PH metre, WTW

Polaroid transliminatör, GelCam

Terazi, Owa labor

Santrifüj, Heraeus Biofuge pico

Santrifüj, Elektro-mag M-16

Su banyosu, Nüve BM 402

UV kaynağı, Vilber Lourmat TCX-20M

Vorteks, Falc Mix-20

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri, Merck (VM325993)

Mitis salivarius agar, Acumedia, 7277A

Sorbitol, Sigma (S-1876)

Sakkaroz, Merck (K 33154951)

Triptic soy broth, Merck (VM230759)

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agaroz, Sigma (A-9539)

Asetik Asit Glasiyal, Riedel-de Haen (27225)

Bromfenol Mavisi, Merck (L-307222)

dNTP set, Fermantas

Etanol, Merck (K-23047571)

Etidyum bromid (2,7 Diamino-10ethyl-9phenyl-phenanthridinium bromide), Sigma (E-1510)

Etilendiamintetraasetat (EDTA), Sigma (E-5134)

Gliserol, Merck (K35624492)

Kristal Violet boyası, Merck (K22815008)

Magnezyum klorür, (25mM) Fermantas

Potasyum iodür, Merck (B158740)

Sodyum klorid, Merck (K30914004)

Sulu Fuksin boyası, Merck (5232675)

Taq DNA polimeraz, MBI Fermantas

Trisma base, Sigma (T-6066)

Triton-X100, Sigma (T8787)

Φx HAE III, Fermantas (SM0251)

3.1.4. Kullanılan Sarf Malzemeler

Cam balon (500 ml)
Basitrasin
Cam tüp (10 ml)
Eppendorf tüpü (0.2 ml,0.5 ml,1.5 ml)
Falcon tüpü,(15 ml,50 ml)
İmmersiyon yağı, Merck (840257131)
Kalaycı pamuğu
Lam
Mum
Plastik saklama kutusu
Plastik tek kullanımlık öze
Sakız (Falım, şekersiz damla sakızı)
Steril eküvyon çubuğu
Steril ependorf tüpü (0.2 ml, 0.5 ml, 1.5 ml, 2 ml)
Steril petri kutusu
Steril pipet ucu (10µl,100 µl,1000 µl)
Steril plastik pipet (1 ml,10 ml)
Steril tükürük kabı (100 ml)
Spor
Tellürit, BBL (211917)

3.1.5. Kullanılan Standart suşlar

Streptococcus mutans ATCC 25175

Streptococcus sobrinus ATCC 33478

3.1.6 Kullanılan Sulandırma Ortamları ve Besiyerleri

Tuzlu su

8.5 g NaCl ve 1000 ml distile su homojen olacak şekilde karıştırılmış ve cam tüplere 4.5 ml olarak dağıtılmıştır. 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edildikten sonra oda ısısında saklanmıştır.

Mitis Salivarius Basitrasin Agar (MSB)

Mitis salivarius basitrasin agar, mutans streptokokların tanımlanmasında seçici besiyeri olarak kullanılmaktadır.

90g mitis salivarius agar, 150g sakkaroz ve 1000 ml distile su homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. pH: 7.0 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edilmiştir. Besiyeri, otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50 °C'ye kadar soğutulmuş ve içine %1 tellürit ve 0.2 U/ml olacak şekilde, filtre ile sterilize edilmiş basitrasin konulmuştur. Hazırlanan besiyeri steril petri kaplarına dökülüp soğumaya bırakıldıktan sonra besiyerleri buzdolabında 4 °C'de saklanmıştır.

Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon Besiyeri

37g beyin kalp infüzyon broth ve 1000 ml distile su homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. pH: 7.4 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve cam tüplere 2 ml olarak dağıtılmıştır. 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edildikten sonra buzdolabında 4 °C'de saklanmıştır.

Sorbitol Besiyeri

▪ Bromtimol mavisi

0.2g Bromtimol mavisi üzerine 2.5 ml %98'lik etanol konulduktan sonra, en son olarak 50 ml distile su ilave edilmiş ve homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. pH: $7.2 \pm$

0.2 - 7.4± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edilmiştir.

▪ **Peptonlu su**

5g pepton, 2.5g NaCl, 5 ml bromtimol mavisi 500ml distile su homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. pH: 7.2±0.2-7.4±0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edilmiştir.

▪ **Sorbitol**

1g sorbitol ve 100 cc peptonlu su homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. pH: 7.2± 0.2 -7.4± 0.2 olacak şekilde ayarlandıktan sonra 0.45 µm'lik filtreden geçirilerek steril edilmiş ve buzdolabında 4 °C'de saklanmıştır.

3.1.7. Tampon Çözeltiler ve Solüsyonlar

▪ **Steril Tris-EDTA (TE) Buffer**

Tris-HCl	10 mM
EDTA (pH 7,4)	1 mM

▪ **Lizis Buffer**

Tris-HCl (pH 8)	100 mM
EDTA (pH 8)	10 mM
Triton-X 100	%10

▪ PZR Tampon 10x

Tris-HCl (pH 8,3)	100mM
MgCl ₂	15 mM
KCl	500 mM
Jelatin	%0,01

Deoksi Nükleozid Trifosfatlar (dATP, dCTP, dTTP, dGTP)

Herbiri 100 mM konsantrasyonda olan dGTP, dCTP, dATP, dTTP'den 10'ar µl alınıp 60 µl su konarak 10 kez seyreltilerek hazırlanmış ve -20 °C' de saklanmıştır.

Taq DNA polimeraz

Genellikle 5 U/µl olarak buffer'ı ile birlikte ticari olarak satılmaktadır.

Primerler

Ya liyofilize ya da çözelti halinde satılmaktadır. Protokolüne uygun olarak, 10-50 pmol olacak şekilde sulandırıldıktan sonra eppendorf'lara bölünmüş ve -20 °C'de saklanmıştır.

3.1.8. Agaroz Jel Elektroforezi İçin Kullanılan özeltiler

Tris Asetikasit EDTA (TAE) Tamponu 10x

242g Trisma base, 57,1 ml Glacial acetic acid, 100 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0) karıştırılarak, stok olarak hazırlanmaktadır. Stok solüsyondan 1/10 şeklinde distile suyla sulandırılarak kullanılmaktadır.

Etidyum Bromid

10 mg/ml olarak hazırlanmaktadır. Distile suda manyetik karıştırıcı ile çok uzun sürede çözöldükten sonra +4 °C'de karanlıkta saklanmaktadır. 10 mg/ml çözelti halinde ticari olarak satılmaktadır.

Yükleme tamponu

%0,25 Bromfenol mavisi ve %30 Gliserol TAE tamponu içinde karıştırılarak hazırlanmaktadır.

3.2. YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na rutin kontroller için gelen, hamileliğinin son ayında yer alan 15 anne ve baba çalışmaya alınmıştır. Bu anne ve babalar, yapılacak çalışma ile ilgili bilgi verilerek aydınlatılmış ve onam formu okutularak kabul eden anne ve babalara imzalatılmıştır (Ek 1. Hasta onam formu). Anneler tükürüklerinde mutans streptokok açısından değerlendirilmiştir. Tükürüklerinde 10^6 cfu/ml ve üzeri olan yedi anne ve eşleri çalışma grubunu oluşturacak şekilde çalışmaya alınmıştır. Çalışma grubunda yer alan çocuklar çalışma grubuna alınan anne ve eşlerinin çocukları olup, doğum sonrasında çalışma grubuna dahil edilmiştir.

Anne ve babaların Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre ağız içi muayeneleri yapılmış, çürük, dolgu yapılmış ve çekilmiş dişler (DMFT) belirlenmiş ve İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı'nda hazırlanmış olan Çürük Aktivite Testi (ÇAT) formuna bilgileri kaydedilmiştir (Ek 2. Çürük aktivite testi istek formu).

3.2.1. Örneklerin alınması

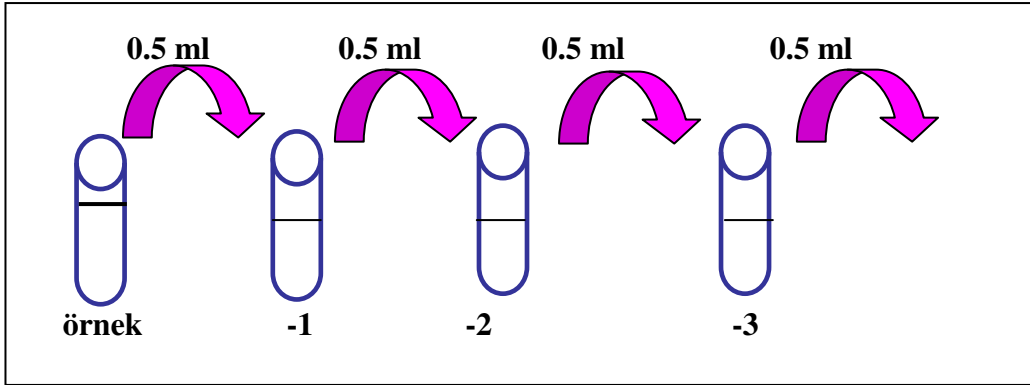
Anne ve babalardan tükürük örnekleri bir defa olmak üzere doğumdan sonraki birinci ayda alınmıştır. Örnekler alınırken bireylerin en az bir saat kadar yemek yememiş olmalarına ve son 30 gün içerisinde antibiyotik kullanmamış olmalarına dikkat edilmiştir. Anne ve babalara şekersiz sakız beş dakika süre ile çiğnetilmiş ve bu süre içinde ağızda toplanan uyarılmış tükürük örneği steril bir kaba toplanmıştır.

Çocuklardan örnek alımı doğumdan sonraki bir, dört, dokuz ve on ikinci aylarda yapılmıştır. Çocuklardan örnek alımı, steril eküvyon ağız içine sürülerek gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın laboratuvar işlemleri İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Anne, baba ve çocuklardan alınan örnekler yarım saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır.

3.2.2. Örneklerin ekimi ve çoğaltılması

Laboratuvara ulaştırılan tükürük örnekleri bir dakika süre ile vortekslenmiştir. 0.5 ml örnek alınıp, 4.5 ml'lik tuzlu suda 10^1 ve 10^3 'e kadar on katlı seri dilüsyonu yapılmıştır.

Şekil 3.0.1 Örneklerin tuzlu suda seri dilüsyonları



10^3 dilüsyonu yapılan örnekten 0.1 ml MSB agara ekim yapılarak mum söndürme kavanozunda $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir.

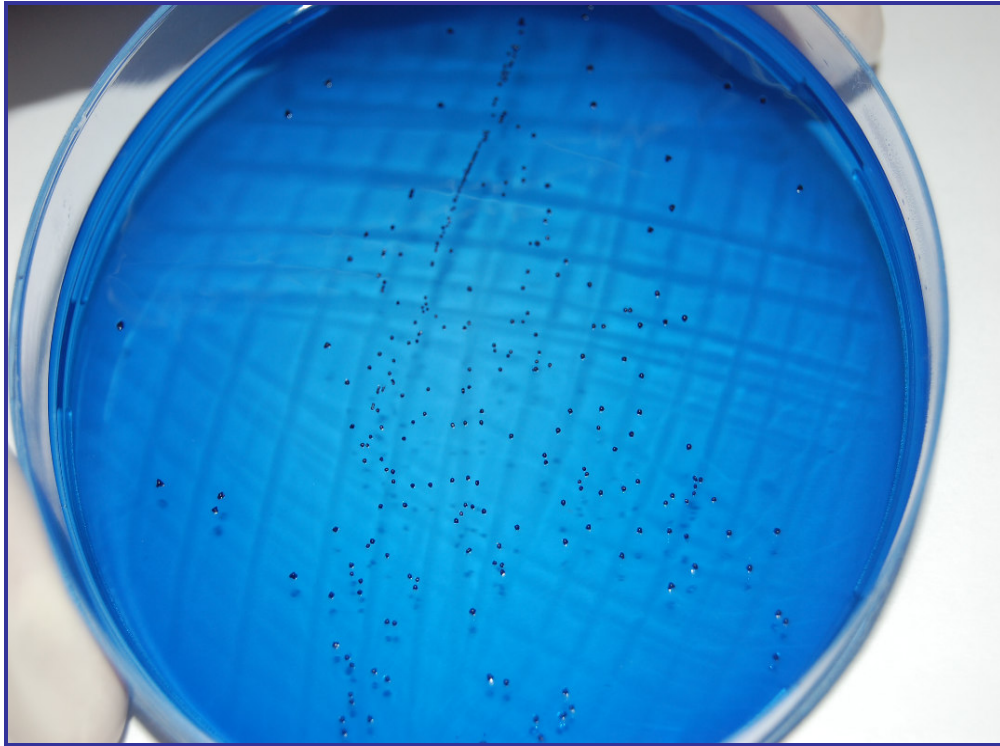
Şekil 3.0.2 Mum söndürme kavanozu



3.2.3. Mutans Streptokokların izolasyonu ve tanımlanması

İnkübasyon sonunda besiyerinde düzensiz, sert buzlu cam görünümünde, 0.5-2 mm çapında mutans streptokok kolonileri gözlenmiştir.

Şekil 3.0.3 MSB agarda üreyen mutans streptokok kolonileri



3.2.4. Beyin kalp infüzyon buyyon besiyerine ekim yapılması

MS kolonilerin herbirinden ayrı ayrı MSB agara ekim yapılmış ve mum söndürme kavanozunda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bu koloniler beyin kalp infüzyon buyyon besiyerine inoküle edilmiş ve mum söndürme kavanozunda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

3.2.5. Gram Boyama

Beyin kalp infüzyon buyyon besiyerinde üreyen kolonilerin gram özelliklerinin belirlenmesi ve kontaminasyon açısından değerlendirilmesi amacıyla gram boyaması yapılmıştır. Bunun için hazırlanan preparat alevden üç kez geçirilerek tespit edildikten sonra bir dakika kristal violet boyası ile işleme tabi tutulmuştur. Bir dakika lugol ile bekletildikten sonra alkol ile mor boya tamamen dekolarize edilmiştir. Zıt boya olarak sulu fuksin kullanılmış ve sulu fuksinde 30 saniye bekletilmiştir. Son olarak su ile yıkanmış ve kurularak mikroskopta immersiyon objektifinde incelenmiştir. Gram pozitif ve kontaminasyon olmadığı saptanan izolatlar çalışmaya alınmıştır.

3.2.6. Sorbitol Besiyerine Ekim Yapılması

S. mutans ve *S. sobrinus*'un sorbitol pozitif özelliğine sahip olması nedeni ile koloniler sorbitol besiyerine ekilmiştir. Sorbitol pozitif olanlar PZR işlemi için alınmıştır. Sorbitol pozitif suşlar steril gliserin içeren 500 µl'lik saklama besiyerine alınarak, - 80 °C'de saklanmıştır.

3.2.7. Standart *S. mutans* ve *S. sobrinus* Suşlarının Ekilmesi

-80 °C'de saklanan daha önceden sulandırılmış *S.mutans* ve *S.sobrinus* standart suşlarından bir öze ile alınarak MSB agara ekim yapılmıştır. Mum söndürme kavanozunda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

3.2.8. Bakteri DNA'sının Elde Edilmesi

DNA'nın elde edilmesi Oho ve arkadaşları tarafından tanımlanan yöntemin modifiye edilmesi ile gerçekleştirilmiştir (112). Bu yöntemdeki işlemler aşağıda tanımlandığı şekilde yapılmıştır:

1. Sorbitol pozitif izolatların her biri 2 ml beyin kalp infüzyon buyyon besiyerinde mum söndürme kavanozunda 37 °C'de bir gece inkübe edilmiştir.
2. Çalışma başlangıcında 5 sn süre ile vortekslenen örnekten 90 µl eppendorf tüpüne alınmıştır.
3. Üzerine 10 µl lizis buffer (100 mM Tris HCL pH:8.0, 10 mM EDTA pH:8.0, %10 Triton- X-100) ilave edilmiştir.
4. Örnek yaklaşık 30 sn vorteksledikten sonra 10 dakika su banyosunda kaynatılmıştır.
5. Kaynatma işleminin sonunda hızla alınıp 10 dakika buzda bekletilmiştir.
6. 10 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
7. DNA içeren sıvı kısım başka bir eppendorf tüpüne konularak kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

S. mutans ve *S. sobrinus*'un tür tanısı, türe özel olan 16S rDNA primerleri kullanılarak PZR ile gerçekleştirilmiştir.

Ekstraksiyon aşamasından sonra temiz odada PZR karışımı aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

3.2.9. PZR karışımı

Tampon 10x	5 μ l
dNTP 10 mM	1 μ l
Primer 1 (50 pmol/ml)	1 μ l
Primer 2 (50 pmol/ml)	1 μ l
MgCl ₂	3 μ l
Su	28,6 μ l
Taq DNA polimeraz	0,4 μ l (2 IU)
Toplam	40 μ l

Karışım temiz odada hazırlanarak üzerine ekstraksiyon odasında 10 μ l DNA ekstraksiyonundan konularak ısısız döngü cihazında çoğaltılmıştır.

Şekil 3.0.4 Isısız döngü cihazı



3.2.10. PZR Programı

95 °C 5 dk

+

95 °C 1 dk

60 °C 1dk

72 °C 1 dk

} + 36 döngü + 72 °C 10 dk.+ 4 °C ∞ program sonlanmıştır.

3.2.11. Kullanılan Primerler

S. mutans primerleri

5'-GGT CAG GAA AGT CTG GAG TAA AAA GGC TA-3'

5'-GCG GTA GCT CCG GCA CTA AGCC-3'

S. sobrinus primerleri

5'-CGG ACT TGC TCC AGT GTT ACT AA-3'

5'-GCC TTT AAC TTC AGA CTT AC-3'

Beklenen PCR ürünü uzunlukları *S. mutans* için 282 bç; *S. sobrinus* için 546 bç dir.

3.2.12. Agaroz Jelin Hazırlanması

Agaroz jel elektroforezi, elektriksel güç uygulanarak DNA'nın katoddan anoda doğru göç etmesi ilkesine dayalı olan ve DNA'nın moleküler ağırlığının ve/veya saflığının belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Jel 0,5x 8x10 cm boyutlarındaki kalıpta hazırlanmıştır. % 1.5 lik agaroz jel hazırlamak için; agarozdan 0,6g tartılarak son hacim 40 ml olacak şekilde 1x TAE tamponunda eritilmiştir. Soğutulduktan sonra bu karışıma DNA boyası olarak 10 mg/ml etidyum bromidden 3 µl ilave edilmiştir. Jel kabına taraklar yerleştirildikten sonra agaroz solusyonu dökülerek jel formuna gelene kadar

soğuması beklenmiş, yerleştirilen taraklar çıkarıldıktan sonra jelin elektroforez tankına aktarılması ile tank içine 1x TAE tamponu konularak PZR örneklerinin yüklenmesine geçilmiştir.

3.2.13. Jelin Yürütülmesi ve Görüntülenmesi

Örneklerin PZR aşamalarından sonra, eppendorf tüplerindeki PZR ürünlerinden 10 µl, yaklaşık 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklenmiştir. Molekül ağırlığı hesaplamaları için bir kuyucuğa da Φx HAE III yüklenmiştir. Daha sonra güç kaynağından sağlanan elektrik akımı (100v,60mA) ile 20 dakika elektroforez işlemi yapılmıştır. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jel UV altında incelenerek örneklerin pozitifliği değerlendirilip, fotoğrafı çekilmiştir.

3.2.14. AP-PZR ile Genotiplendirme

S.mutans ve *S.sobrinus* pozitif olan izolatların genotiplendirilmeleri Oho ve arkadaşları tarafından tanımlanan AP-PZR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (112). Bu yöntemdeki işlemler aşağıda tanımlandığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. *S. mutans* ve *S. sobrinus* izolatlarının her biri 2 ml beyin kalp infizyon buyyon besiyerinde iki gün mum söndürme kavanozunda 37 °C’de inkübe edilmiştir.
2. İnkübasyon sonunda örnekler 4000xg de 10 dakika santrifüj edilmiş ve 1 ml TE buffer ile yıkanmıştır.
3. Örnekler, 100 µl TE buffer ve 50 µl %10 sodyum dodosil sülfat ilave edilip, 30 dakika 65°C’ de inkübe edilmiştir.
4. Eppendorf tüpler mikrodalga fırınında 2 dakika 30 sn 490 W’ da ısıtılmıştır.
5. 250 µl TE buffer ile pellet sulandırılmıştır.
6. Örnekler -20 °C’de AP-PZR için kullanılıncaya kadar saklanmıştır.
7. AP-PZR öncesinde süspansiyon eritilmiş, santrifüj edilmiş ve süpernatant kullanılmıştır.

3.2.15. AP-PZR karışımı

Tampon 10x	5 µ l
dNTP 10 mM	1 µ l
Primer (50 pmol/ml)	0,4 µ l
MgCl ₂	6 µ l
Su	35,1 µ l
Taq DNA polimeraz	0,5 µ l
Toplam	48 µ l

Karışım temiz odada hazırlanarak üzerine ekstraksiyon odasında 1:99 oranında sulandırılmış DNA ekstraksiyonundan 2 µl konularak ısısız döngü cihazında çoğaltılmıştır.

3.2.16. AP-PZR Programı

95 °C 5 dk
 +
 94 °C 1 dk
 36 °C 2 dk
 72 °C 2 dk

} + 35 döngü + 72 °C 5 dk.+ 4 °C ∞ program sonlanmıştır.

3.2.17. Kullanılan Primerler

S. mutans, *S. sobrinus* (AP-PZR)

OPA-05 5'-AGC GGT CTT -3'

3.2.18. Agaroz Jelin Hazırlanması

Jel 0,5x 8x10 cm boyutlarındaki kalıpta hazırlanmıştır. % 1 lik agaroz jel hazırlamak için; agarozdan 0,4 g tartılarak son hacim 40 ml olacak şekilde 1x TAE tamponunda eritilmiştir. Yaklaşık 65 °C' ye kadar (el yakmayacak kadar) soğutulduktan sonra bir önceki agaroz jelin hazırlanması bölümünde açıklandığı şekilde yapılmıştır.

3.2.19. Jelin Yürütülmesi ve Görüntülenmesi

Bir önceki jelin yürütülmesi ve görüntülenmesi bölümünde açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Ailelerdeki benzer genotipler bir grup altında toplanmış; anne, baba ve çocuğun genotipleri karşılaştırılmıştır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Bu çalışmada istatistiksel analizler SPSS 10.0 programı ile gerçekleştirilmiştir. Nitel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi ve Fischer testi kullanılmıştır. Ayrıca, bağımlı grupların karşılaştırılması Friedman ve Wilcoxon testleri ile, bağımsız grupların karşılaştırılması ise MannWhitney-U testi ile gerçekleştirilmiştir. Veriler arasındaki korelasyonun saptanmasında Spearman Rho katsayısı kullanılmış ve anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş, DMFT, MS düzeyleri açısından değerlendirilmesi

Çalışmaya yaşları 26-38 arasında değişen yedi anne ve 32-42 arasında değişen yedi baba dahil edilmiştir. Annelerin yaş ortalaması $30,86 \pm 3,93$ (yıl), babaların yaş ortalaması $37 \pm 3,46$ (yıl) olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen annelerin DMFT ortalaması $6,86 \pm 1,95$ babaların DMFT ortalaması $3,71 \pm 1,11$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4-1).

Tablo 4.1 Çalışmaya dahil edilen anne ve babaların, yaş ve DMFT verilerinin değerlendirilmesi

	Ortalama	Standart sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Anne yaş (yıl)	30,86	3,934	30	26	38
Baba yaş (yıl)	37,00	3,464	38	32	42
Anne DMFT	6,86	1,952	7	3	9
Baba DMFT	3,71	1,113	4	2	5

Annelerin MS ortalaması $2.7 \times 10^6 \pm 193.19$; babaların MS ortalaması $4.6 \times 10^5 \pm 51.11$ olarak saptanmıştır. (Tablo 4-2).

Tablo 4.2 Çalışmaya dahil edilen anne ve babaların MS (10^4 cfu/ml) düzeylerinin değerlendirilmesi

MS (10^4 cfu/ml)	Ortalama	Standart sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Anne	272,86	193,19	180	110	620
Baba	46,00	51,118	26	1	130

Anneler ile babaların DMFT ve MS değerleri karşılaştırıldığında, DMFT ve MS (10^4 cfu/ml) değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p=0,011$; $p < 0,05$, $p=0,03$; $p < 0,01$) (Tablo 4-5).

Tablo 4.3 Anne ve babaların DMFT ve MS (10^4 cfu/ml) değerlerinin karşılaştırılması

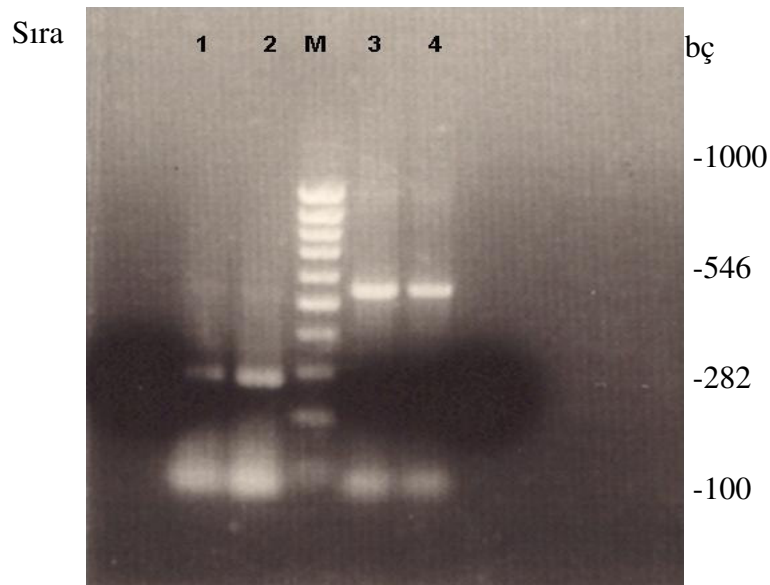
	DMFT	MS (10^4 cfu/ml)
Mann-Whitney U	5,000	1,000
Wilcoxon W	33,000	29,000
Z	-2,514	-3,003
P	0.011	0,003

Çalışmaya dahil edilen tüm anne ve babalardan birinci ayda alınan tükürük örneklerinden *S. mutans* izole edilmiş ve bir baba dışında hiçbir anne ve babadan *S. sobrinus* izole edilmemiştir. Çalışmaya dahil edilen bireylerden ikisine ait olan *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4-1'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen çocuklardan birinden doğumdan sonraki birinci ayda; tüm çocuklardan dokuncu ve on ikinci aylarda *S. mutans* izole edilmiş ancak *S. sobrinus* izole edilmemiştir.

Tablo 4.4 Çalışmaya dahil edilen çocukların aylara göre MS (10^3 cfu/ml) düzeyleri

ÇOCUK NO	MS 1. ay (10^3 cfu/ml)	MS 4. ay (10^3 cfu/ml)	MS 9. ay (10^3 cfu/ml)	MS 12. ay (10^3 cfu/ml)
1	0	0	3	3,5
2	0	0	2,3	3,4
3	0	0	2,1	2,7
4	0	0	2,2	3,8
5	0	0	2,1	2,9
6	0	0	2,3	3,5
7	0	0	2,2	3,7
8	3	2	2,8	3,6

Şekil 4.1 *S. mutans* ve *S. sobrinus* standart suşlarının ve çalışmaya dahil edilen bireylerden ikisine ait olan *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un agaroz jel elektroforez görüntüsü

1. 1-1 no'lu bireyden alınan örnekten izole edilen *S. mutans*'ın agaroz jel elektroforez görüntüsü, 2. *S. mutans* pozitif kontrolün agaroz jel elektroforez görüntüsü, M. Moleküler ağırlık, 3. *S. sobrinus* pozitif kontrolün agaroz jel elektroforez görüntüsü, 4. 7-2 no'lu bireyden alınan örnekten izole edilen *S. sobrinus*'un agaroz jel elektroforez görüntüsü

1. ay, 4. ay, 9. ay ve 12 aylarda çocuklardan izole edilen MS (10^3 cfu/ml) ortalaması sırası ile 0.38 ± 1.06 , 0.25 ± 0.70 , 2.38 ± 0.33 , 3.38 ± 0.38 olarak bulunmuştur (Tablo 4-4).

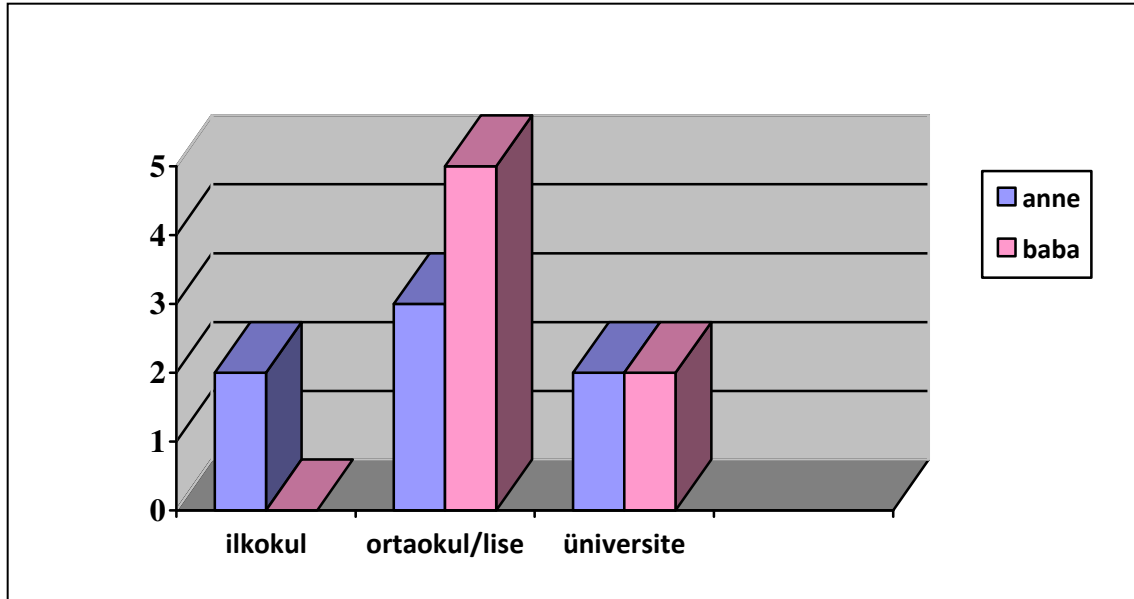
Tablo 4.5 1., 4., 9. ve 12 aylarda çocuklardan izole edilen MS (10^3 cfu/ml) değerleri

MS (10^3 cfu/ml)	Ortalama	Standart sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
1. ay	0.38	1,06	0	0	3
4. ay	0,25	0,7	0	0	2
9. ay	2,38	0,33	2,25	2	3
12. ay	3,38	0,38	3,5	2,7	3,8

Annelerin eğitim düzeyleri incelendiğinde; %28,6'sının ilkokul, %42,9'unun ortaokul/lise, %28,5'inin üniversite mezunu olduğu, babaların eğitim düzeyleri incelendiğinde ise %71,4'ünün ortaokul/lise, %28,6'sının üniversite mezunu olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4-6, Grafik 4-1).

Tablo 4.6 Anne ve babaların eğitim düzeylerinin karşılaştırılması

Eğitim Düzeyi	Sayı	%
Anne		
İlkokul	2	28,6
Orta okul/lise	3	42,9
Üniversite	2	28,5
Baba		
Orta okul/lise	5	71,4
Üniversite	2	28,6

Grafik 4-1: Anne ve babaların eğitim düzeylerinin karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen annelerin dördünün babaların altısının günde en az iki defa diş fırçaladığı, anne ve baba arasında diş fırçalama bakımından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p= 0,28$; $p>0.05$). Anne ve babalar gargara kullanımı açısından değerlendirildiğinde ise anne ve babaların hiçbirinin gargara kullanmadığı saptanmıştır (Tablo 4-7).

Tablo 4.7 Anne ve babaların diş fırçalama alışkanlığı ve gargara kullanımı açısından değerlendirilmesi

	Diş Fırçalama		Gargara kullanımı	
	var	yok	var	yok
Anne (n=7)	4 (%57,1)	3 (%42,9)	0	7 (%100)
Baba (n=7)	6 (%85,7)	1 (%14,3)	0	7 (%100)

Yapılan ağız içi muayenesi sonucunda annelerin ikisinin dişlerinde beyaz lezyon, beşinin dişlerinde çürük kavitesi varlığı tespit edilmiştir. Babaların ise dişlerinde beyaz saptanmamıştır. Buna karşılık iki babanın dişlerinde çürük kavitesi belirlenmiştir (Tablo 4-8).

Tablo 4.8 Anne ve babaların beyaz lezyon ve kavite varlığı açısından değerlendirilmesi

	Beyaz lezyon		Kavite	
	var	yok	var	yok
Anne (n=7)	2 (%28,6)	5 (%71,4)	5 (%71,4)	2 (%28,6)
Baba (n=7)	0 (%0)	7 (%100)	2 (%28,6)	5 (%71,4)

Yapılan ağız içi muayenesi sonucunda annelerin beşinin, babaların üçünün son üç yılda yapılmış dolguya sahip olduğu; ayrıca annelerin beşinin babaların ise dördünün diş yüzeylerinde gözle görünür bakteri plağı bulunduğu saptanmıştır (Tablo 4-9).

Tablo 4.9 Anne ve babaların son üç yılda yapılmış dolguya sahip olmaları ve diş yüzeylerinde gözle görünür bakteri plağı saptanması açısından değerlendirilmesi

	Son üç yılda yapılmış dolgu		Diş yüzeylerinde gözle görünür bakteri plağı	
	var	yok	var	yok
Anne (n=7)	5 (%71,4)	2 (%28,6)	5 (%71,4)	2 (%28,6)
Baba (n=7)	3 (%42,9)	4 (%57,1)	4 (%57,1)	3 (%42,9)

Çalışmaya dahil edilen anne ve babalar, sabit/hareketli protez kullanımı ve ortodontik tedavi görme açısından değerlendirildiğinde; annelerin altısının, babaların dördünün sabit/hareketli protez kullandığı; hiçbir anne ve babanın ortodontik tedavi görmediği saptanmıştır (Tablo 4-10).

Tablo 4.10 Anne ve babaların sabit/hareketli protez kullanımı ve ortodontik tedavi açısından değerlendirilmesi

	Sabit/hareketli protez kullanımı		Ortodontik tedavi	
	var	yok	var	yok
Anne (n=7)	6 (%85,7)	1 (%14,3)	0	7 (%100)
Baba (n=7)	4 (%57,1)	3 (%42,9)	0	7 (%100)

Çalışmaya dahil edilen yedi anneden beşinin bebeklerine mamalarını tadarak verdikleri; babaların ise hiçbirinin bebeğin mamasını tatmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4-11).

Tablo 4.11 Anne ve babaların bebeklerinin yemeklerini tatma açısından değerlendirilmesi

	Bebeğin mamasını tatma	
	var	yok
Anne (n=7)	5 (%71,4)	2 (%28,6)
Baba (n=7)	0	7 (%100)

Bulgular değerlendirildiğinde, çalışmaya dahil edilen anne ve babaların orta düzeyde eğitime sahip oldukları; ağız-diş bakımlarının yeterli düzeyde olmadığı ve annelerin bebekleri ile yakın ilişkisi olduğu saptanmıştır.

Çocukların 1., 4., 9. ve 12. aylardaki MS (10^3 cfu/ml) düzeylerinde farklılık olup olmadığı non-parametrik Friedman testi ile incelenmiş ve MS (10^3 cfu/ml) düzeylerinde farklılık olduğu saptanmıştır ($p=0,001$) (Tablo 4-12).

Tablo 4.12 Çocukların 1., 4., 9. ve 12. aylardaki MS (10^3 cfu/ml) düzeylerinin değerlendirilmesi

MS (10^3 cfu/ml)	Ortanca	Minimum	Maksimum
1. ay	0	0	3
4. ay	0	0	2
9. ay	2,25	2	3
12. ay	3,5	2,7	3,8
Friedman $\chi^2=21,99$ $p=0,001$			

Birbirini takip eden aylardaki MS değerlerinin karşılaştırılması ise Bonferroni düzeltmesi uygulanarak Wilcoxon testi ile gerçekleştirilmiş ve 1.ay-4.aylar arasında anlamlı bir fark olmadığı; 4. ay-9.ay ve 9.ay-12.aylar arasında ise anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($Z=-2,530$, $p=0,11$; $Z=-2,545$, $p=0,12$) (Tablo 4-13).

Tablo 4.13 Birbirini takip eden aylardaki MS (10^3 cfu/ml) düzeylerinin karşılaştırılması

MS (10^3 cfu/ml)	Z	p
1.ay-4. Ay	- 1,000	0,317
4. ay-9.ay	-2,530	0,11
9.ay-12.ay	-2,545	0,12

Anne va babaların DMFT VE MS değerleri ile çocuğun 1., 4., 9. ve 12. aylardaki MS değerleri arasında ilişki Spearman Rho katsayısı kullanılarak değerlendirilmiş ve herhangi bir ilişki olmadığı saptanmıştır (Tablo 4-14).

Tablo 4.14 Anne ve babanın DMFT ve MS değerleri ile, çocuğun 1., 4., 9. ve 12. aylardaki MS (10^3 cfu/ml) düzeyleri ve genotip sayısı arasındaki ilişki

<i>Spearman Rho</i>	Çocuk 1. ay MS (10^3 cfu/ml)	Çocuk 4. ay MS (10^3 cfu/ml)	Çocuk 9. ay MS (10^3 cfu/ml)	Çocuk 12. ay MS (10^3 cfu/ml)	Çocuğun genotip sayısı
Anne DMFT					
kk	-,588	-,588	,179	,207	-,252
p	0,125	0,125	0,671	0,622	0,548
N	8	8	8	8	8
Baba DMFT					
kk	-,342	-,342	-,126	,553	-,013
p	0,406	0,406	0,767	0,155	0,976
N	8	8	8	8	8
Anne MS (10^4 cfu/ml)					
kk	,581	,581	,195	,705	,510
p	0,131	0,131	0,643	0,051	0,197
N	8	8	8	8	8
Baba MS (10^4 cfu/ml)					
kk	,581	,581	,195	,705	,510
p	0,131	0,131	0,643	0,051	0,197
N	8	8	8	8	8

(kk: korelasyon katsayısı, $p < 0,01$)

4.2. Aile bireylerinden izole edilen *S. mutans*'ların genotipik çeşitlilik yönünden değerlendirilmesi

Çalışmaya katılan bireylerin en fazla dört genotipe sahip olduğu; ailelerde ise en fazla 11 genotip bulunduğu saptanmıştır (Tablo 4-15).

Tablo 4.15 Birey ve ailelerde saptanan genotip sayıları

Genotip sayısı	Birey sayısı	Genotip sayısı	Aile sayısı
1	13	3	3
2	4	4	1
3	3	5	1
4	2	8	1
		11	1
38 genotip/22 birey (ort 1.72 genotip/birey)		37 genotip/7 aile (ort 5.25 genotip/birey)	

Çalışma; yedi anne, yedi baba, ailelerden birinin ikiz bebeklere sahip olması nedeni ile sekiz çocuk (dört kız, dört erkek) ile gerçekleştirilmiştir. Anne ve babadan çocuğa geçen *S. mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesinin amaçlandığı bu çalışmada beş anne-çocuk ve bir anne-baba çifti arasında genotipik benzerlik saptanmıştır (Tablo 4-16).

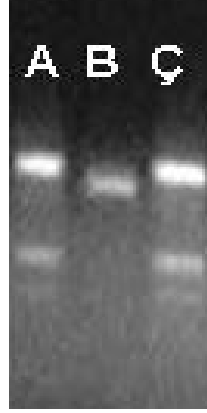
Çalışmaya dahil edilen annelerin en fazla üç, babaların iki ve çocukların dört farklı *S. mutans* genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm aileler genotipik çeşitlilik açısından incelendiğinde, toplam 29 farklı genotip saptanmış ve 1 no'lu genotipin iki ailede (1. ve 7. aileler), 12 no'lu genotipinin ise dört ailede (3., 4., 6. ve 7. aileler) ortak olarak bulunduğu görülmüştür (Tablo 4-16, Şekil 4-9).

Tablo 4.16 Aile bireylerinden izole edilen *S. mutans*'ların genotipik çeşitlilik yönünden değerlendirilmesi

Aile no- Birey	g1	g2	g3	g4	g5	g6	g7	g8	g9	g10	g11	g12	g13	g14	g15	g16	g17	g18	g19	g20	g21	g22	g23	g24	g25	g26	g27	g28	g29
1-1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-3	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7-1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
7-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
7-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
7-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1

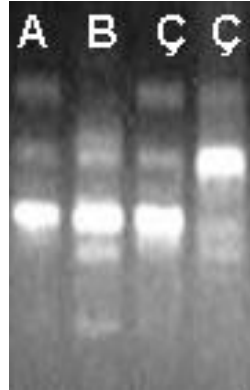
(-1: anne -2: baba -3: çocuk)

Şekil 4.2 1. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



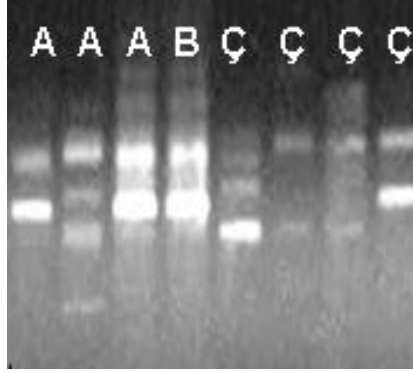
Birinci ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde, annenin, babanın ve çocuğun birer genotipe sahip olduğu; anne ve çocuğun genotiplerinin aynı olduğu saptanmıştır (Şekil 4-2).

Şekil 4.3 2. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



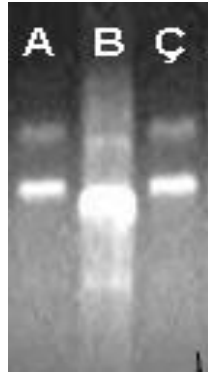
İkinci ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde, anne ve babanın birbirinden farklı birer genotipe sahip olduğu; çocuğun ise iki farklı genotipinin bulunduğu ve bu genotiplerden birinin annesinin genotipi ile aynı olduğu görülmüştür (Şekil 4-3).

Şekil 4.4 3. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



Üçüncü ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde, annenin üç, babanın bir ve çocuğun dört genotipe sahip olduğu; saptanan her genotipin de birbirinden farklı olduğu görülmüştür (Şekil 4-4).

Şekil 4.5 4. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



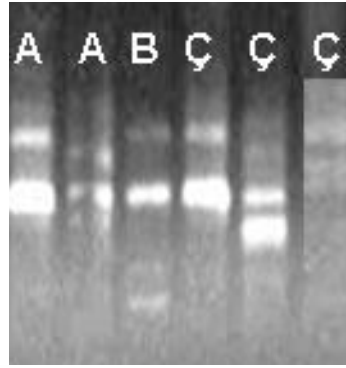
Dördüncü ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde, annenin, babanın ve çocuğun birer genotipe sahip olduğu; anne ve çocuğun genotiplerinin aynı olduğu saptanmıştır (Şekil 4-5).

Şekil 4.6 5. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



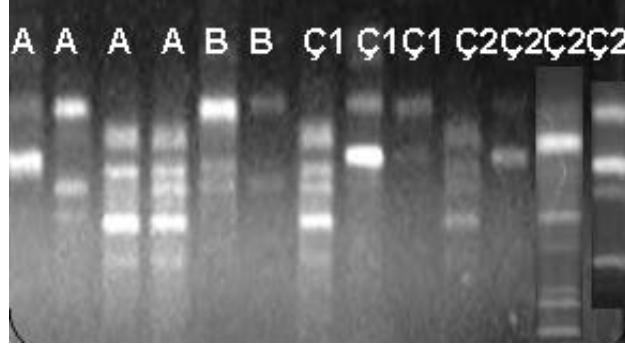
Beşinci ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde, annenin, babanın ve çocuğun birbirinden farklı birer genotipe sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4-6).

Şekil 4.7 6. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



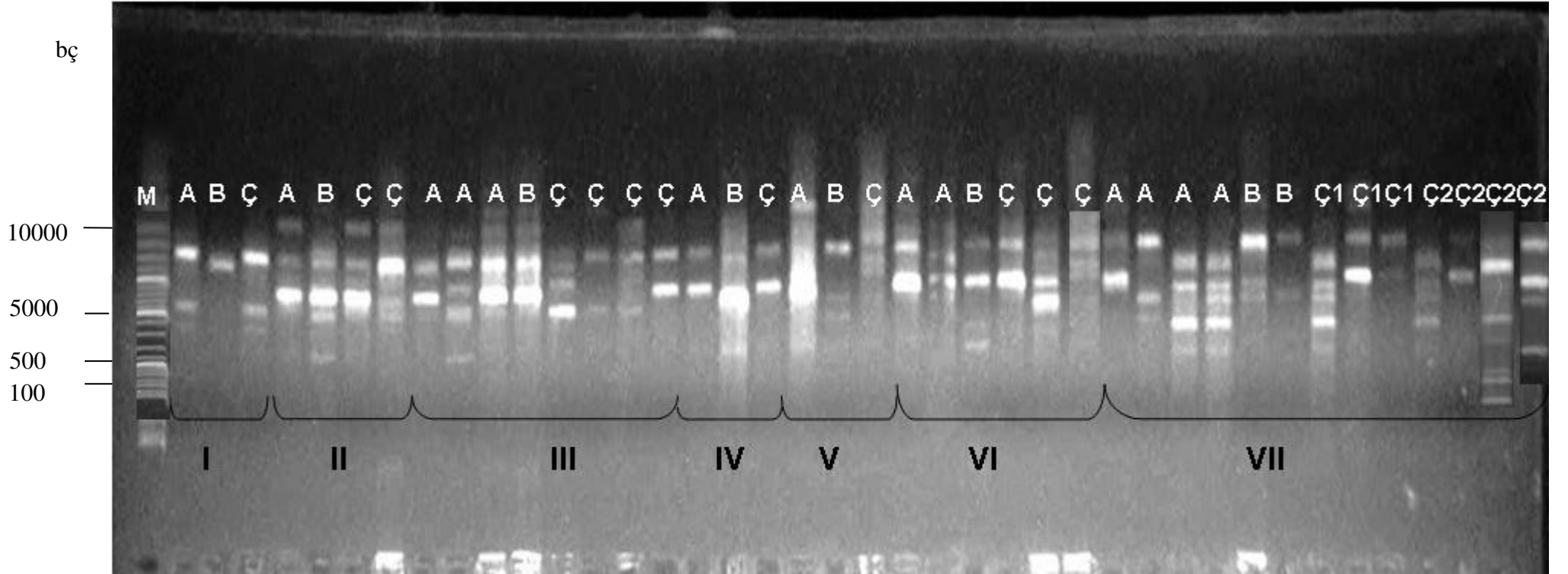
Altıncı ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde, annenin iki, babanın bir ve çocuğun üç farklı genotipe sahip olduğu; anne ile çocuğun birer genotipinin aynı olduğu saptanmıştır (Şekil 4-7).

Şekil 4.8 7. Ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü



Yedinci ailenin genotiplerinin agaroz-jel elektroforez görüntüsü incelendiğinde; annenin beş, babanın iki, çocuklardan birisinin üç diğerinin ise dört farklı genotipe sahip olduğu; bir genotipin anne ve çocuklarda aynı olduğu saptanmıştır (Şekil 4-8).

Şekil 4.9 Yedi ailedeki anne, baba ve çocuk genotip dağılımlarının toplu olarak gösterilmesi



A: Anne, B: Baba, Ç: Çocuk, Ç1: 1. Çocuk, Ç2: 2. Çocuk, M: Moleküler ağırlık

I: 1. Aile, II: 2. Aile, III: 3. Aile, IV: 4. Aile, V: 5. Aile, VI: 6. Aile, VII: 7. Aile

5. TARTIŞMA

Bulaşıcı bir enfeksiyon hastalığı olarak tanımlanan diş çürüğünün özellikle çocuklar için başlıca ağız sağlığı sorunu olduğu ve erişkinlerin büyük çoğunluğunda ve okul çağındaki çocuklarda %60-90 oranında görüldüğü bildirilmektedir (132, 150, 155).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nun 1999 Kopenhag zirvesinde; 2020 yılına kadar 6 yaşındaki bireylerin en az %80'inin çürüksüz olması ve 12 yaşındaki bireylerin ortalama DMFT indeksinin 1,5'ten düşük olmasının hedeflendiği belirtilmektedir. (165).

Tüm bu sonuçlar karşısında, *S. mutans*'ların anne başta olmak üzere babadan da çocuğa geçiş olup olmadığının belirlenmesi ve bu tabloyu değiştirebilecek koruyucu önlemlerin alınmasının sağlamak, bu çalışmanın başlıca amaçları arasında yer almaktadır.

S. mutans insanlarda mikrobiyal diş biyofilminde en sık izole edilen ve diş çürüğü ile yakın ilişkisi olan mikroorganizma olarak tanımlanmaktadır (9, 44, 83, 131, 147). Diş çürüğü sıklığı ile *S. mutans* seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu, bu mikroorganizmanın ortamdan uzaklaştırılması ile çürük sıklığında azalma görülebileceği bildirilmektedir (44).

Çoğulu ve arkadaşları çürük saptanmayan 92 çocukta, Erken Çocukluk Çürüğü (EÇÇ) oluşumunu, tükürük MS düzeyi, mikrobiyal plak birikimi, anne ile paylaşım, ağız hijyeni ve beslenme alışkanlıklarını baz alarak değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda, çürük oluşumu ile anne ile paylaşım, tükürük MS düzeyi ve plak değerleri arasında anlamlı korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (30).

Law ve arkadaşları, çocuklarda MS kolonizasyonunda rol oynayan faktörleri belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, MSlerin daima anneden çocuğa geçtiğini; geçiş riskinin, annenin tükürük MS düzeyinin yüksek olması ve anne ile çocuk arasındaki yakın temasa bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, MSlerin kolonizasyonunda bakteriyel virulans, konağa bağlı faktörler ve çevresel faktörlerin rol oynayacağını vurgulamışlardır (73).

Tükürük, ağız mukozasını kaplayarak irritasyona karşı korumakta; dişlerin remineralizasyonu için gerekli olan iyonlar için bir depo görevi görmekte; yutkunmaya yardımcı olmakta ve antimikrobiyal etki göstermektedir. *S. mutans*'ın aile bireyleri arasındaki geçişinin tükürük aracılığı ile gerçekleştiği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. Bu çalışmalarda annenin tükürüğündeki *S. mutans* sayısı ile çocuğun tükürüğündeki *S. mutans* sayısı arasında korelasyon olduğu ve çocuklarda çürük saptanmasının bu mikroorganizmaların tükürük içindeki miktarına bağlı olduğu vurgulanmaktadır. Bu nedenle bireylerde çürük sıklığının belirlenmesinde tükürüğün bir tanı aracı olarak kullanılabilmesi belirtilmektedir (37, 87, 120). Bu çalışmada da, çalışmaya dahil edilen anne, baba ve çocuklardan tükürük örneği alınmış ve MS değerleri belirlenmiştir.

S. mutans'ın izolasyonunda en çok kullanılan besiyerleri MSB ve TYCSB agar olarak belirtilmektedir (89). Bu iki besiyeri ile ilgili yapılan karşılaştırma çalışmalarında bazı araştırmacılar MSB agar içerisindeki tripan mavisinin birçok *S. mutans* suşunu inhibe ettiğini bildirmiş (47, 81); bazı araştırmacılar ise MS izolasyonunda iki besiyeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını vurgulamışlardır (143). Bu çalışmada, bireylerden alınan tükürük örneklerinin öncelikle seyreltme işlemleri yapılmış ve bu örnekler MSB agarda %5 CO₂ li ortamda 48 saat inkübe edilmiştir.

Saaerela ve arkadaşları, AP-PZR'un oral patojenlerin de içinde bulunduğu bir çok bakteri türünün genotipik karakterizasyonunda kullanılabileceğini belirtilmektedir (126). Ayrıca, yapılan çalışmalarda, AP-PZR yönteminin hızlı ve kolay bir yöntem olduğu da vurgulanmaktadır (48, 126).

Loyola-Rodriguez ve arkadaşları çalışmalarında PZR'nun, çürük çalışmalarının moleküler epidemiyolojisinde kullanılabilecek faydalı bir yöntem olduğunu bildirmiş; ayrıca çocuklardan alınan tükürük örneklerinde *S.mutans* ve *S.sobrinus* saptanmasında kolaylıkla kullanılabileceğini vurgulamışlardır (87).

Napimoga ve arkadaşları, sekiz çürüklü ve sekiz çürüksüz bireyden izole edilen *S. mutans* suşlarının genotipik çeşitliliğini belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında AP-PZR yönteminin *S. mutans*'ların tiplendirilmesinde kullanılabilecek hızlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (106). Anne ve babadan çocuğa geçen *S. mutans* ve *S. sobrinus* genotiplerinin saptanmasının amaçlandığı bu çalışmada AP-PZR yöntemi kullanılmıştır.

MS'nin optimum düzeyde kolonize olduğu dönem "İNFEKTİVİTE PENCERESİ" olarak adlandırılmakta ve bu dönemin 19-31. ayları (ortalama 26. ay) kapsadığı belirtilmektedir (24, 43, 105). Florio ve arkadaşları, bebeklerde MS'nin ilk kazanıldığı zamanı belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, 33 bebek ve bu bebeklerin annelerinden aldıkları örnekleri PZR yöntemi ile incelemişler ve 29 çocukta MS için ilk pozitif kültür saptanan dönemin 15.3 ± 4.6 ay olduğunu bildirmişlerdir (43).

İnfeksiyon bulaşma zamanının anne ya da çocuğa bakan diğer kişilerden çocuğa *S. mutans* geçişini etkileyen faktörlere, ağız hijyen alışkanlıklarına, immünolojik duruma, sakkaroz tüketimine bağlı olarak değişebileceği bildirilmektedir (95).

Mattos-graner ve arkadaşları, 12-30 aylık Brezilya'lı çocuklarda MS kolonizasyonunu inceledikleri çalışmalarının sonucunda; çocuklarda 19. aydan önce MS saptanmadığını ve annelerin yüksek çürük risk grubunda bulunmaları nedeni ile bu çocukların da MS bulaşması açısından yüksek riske sahip olduklarını vurgulamışlardır (92). Bu çalışmaya dahil edilen sekiz çocuktan birinde 1. ayda MS saptanmıştır. Ayrıca çalışmaya dahil edilen annelerin yüksek çürük risk grubunda olmaları nedeni ile bu çocukların da MS kazanımı açısından yüksek risk grubunda oldukları düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda, MSnin epiteliyal yüzeylere yapışma kapasitelerinin düşük olduğu ve bu nedenle, bu organizmaların dişsiz bebeklerin ağızında dişler sürmeden önce kolonize olamayacağı sonucuna varıldığı bildirilmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, MSnin dişsiz bebeklerin ağızında kolonize olabildiği vurgulanmaktadır (19, 146, 162).

Dişsiz dönemde MS kolonizasyonu için en önemli ekolojik bölgenin dil papillaları olduğu bildirilmektedir (145). Bu dönemde bebeklerde, orta kulak iltihabı gibi çeşitli infeksiyonlar nedeni ile *S. sanguinis*'in ortadan kalkmasına bağlı olarak MS kolonizasyonunun kolaylaştığı ileri sürülmektedir (35).

Yapılan çalışmalarda, anneden çocuğa MS geçişinin, çocuğun dişleri sürmeye başladıktan sonra gerçekleştiği vurgulanmaktadır (12, 24, 25, 36). Ancak bu çalışmanın sonuçları bu çalışmaları desteklememektedir. Bu çalışmaya dahil edilen sekiz çocukta birinde doğumdan sonraki 1. ayda, henüz dişleri sürmeye başlamadan önce *S. mutans* saptanmıştır.

Milgrom ve arkadaşları, 6-36 ay arasındaki 199 çocukta diş çürüğü ile bakteriyel infeksiyon, hipoplazi, diet ve ağız hijyen alışkanlıkları arasındaki ilişkiyi saptamayı amaçladıkları çalışmalarında, henüz diş sürmesi saptanmayan çocukların %25'inde *S. mutans* saptandığını bildirmişlerdir (96). Bu çalışmaya dahil edilen sekiz çocukta birinde doğumdan sonraki 1. ayda *S. mutans* saptanmıştır.

Fenotipleme ya da genotipleme yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda çocuklar için başlıca infeksiyon kaynağının *S. mutans* ya da *S. sobrinus* taşıyan anneler olduğu ve tükürüğün en önemli transfer aracı olduğu bildirilmektedir. Ancak, çocukta annesi ya da diğer aile bireylerinde bulunmayan genotiplerin saptanmasının başka kaynaklardan *S. mutans* ya da *S. sobrinus* kazanılabileceğini gösterdiği belirtilmektedir (45, 105, 118, 161).

Kozai ve arkadaşları, Japon ailelerde *S. mutans*'ın aile içi geçişini saptamayı amaçladıkları çalışmalarının sonucunda, annelerin yanı sıra baba ve çocuğa bakan diğer kişilerin de *S. mutans* edinilmesinde etkili olabileceği sonucuna varmışlardır (68). Bu çalışmada da anne ve babaları ile hiçbir benzer genotipe sahip olmayan iki çocuk olduğu saptanmış ve bu çocuklar için başka kaynakların *S. mutans* geçişinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Van Loveren ve arkadaşları, 12 ailede, bireylerden elde edilen *S. mutans*'ların bakteriyosin profilleri arasındaki benzerliği saptamayı amaçladıkları çalışmalarının sonucunda; yedi anne-çocuk, iki baba-çocuk çifti arasında benzer bakteriyosin profil özelliği saptadıklarını bildirmişler; ayrıca anne, baba ve çocuklardan elde edilen *S. mutans* arasında benzerlik saptanabileceğini vurgulamışlardır (161).

Aile içi geçiş sıklığı, popülasyonlar arasında, çocuk ve diğer aile bireyleri arasındaki teması etkileyen farklı ve kültürel uygulamalara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örneğin, Amerikan popülasyonda çalışmaya dahil edilen anne-çocuk çiftleri için %71 oranında birbirine benzeyen *S. mutans* genotipi saptanmışken İsveç'li 11 ailede gerçekleştirilen ve *S. mutans* suşlarında aile içi benzerlik varlığının araştırıldığı bir çalışmada, beş çocuğun ailelerinden farklı; altı çocuğun ise anneleri ile benzer *S. mutans* genotipine sahip olduğu tespit edilmiş ve çalışmaya dahil edilen hiçbir çocuğun babaları ile benzer *S. mutans* genotipine sahip olmadığı vurgulanmıştır (39, 74). Başka bir çalışmada ise, 0-11 yaşları arasındaki çocukların ise %31.4'ünün babaları ile aynı genotiplere sahip olduğu bildirilmektedir (68). Çalışmamızda da; çocukların hiçbirinin babaları ile benzer *S. mutans* genotipine sahip olmadığı; altı çocuğun ise anneleri ile benzer *S. mutans* genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Li ve Caufield, doğumdan sonraki ilk üç yıl içinde anne ve çocuk arasındaki *S. mutans* geçişini ve ortak genotip varlığını araştırdıkları çalışmalarında; 34 anne-çocuk çiftinde %71 oranında genotipik benzerlik olduğunu ve ayrıca; erkek bebeklerin kız bebeklerden daha yüksek oranda anne ile benzer genotipe sahip olduğunu

bildirmişlerdir (78). Bu çalışmada da ikiz bebeklere sahip olan anne dahil olmak üzere beş anne-çocuk çiftinde benzer genotipler saptanmıştır.

Ayrıca, Li ve arkadaşları, bu çalışmalarının sonucunda, anne-baba çifti arasında *S. mutans* için genotipik benzerlik saptamadıklarını bildirmişler ve *S. mutans*'ların çocukluk süresince görülen infektivite penceresi dönemi dışında geçişinin zor olduğunu vurgulamışlardır (78). Çalışmamızda yer alan yedi ailede saptanan *S. mutans*'ların genotipik çeşitliliği değerlendirildiğinde bir anne-baba çifti arasında genotipik benzerlik olduğu saptanmış ve çocuklarda infektivite penceresi döneminden önce *S. mutans* izole edilmiştir.

Saarela ve arkadaşları, dört ailede eşler arası *S. mutans* geçişi varlığını belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, iki çiftin aynı genotipe sahip olduğunu saptamışlardır (127). Çalışmamızda sadece bir ailede eşler arasında geçiş olduğu; altı ailede ise anne ve çocuklarda ortak genotipler bulunduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda, aile bireylerinde saptanan yüksek MS düzeyinin *S. mutans* geçişinde önemli rol oynayacağı belirtilmektedir (6, 20, 75). Berkowitz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ağızlarında 10^5 cfu/ml düzeyinde MS bulunan annelerin çocuklarında MS saptanma olasılığının arttığı bildirilmektedir (18).

Hameş-Kocabaş ve arkadaşları *S. mutans* kolonizasyonunu ve aile içi geçişini 56 çocuk ve ailelerinde belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarının sonucunda, geçişin 14 anne-baba-çocuk ve 35 anne-çocuk arasında gerçekleştiğini; *S. mutans* ile enfekte çocuklar ile yüksek MS düzeyi saptanan aile bireyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (48). Çalışmamızda da, yüksek çürük risk grubunda olduğu saptanan ve tükürük örneklerinden 10^6 cfu/ml düzeyinde MS izole edilen altı annenin çocuklarından 9. ve 12. aylarda; bir annenin çocuğundan ise 1. aydan itibaren MS izole edilmiştir.

Bakteriyel suşların tiplendirilmesi, spesifik hastalıklar ile ilişkili belirli suşların saptanması ve infeksiyonların heterojenitesinin karakterize edilmesi amacı ile gerçekleştirilmektedir. Tükürük ve mikrobiyal dış biyofilminden izole edilen *S. mutans*'ların heterojenitesi, genotipleme yöntemleri ile belirlenebilmektedir. Bu yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmaların sonucunda, bireylerin birden fazla *S. mutans* genotipi ile kolonize olabileceği bildirilmektedir. Redmo Emanuelsson ve arkadaşları çalışmalarında, bir bireyde en fazla yedi farklı genotip saptandığını belirtmiştir (117).

Kreulen ve arkadaşları çalışmalarında, çürük aktivitesi ile genotip çeşitliliği arasında negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (70). Bu çalışmanın bulgularına ters olarak Napimoga ve arkadaşları çalışmalarında, çürük saptanan bireylerde daha fazla sayıda genotip saptandığını belirtmiştir (106).

Nascimento ve arkadaşları ise, kök ve kuronal çürüklerden izole edilen *S. mutans*'ları, kolonizasyon özellikleri ve klonal çeşitlilik açısından değerlendirdikleri çalışmalarında, dokuz bireyde 2-10 arasında farklı genotip saptadıklarını bildirmişlerdir (107).

Baca ve arkadaşları, tükürük örneklerinden *S. mutans* genotipi saptanmasının plak örneklerinden *S. mutans* genotipi saptanması kadar etkili olup olmadığını belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, AP-PZR yöntemi ile toplam 28 genotip saptadıklarını bildirmişlerdir (10). Çalışmamızda da AP-PZR yöntemi kullanılarak 29 farklı *S. mutans* genotipi bulunmuştur.

Kozai ve arkadaşları çalışmalarında, bir bireyin 1-4 arasında farklı *S. mutans* genotipine sahip olabileceğini bildirirken; Kulkarni ve arkadaşları ise 1-5 arasında farklı *S. mutans* genotipinin bir bireyde saptanabileceğini bildirmişlerdir (63, 71). Bu çalışmada da bireylerin 1-4 farklı genotipe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Klein ve arkadaşları çocuklarda *S. mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonunu yirmi ay süre ile inceledikleri çalışmalarında, çocuklarda 1-4 arasında farklı genotip saptadıklarını bildirmiş (62) ve bu sonucun, çocukların 1-5 arasında farklı genotipe sahip olabileceğini bildiren çalışmaların sonuçlarını desteklediğini vurgulamışlardır (62, 68, 93).

Aaltonen ve Tenovuo, bebeğin mama kaşığının anne ağzı ile teması veya emziğin anne tarafından yalanması ya da çocuğunu ağızdan öpmesi gibi alışkanlıkları ile annenin ağızındaki mikroorganizmaların bebeğe bulaştırıldığını bildirmişlerdir (1). Çalışmamıza dahil edilen yedi anneden beşinin, bebeğin mama kaşığını kullanarak yemeği tattıkları belirlenmiştir.

Li ve arkadaşları, çalışmalarında doğum sonrası bakım uygulamalarının, *S. mutans*'ların anneden bebeğe geçişindeki etkilerini kromozomal DNA parmak izi yöntemi kullanarak saptamayı amaçlamışlardır. Çalışmalarının sonucunda; özellikle uzun süreli emzirmenin anneden bebeğe *S. mutans* geçişinde etkili olduğunu, dokuz aydan daha uzun süre emziren çocuklar ile anneleri arasında daha fazla oranda benzer *S. mutans* suşu bulunduğunu ve bu çocuklarda daha yüksek oranda çürük saptandığını bildirmişlerdir (80). Çalışmamıza dahil edilen yedi annenin tümünün bebeklerini çalışma süresi boyunca emzirdikleri saptanmıştır.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada, Li ve arkadaşları, sezaryan doğum ile *S. mutans*'ın ilk bulaşması ve geçişi arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Düşük sosyoekonomik düzeyde olan ve diş çürüğü saptanan annelerden sezeryan ile doğmuş olan bebeklerde, normal doğum ile doğmuş olan bebeklerden daha erken zamanda *S. mutans* kolonizasyonu saptadıklarını belirtmişlerdir (75). Çalışmamızda bebeklerin hepsi sezeryan doğum ile doğmuş ve tüm bebeklerde 12. aydan önce MS saptanmıştır.

S. sobrinus'un, *S. mutans*'tan daha az sıklıkta ve daha az sayıda izole edilmesinde, ağızda doğal olarak oluşan bir amino şeker olan N-asetilglukozamin'in (GlcNAc) rolü olduğu bildirilmektedir. *S. mutans*'ın GlcNAc'ı fermente etmesine karşın *S. sobrinus*'un

bu amino şekeri fermente edemediği ve ayrıca GlcNAc'ın *S. sobrinus*'un fermente edilebilir karbonhidratları kullanmasını inhibe ettiği bildirilmektedir (15, 55). Çalışmamızda tüm anne ve babalardan alınan örneklerden *S. mutans* izole edilmiş ancak sadece bir babadan alınan örnekten *S. sobrinus* izole edilebilmiştir.

SONUÇLAR

Anne, baba ve çocuk arasındaki *S. mutans* ve *S. sobrinus* geçişinin, çocuk bir yaşına gelinceye kadar geçen süre içinde, AP-PZR yöntemi ile genotipik çeşitlilik yönünden incelendiği bu çalışmada;

1. Çalışmaya dahil edilen anne ve babaların orta düzeyde eğitime sahip oldukları; ağız-diş bakımlarının yeterli düzeyde olmadığı saptanmıştır.
2. Çalışmaya dahil edilen annelerin bebekleri ile yakın ilişkisi olduğu saptanmıştır.
3. Çalışmaya dahil edilen tüm anne ve babalardan birinci ayda alınan tükürük örneklerinden *S. mutans* izole edilmiş ve bir baba dışında hiçbir anne ve babadan *S. sobrinus* izole edilmemiştir.
4. Çalışmaya dahil edilen çocuklardan birinden doğumdan sonraki birinci ayda; tüm çocuklardan dokuncu ve on ikinci aylarda *S. mutans* izole edilmiş ancak *S. sobrinus* izole edilmemiştir (Tablo 4-5).
5. Çocukların, birbirini takip eden aylardaki *S. mutans* düzeyleri karşılaştırıldığında; 1.ay-4.aylar arasında anlamlı bir fark olmadığı; 4. ay-9.ay ve 9.ay-12.aylar arasında ise anlamlı fark olduğu ve *S. mutans* geçişinin dördüncü aydan sonra gerçekleştiği saptanmıştır ($\chi^2=-2,530$, $p=0,11$; $\chi^2=-2,545$, $p=0,12$) (Tablo 4-13).
6. Anne ve babadan çocuğa geçen *S. mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesinin amaçlandığı bu çalışmada beş anne-çocuk ve bir anne-baba çifti arasında genotipik benzerlik saptanmıştır (Tablo 4-16).
7. Çalışmaya dahil edilen annelerin en fazla üç, babaların iki ve çocukların ise dört farklı *S. mutans* genotipine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4-16, Şekil 4-9).
8. Tüm aileler genotipik çeşitlilik açısından incelendiğinde, toplam 29 farklı genotip saptanmış ve 1 no'lu genotipin iki ailede (1. ve 7. aileler), 12 no'lu genotipinin ise dört ailede (3., 4., 6. ve 7. aileler) ortak olarak bulunduğu görülmüştür (Tablo 4-16, Şekil 4-9).

Sonuç olarak, anne ve babadan çocuğa geçen *S. mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesinin amaçlandığı bu çalışmada beş anne-çocuk çifti arasında *S. mutans* geçişi olduğu; anne ve çocukların benzer *S. mutans* genotiplerine sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca çocuklara dördüncü aydan sonra *S. mutans* geçişinin gerçekleştiği tespit edilmiştir.

S. mutans ile erken yaşta infekte olan çocuklarda çürük görülme riski artacağından, anneden çocuğa *S. mutans* geçişinin önlenmesi önem kazanmaktadır. Bu nedenle hamilelik dönemi ile birlikte annenin ağız diş sağlığının düzenlenmesi ve koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu önlemlerin alınabilmesi için annelerin ve bebeklerin erken çürük risk değerlendirilmesinin yapılması ve bebeklerin süt dişleri sürmeye başladıktan hemen sonra dişhekimine götürülmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Aaltonen AS, Tenovuo J. Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children: a cohort study. [Pediatr Dent](#). 1994 Mar-Apr;16(2):110-6.
2. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, Leys EJ, Paster BJ. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. [J Clin Microbiol](#). 2008 Apr;46(4):1407-17.
3. Aktaş İ, Görgün G, Külekçi G. Predisposing factors on mother-child transmission of mutans streptococci and lactobacilli. 6th European Symposium on saliva, Egmond aan Zee, Hollanda, 29 Mayıs-1 Haziran.
4. Alaluusua S, Alaluusua SJ, Karjalainen J, Saarela M, Holttinen T, Kallio M, Hölttä P, Torkko H, Relander P, Asikainen S. The demonstration by ribotyping of the stability of oral *Streptococcus mutans* infection over 5 to 7 years in children. [Arch Oral Biol](#). 1994 Jun;39(6):467-71.
5. Alaluusua S, Myllärniemi S, Kallio M. *Streptococcus mutans* infection level and caries in a group of 5-year-old children. [Caries Res](#). 1989;23(3):190-4.
6. Alaluusua S. Transmission of mutans streptococci. [Proc Finn Dent Soc](#). 1991;87(4):443-7.
7. Alaluusua SJ, Karjalainen J, Saarela M, Holttinen T, Kallio M, Hölttä P, Torkko H, Relander P, Asikainen S. The demonstration by ribotyping of the stability of oral *Streptococcus mutans* infection over 5 to 7 years in children. [Arch Oral Biol](#). 1994 Jun;39(6):467-71.
8. Ando T, Tsumori H, Shimamura A, Sato Y, Mukasa H. Classification of oral streptococci by two-dimensional gel electrophoresis with direct activity stain for glycosyltransferases. [Oral Microbiol Immunol](#). 2003 Jun;18(3):171-5.
9. Babaahmady KG, Challacombe SJ, Marsh PD, Newman HN. Ecological study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. [Caries Res](#). 1998;32(1):51-8.
10. Baca P, Castillo AM, Baca AP, Liébana MJ, Junco P, Liébana J. Genotypes of *Streptococcus mutans* in saliva versus dental plaque. [Arch Oral Biol](#). 2008 Aug;53(8):751-4.

11. Banas JA, Vickerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. [Crit Rev Oral Biol Med](#). 2003;14(2):89-99.
12. Beighton D, Hardie JM, Whiley RA. A scheme for the identification of viridans streptococci. [J Med Microbiol](#). 1991 Dec;35(6):367-72.
13. Beighton D, Russell RR, Whiley RA. A simple biochemical scheme for the differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. [Caries Res](#). 1991;25(3):174-8.
14. Beighton D. A simplified procedure for estimating the level of *Streptococcus mutans* in the mouth. [Br Dent J](#). 1986 May 10;160(9):329-30.
15. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. [Community Dent Oral Epidemiol](#). 2005 Aug;33(4):248-55.
16. Bender GR, Sutton SV, Marquis RE. Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPases of oral streptococci. [Infect Immun](#). 1986 Aug;53(2):331-8.
17. Berkowitz RJ, Jones P. Mouth-to-mouth transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* between mother and child. [Arch Oral Biol](#). 1985;30(4):377-9.
18. Berkowitz RJ, Turner J, Green P. Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection of infants. [Arch Oral Biol](#). 1981;26(2):147-9.
19. Berkowitz RJ, Turner J, Green P. Primary oral infection of infants with *Streptococcus mutans*. [Arch Oral Biol](#). 1980;25(4):221-4.
20. Berkowitz RJ. Mutans streptococci: acquisition and transmission. [J Pediatr Dent](#) 2006; 28: 106-109.
21. Beyar İ. Anneden bebeğe aktarılan çürük oluşturuvcu bakterilerin bebeğin ağız sağlığına etkileri. G.Ü. Dişhek Derg, 2003;20(1):57-63.
22. Bowden GH, Hamilton IR. Survival of oral bacteria. [Crit Rev Oral Biol Med](#). 1998;9(1):54-85.
23. Canettieri AC, Kretchetoff FY, Koga Ito CY, Moreira D, Fajarra FJ, Unterkircher CS. Production of monoclonal antibodies against *Streptococcus mutans* antigens. [Braz Oral Res](#). 2006 Oct-Dec;20(4):297-302.
24. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. [J Dent Res](#). 1993 Jan;72(1):37-45.
25. Caufield PW, Ratanapridakul K, Allen DN, Cutter GR. Plasmid-containing strains of *Streptococcus mutans* cluster within family and racial cohorts: implications for natural transmission. [Infect Immun](#). 1988 Dec;56(12):3216-20.

26. Caufield PW, Walker TM. Genetic diversity within *Streptococcus mutans* evident from chromosomal DNA restriction fragment polymorphisms. [J Clin Microbiol.](#) 1989 Feb;27(2):274-8.
27. Cengiz T. Tıp ve Dişhekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji. Güneş Tıp Kitapevi, Ankara, 2004.
28. Challacombe SJ, Marsh PD, Newman HN. Ecological study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. [Caries Res.](#) 1998;32(1):51-8.
29. Chen Z, Saxena D, Caufield PW, Ge Y, Wang M, Li Y. Development of species-specific primers for detection of *Streptococcus mutans* in mixed bacterial samples. [FEMS Microbiol Lett.](#) 2007 Jul;272(2):154-62.
30. Cogulu D, Ersin NK, Uzel A, Eronat N, Aksit S. A long-term effect of caries-related factors in initially caries-free children. [Int J Paediatr Dent.](#) 2008 Sep;18(5):361-7.
31. Cogulu D, Sabah E, Uzel A, Ozkinay F. Genotyping of *Streptococcus mutans* by using arbitrarily primed polymerase chain reaction in children with Down Syndrome. [Arch Oral Biol.](#) 2006 Mar;51(3):177-82.
32. Cohen L, Hay DI. Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. [Infect Immun.](#) 1986 May;52(2):555-61.
33. Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T, Goss J, Corby AL, Junior HM, Weyant RJ, Paster BJ. Microbial risk indicators of early childhood caries. [J Clin Microbiol.](#) 2005 Nov;43(11):5753-9.
34. Coykendall AL. Classification and identification of the viridans streptococci. [Clin Microbiol Rev.](#) 1989 Jul;2(3):315-28.
35. Dasanayake AP, Roseman JM, Caufield PW, Butts JT. Distribution and determinants of mutans streptococci among African-American children and association with selected variables. [Pediatr Dent.](#) 1995 May-Jun;17(3):192-8.
36. Davey AL, Rogers AH. Multiple types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and their intra-family transmission. [Arch Oral Biol.](#) 1984;29(6):453-60.
37. Duchin S, van Houte J. Colonization of teeth in humans by *Streptococcus mutans* as related to its concentration in saliva and host age. [Infect Immun.](#) 1978 Apr;20(1):120-5.
38. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. [Clin Microbiol Rev.](#) 2000 Oct;13(4):559-70.

39. Emanuelsson IR, Li Y, Bratthall D. Genotyping shows different strains of mutans streptococci between father and child and within parental pairs in Swedish families. [Oral Microbiol Immunol](#). 1998 Oct;13(5):271-7.
40. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. [Clin Microbiol Rev](#). 2002 Oct;15(4):613-30.
41. Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process. [Aust Dent J](#). 2008 Sep;53(3):286-91.
42. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. [J Am Dent Assoc](#). 2000 Jul;131(7):887-99.
43. Florio FM, Klein MI, Pereira AC, Goncalves BR. Time of initial acquisition of mutans streptococci by human infants. [J Clin Pediatr Dent](#). 2004;28;4:303-308.
44. Ge Y, Caufield PW, Fisch GS, Li Y. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* colonization correlated with caries experience in children. [Caries Res](#). 2008;42(6):444-448.
45. Grönroos L, Saarela M, Mättö J, Tanner-Salo U, Vuorela A, Alaluusua S. Mutacin production by *Streptococcus mutans* may promote transmission of bacteria from mother to child. [Infect Immun](#). 1998 Jun;66(6):2595-600.
46. Hamada S, Koga T, Ooshima T. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. [J Dent Res](#). 1984 Mar;63(3):407-11.
47. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. [Microbiol Rev](#). 1980 Jun;44(2):331-84.
48. Hameş-Kocabaş EE, Uçar F, Kocataş Ersin N, Uzel A, Alpöz AR. Colonization and vertical transmission of *Streptococcus mutans* in Turkish children. [Microbiol Res](#). 2008;163(2):168-72.
49. Harper DS, Loesche WJ. Effect of pH upon sucrose and glucose catabolism by the various genogroups of *Streptococcus mutans*. [J Dent Res](#). 1983 May;62(5):526-31.
50. Hata S, Hata H, Miyasawa-Hori H, Kudo A, Mayanagi H. Quantitative detection of *Streptococcus mutans* in the dental plaque of Japanese preschool children by real-time PCR. [Lett Appl Microbiol](#). 2006 Feb;42(2):127-31.
51. Hegde PP, Ashok Kumar BR, Ankola VA. Dental caries experience and salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in 13-15 years old children of Belgaum city, Karnataka. [J Indian Soc Pedod Prev Dent](#). 2005 Mar;23(1):23-6.

52. Hegde SK, Kumar KB, Sudha P, Bhat SS. Estimation of salivary bacteria capable of inhibiting and stimulating *Streptococcus mutans* and its correlation to dental caries and untreated carious teeth. [J Indian Soc Pedod Prev Dent](#). 2005 Sep;23(3):126-30.
53. Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH. Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. [Biotechniques](#). 1997 Sep;23(3):504-11.
54. Hirose H, Hirose K, Isogai E, Miura H, Ueda I. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. [Caries Res](#). 1993;27(4):292-7.
55. Homer KA, Patel R, Beighton D. Effects of N-acetylglucosamine on carbohydrate fermentation by *Streptococcus mutans* NCTC 10449 and *Streptococcus sobrinus* SL-1. [Infect Immun](#). 1993 Jan;61(1):295-302.
56. Hoshino T, Fujiwara T, Kilian M. Use of phylogenetic and phenotypic analyses to identify nonhemolytic streptococci isolated from bacteremic patients. [J Clin Microbiol](#). 2005 Dec;43(12):6073-85.
57. Igarashi T, Ichikawa K, Yamamoto A, Goto N. Identification of mutans streptococcal species by the PCR products of the dex genes. [J Microbiol Methods](#). 2001 Aug;46(2):99-105.
58. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N. PCR for detection and identification of *Streptococcus sobrinus*. [J Med Microbiol](#). 2000 Dec;49(12):1069-74.
59. Kamiya RU, Napimoga MH, Höfling JF, Gonçalves RB. Frequency of four different mutacin genes in *Streptococcus mutans* genotypes isolated from caries-free and caries-active individuals. [J Med Microbiol](#). 2005 Jun;54(Pt 6):599-604.
60. Kamiya RU, Napimoga MH, Rosa RT, Höfling JF, Gonçalves RB. Mutacin production in *Streptococcus mutans* genotypes isolated from caries-affected and caries-free individuals. [Oral Microbiol Immunol](#). 2005 Feb;20(1):20-4.
61. Keene HJ, Shklair IL, Anderson DM, Mickel GJ. Relationship of *Streptococcus mutans* biotypes to dental caries prevalence in Saudi Arabian naval men. [J Dent Res](#). 1977 Apr;56(4):356-61.
62. Klein MI, Flório FM, Pereira AC, Höfling JF, Gonçalves RB. Longitudinal study of transmission, diversity, and stability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes in Brazilian nursery children. [J Clin Microbiol](#). 2004 Oct;42(10):4620-6.

63. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. [Crit Rev Oral Biol Med](#). 2002;13(2):108-25.
64. Kocabaş EE, Uçar F, Kocataş Ersin N, Uzel A, Alpöz AR. Colonization and vertical transmission of in Turkish children. [Microbiol Res](#). 2008;163(2):168-72.
65. Kohler B, Andréen I, Jonsson B. The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. [Oral Microbiol Immunol](#). 1988 Mar;3(1):14-7.
66. Kohler B, Bratthall D, Krasse B. Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. [Arch Oral Biol](#). 1983;28(3):225-31.
67. Koray F. Diş Çürükleri. Altın Matbaacılık ,İstanbul,1981.
68. Kozai K, Nakayama R, Tedjosongko U, Kuwahara S, Suzuki J, Okada M, Nagasaka N. Intrafamilial distribution of mutans streptococci in Japanese families and possibility of father-to-child transmission. [Microbiol Immunol](#). 1999;43(2):99-106.
69. Kreth J, Zhu L, Merritt J, Shi W, Qi F. Role of sucrose in the fitness of *Streptococcus mutans*. [Oral Microbiol Immunol](#). 2008 Jun;23(3):213-9.
70. Kreulen CM, de Soet HJ, Hogeveen R, Veerkamp JS. *Streptococcus mutans* in children using nursing bottles. [ASDC J Dent Child](#). 1997 Mar-Apr;64(2):107-11.
71. Kulkarni GV, Chan KH, Sandham HJ. An investigation into the use of restriction endonuclease analysis for the study of transmission of mutans streptococci. [J Dent Res](#). 1989 Jul;68(7):1155-61.
72. Kuramitsu HK. Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. [Crit Rev Oral Biol Med](#). 1993;4(2):159-76.
73. Law V, Seow WK, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. [Aust Dent J](#). 2007 Jun;52(2):93-100.
74. Li Y, Caufield PW. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. [J Dent Res](#). 1995 Feb;74(2):681-5.
75. Li Y, Caufield PW, Dasanayake AP, Wiener HW, Vermund SH. Mode of delivery and other maternal factors influence the acquisition of *Streptococcus mutans* in infants. [J Dent Res](#). 2005 Sep;84(9):806-11.

76. Li Y, Caufield PW, Emanuelsson IR, Thornqvist E. Differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* via genotypic and phenotypic profiles from three different populations. [Oral Microbiol Immunol](#). 2001 Feb;16(1):16-23
77. Li Y, Caufield PW. Arbitrarily primed polymerase chain reaction fingerprinting for the genotypic identification of mutans streptococci from humans. [Oral Microbiol Immunol](#). 1998 Feb;13(1):17-22.
78. Li Y, Caufield PW. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. [J Dent Res](#). 1995 Feb;74(2):681-5.
79. Li Y, Navia JM, Caufield PW. Colonization by mutans streptococci in the mouths of 3- and 4-year-old Chinese children with or without enamel hypoplasia. [Arch Oral Biol](#). 1994 Dec;39(12):1057-62.
80. Li Y, Wang W, Caufield PW. The fidelity of mutans streptococci transmission and caries status correlate with breast-feeding experience among Chinese families. [Caries Res](#). 2000 Mar-Apr;34(2):123-32.
81. Linke HA. New method for the isolation of *Streptococcus mutans* and its differentiation from other oral streptococci. [J Clin Microbiol](#). 1977 Jun;5(6):604-9.
82. Linossier AG, Valenzuela CY, Toledo H. Differences of the oral colonization by *Streptococcus* of the mutans group in children and adolescents with Down syndrome, mental retardation and normal controls. [Med Oral Patol Oral Cir Bucal](#). 2008 Sep 1;13(9):E536-9.
83. Liu J, Bian Z, Fan M, He H, Nie M, Fan B, Peng B, Chen Z. Typing of mutans streptococci by arbitrarily primed PCR in patients undergoing orthodontic treatment. [Caries Res](#). 2004 Nov-Dec;38(6):523-9.
84. Liu Y, Zou J, Shang R, Zhou XD. Genotypic diversity of *Streptococcus mutans* in 3- to 4-year-old Chinese nursery children suggests horizontal transmission. [Arch Oral Biol](#). 2007 Sep;52(9):876-81. Epub 2007 Apr 26.
85. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. [Microbiol Rev](#). 1986 Dec;50(4):353-80.
86. Longo PL, Mattos-Graner RO, Mayer MP. Determination of mutacin activity and detection of mutA genes in *Streptococcus mutans* genotypes from caries-free and caries-active children. [Oral Microbiol Immunol](#). 2003 Jun;18(3):144-9.
87. Loyola-Rodriguez JP, Martinez-Martinez RE, Flores-Ferreyra BI, Patiño-Marin N, Alpuche-Solis AG, Reyes-Macias JF. Distribution of *Streptococcus mutans* and

- Streptococcus sobrinus* in saliva of Mexican preschool caries-free and caries-active children by microbial and molecular (PCR) assays. [J Clin Pediatr Dent](#). 2008 Winter;32(2):121-6.
88. Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. [Clin Microbiol Infect](#). 2004 Mar;10(3):190-212.
89. Maiden MFJ, Lai C-H, Tanner A. Characteristics of oral gram-positive bacteria. In: Contemporary Oral Microbiology and Immunology. Slots J, Taubman MA, eds. Mosby: St. Louis, MI 1992; pp. 342-372.
90. Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, Hunter N. Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. [J Clin Microbiol](#). 2002 May;40(5):1698-704.
91. Matsumoto-Nakano M, Fujita K, Ooshima T. Comparison of glucan-binding proteins in cariogenicity of *Streptococcus mutans*. [Oral Microbiol Immunol](#). 2007 Feb;22(1):30-5.
92. Mattos-Graner RO, Corrêa MS, Latorre MR, Peres RC, Mayer MP. Mutans streptococci oral colonization in 12-30-month-old Brazilian children over a one-year follow-up period. [J Public Health Dent](#). 2001 Summer;61(3):161-7.
93. Mattos-Graner RO, Li Y, Caufield PW, Duncan M, Smith DJ. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. [J Clin Microbiol](#). 2001 Jun;39(6):2313-6.
94. Mattos-Graner RO, Napimoga MH, Fukushima K, Duncan MJ, Smith DJ. Comparative analysis of Gtf isozyme production and diversity in isolates of *Streptococcus mutans* with different biofilm growth phenotypes. [J Clin Microbiol](#). 2004 Oct;42(10):4586-92.
95. Mattos-Graner RO, Zelante F, Line RC, Mayer MP. Association between caries prevalence and clinical, microbiological and dietary variables in 1.0 to 2.5-year-old Brazilian children. [Caries Res](#). 1998;32(5):319-23.
96. Milgrom P, Riedy CA, Weinstein P, Tanner AC, Manibusan L, Bruss J. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6- to 36-month-old children. [Community Dent Oral Epidemiol](#). 2000 Aug;28(4):295-306.
97. Mineyama R, Yoshino S, Maeda N. DNA fingerprinting of isolates of *Streptococcus mutans* by pulsed-field gel electrophoresis. [Microbiol Res](#). 2007;162(3):244-9.
98. Mullis K. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American* 1990, 262;36-43.

99. Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG, Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. [J Clin Microbiol](#). 2004 Jul;42(7):3023-9.
100. Nakano K, Inaba H, Nomura R, Nemoto H, Takeda M, Yoshioka H, Matsue H, Takahashi T, Taniguchi K, Amano A, Ooshima T. Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. [J Clin Microbiol](#). 2006 Sep;44(9):3313-7.
101. Nakano K, Lapirattanakul J, Nomura R, Nemoto H, Alaluusua S, Grönroos L, Vaara M, Hamada S, Ooshima T, Nakagawa I. *Streptococcus mutans* clonal variation revealed by multilocus sequence typing. [J Clin Microbiol](#). 2007 Aug;45(8):2616-25.
102. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Hamada S, Ooshima T. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, k, in the human oral cavity. [J Clin Microbiol](#). 2004 Jan;42(1):198-202.
103. Nakano K, Nomura R, Nemoto H, Lapirattanakul J, Taniguchi N, Grönroos L, Alaluusua S, Ooshima T. Protein Antigen in Serotype k *Streptococcus mutans* Clinical Isolates. [J Dent Res](#). 2008 Oct;87(10):964-8.
104. Nakano K, Nomura R, Shimizu N, Nakagawa I, Hamada S, Ooshima T. Development of a PCR method for rapid identification of new *Streptococcus mutans* serotype k strains. [J Clin Microbiol](#). 2004 Nov;42(11):4925-30.
105. Napimoga MH, Höfling JF, Klein MI, Kamiya RU, Gonçalves RB. Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. [J Oral Sci](#). 2005 Jun;47(2):59-64.
106. Napimoga MH, Kamiya RU, Rosa RT, Rosa EA, Höfling JF, Mattos-Graner RO, Gonçalves RB. Genotypic diversity and virulence traits of *Streptococcus mutans* in caries-free and caries-active individuals. [J Med Microbiol](#). 2004 Jul;53(Pt 7):697-703.
107. Nascimento MM, Höfling JF, Gonçalves RB. *Streptococcus mutans* genotypes isolated from root and coronal caries. [Caries Res](#). 2004 Sep-Oct;38(5):454-63.
108. Nascimento MM, Lemos JA, Abranches J, Gonçalves RB, Burne RA. Adaptive acid tolerance response of *Streptococcus sobrinus*. [J Bacteriol](#). 2004 Oct;186(19):6383-90.
109. Nepomuceno RS, Tavares MB, Lemos JA, Griswold AR, Ribeiro JL, Balan A, Guimarães KS, Cai S, Burne RA, Ferreira LC, Ferreira RC. The oligopeptide (opp) gene cluster of *Streptococcus mutans*: identification, prevalence, and characterization. [Oral Microbiol Immunol](#). 2007 Aug;22(4):277-84.

110. Neumaier M, Braun A, Wagener C. Fundamentals of quality assessment of molecular amplification methods in clinical diagnostics. International Federation of Clinical Chemistry Scientific Division Committee on Molecular Biology Techniques. [Clin Chem](#). 1998 Jan;44(1):12-26.
111. Nomura R, Nakano K, Nemoto H, Fujita K, Inagaki S, Takahashi T, Taniguchi K, Takeda M, Yoshioka H, Amano A, Ooshima T. Isolation and characterization of *Streptococcus mutans* in heart valve and dental plaque specimens from a patient with infective endocarditis. [J Med Microbiol](#). 2006 Aug;55(Pt 8):1135-40.
112. Oho T, Yamashita Y, Shimazaki Y, Kushiya M, Koga T. Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in human saliva by polymerase chain reaction. [Oral Microbiol Immunol](#). 2000 Aug;15(4):258-62.
113. Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, Kozai K. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in pre-school children. [J Med Microbiol](#). 2005 Jul;54(Pt 7):661-5.
114. Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, Kozai K. PCR detection of *S. mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. [J Med Microbiol](#). 2002 May;51(5):443-7.
115. Patir A, Seymen F, Yildirim M, Deeley K, Cooper ME, Marazita ML, Vieira AR. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. [Caries Res](#). 2008;42(5):394-400.
116. Peker MS. *Streptococcus mutans*'ın anne çocuk geçişinin AP-PCR ile saptanması ve diş çürüğü ile ilişkisi. Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Doktora tezi, 2006, İstanbul.
117. Redmo Emanuelsson IM, Carlsson P, Hamberg K, Bratthall D. Tracing genotypes of mutans streptococci on tooth sites by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. [Oral Microbiol Immunol](#). 2003 Feb;18(1):24-9.
118. Redmo Emanuelsson IM, Wang XM. Demonstration of identical strains of mutans streptococci within Chinese families by genotyping. [Eur J Oral Sci](#). 1998 Jun;106(3):788-94.
119. Roeters J, Burgersdijk R, Truin GJ, van 't Hof M. Dental caries and its determinants in 2-to-5-year-old children. [ASDC J Dent Child](#). 1995 Nov-Dec;62(6):401-8.
120. Rogers AH. Bacteriocin typing of *Streptococcus mutans* strains isolated from family groups. [Aust Dent J](#). 1980 Oct;25(5):279-83.

121. Rogers AH. The source of infection in the intrafamilial transfer of *Streptococcus mutans*. [Caries Res.](#) 1981;15(1):26-31.
122. Rudney JD, Larson CJ. Identification of oral mitis group streptococci by arbitrarily primed polymerase chain reaction. [Oral Microbiol Immunol.](#) 1999 Feb;14(1):33-42.
123. Rupf S, Kneist S, Merte K, Eschrich K. Quantitative determination of *Streptococcus mutans* by using competitive polymerase chain reaction. [Eur J Oral Sci.](#) 1999 Apr;107(2):75-81.
124. Rupf S, Merte K, Kneist S, Al-Robaiy S, Eschrich K. Comparison of different techniques of quantitative PCR for determination of *Streptococcus mutans* counts in saliva samples. [Oral Microbiol Immunol.](#) 2003 Feb;18(1):50-3.
125. Rychlik W, Spencer WJ, Rhoads RE. Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. [Nucleic Acids Res.](#) 1990 Nov 11;18(21):6409-12.
126. Saarela M, Hannula J, Mättö J, Asikainen S, Alaluusua S. Typing of mutans streptococci by arbitrarily primed polymerase chain reaction. [Arch Oral Biol.](#) 1996 Aug-Sep;41(8-9):821-6.
127. Saarela M, von Troil-Lindén B, Torkko H, Stucki AM, Alaluusua S, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Transmission of oral bacterial species between spouses. [Oral Microbiol Immunol.](#) 1993 Dec;8(6):349-54.
128. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. [Science.](#) 1985 Dec 20;230(4732):1350-4.
129. Santos CF, Sakai VT, Machado MA, Schippers DN, Grene AS. Reverse transcription and polymerase chain reaction: Principles and applications in dentistry. [J. Appl Oral Sci.](#) 2004;12(1):1-11.
130. Sato T, Hu JP, Ohki K, Yamaura M, Washio J, Matsuyama J, Takahashi N. Identification of mutans streptococci by restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain reaction-amplified 16S ribosomal RNA genes. [Oral Microbiol Immunol.](#) 2003 Oct;18(5):323-6.
131. Sato T, Matsuyama J, Kumagai T, Mayanagi G, Yamaura M, Washio J, Takahashi N. Nested PCR for detection of mutans streptococci in dental plaque. [Lett Appl Microbiol.](#) 2003;37(1):66-9.

132. Saxena D, Li Y, Caufield PW. Identification of unique bacterial gene segments from *Streptococcus mutans* with potential relevance to dental caries by subtraction DNA hybridization. [J Clin Microbiol.](#) 2005 Jul;43(7):3508-11.
133. Scannapieco FA. Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology. [Crit Rev Oral Biol Med.](#) 1994;5(3-4):203-48.
134. Schaeken MJ, van der Hoeven JS, Franken HC. Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. [J Dent Res.](#) 1986 Jun;65(6):906-8.
135. Seki M, Yamashita Y, Shibata Y, Torigoe H, Tsuda H, Maeno M. Effect of mixed mutans streptococci colonization on caries development. [Oral Microbiol Immunol.](#) 2006 Feb;21(1):47-52.
136. Shibata Y, Ozaki K, Seki M, Kawato T, Tanaka H, Nakano Y, Yamashita Y. Analysis of loci required for determination of serotype antigenicity in *Streptococcus mutans* and its clinical utilization. [J Clin Microbiol.](#) 2003 Sep;41(9):4107-12.
137. Siqueira JF Jr, Rôças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. [J Dent.](#) 2003 Jul;31(5):333-9.
138. Spinell DM, Gibbons RJ. Influence of culture medium on the glucosyl transferase- and dextran-binding capacity of *Streptococcus mutans* 6715 cells. [Infect Immun.](#) 1974 Dec;10(6):1448-51.
139. Spolidorio DMP, Höfling JF, Pizzolitto AC, Rosa EA, Negrini TD, Spolidorio LC. Genetic polymorphism of in Brazilian family members. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2003;34:213-217.
140. Stenudd C, Nordlund A, Ryberg M, Johansson I, Källestål C, Strömberg N. The association of bacterial adhesion with dental caries. [J Dent Res.](#) 2001 Nov;80(11):2005-10.
141. Straetemans MM, van Loveren C, de Soet JJ, de Graaff J, ten Cate JM. Colonization with mutans streptococci and lactobacilli and the caries experience of children after the age of five. [J Dent Res.](#) 1998 Oct;77(10):1851-5.
142. Struelens MJ. Molecular epidemiologic typing systems of bacterial pathogens: current issues and perspectives. [Mem Inst Oswaldo Cruz.](#) 1998 Sep-Oct;93(5):581-5.
143. Svanberg M, Krasse B. Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media. [Caries Res.](#) 1990;24(1):36-8.

144. Takada K, Igarashi M, Yamaguchi Y, Hirasawa M. New serotype of mutans streptococci isolated from pig oral cavity. [Microbiol Immunol](#). 2008 Feb;52(2):64-8.
145. Tanner AC, Milgrom PM, Kent R Jr, Mokeem SA, Page RC, Riedy CA, Weinstein P, Bruss J. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. [J Dent Res](#). 2002 Jan;81(1):53-7.
146. Tanner ACR., Milgrom PM., Kent R, Mokeem S.A, Page RC, Liao SIA, Riedy CA, Bruss JB. Similarity of the oral microbiota of pre-school children with that of their caregivers in a population-based study. *Journal of Oral Microbiology and Immunity* 2003; 17;6: 379-387.
147. Tanzer JM: Microbiology of dental caries, In Slots J and Taubman MA(Eds) *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*, 1992; Ch.22, p337-424, Mosby Year Book,St.Louis.
148. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. [J Dent Educ](#). 2001 Oct;65(10):1028-37.
149. Tanzer JM, Thompson A, Wen ZT, Burne RA. *Streptococcus mutans*: fructose transport, xylitol resistance, and virulence. [J Dent Res](#). 2006 Apr;85(4):369-73.
150. Tao R, Jurevic RJ, Coulton KK, Tsutsui MT, Roberts MC, Kimball JR, Wells N, Berndt J, Dale BA. Salivary antimicrobial peptide expression and dental caries experience in children. [Antimicrob Agents Chemother](#). 2005 Sep;49(9):3883-8.
151. Teanpaisan R, Dahlén G. Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species. [Oral Microbiol Immunol](#). 2006 Apr;21(2):79-83.
152. Tedjosongko U, Kozai K. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. [ASDC J Dent Child](#). 2002 Sep-Dec;69(3):284-8, 234-5.
153. Tekeli A, Ustaçelebi Ş (Çeviri Editörleri). *Moleküler Mikrobiyoloji Tanı Prensipleri ve Uygulamalar*. Palme Yayıncılık, Ankara, 2006.
154. Temizkan G, Arda N (Editörler). *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*; Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul, 2005.
155. The World Oral Health Report 2003. Continuous improvement of oral health in the 21st century. The approach of the WHO global oral health programme. WHO/NMH/NPH/ORH/03.2.

156. Toi CS, Bönecker M, Cleaton-Jones PE.. Mutans streptococci strains prevalence before and after cavity preparation during Atraumatic Restorative Treatment. [Oral Microbiol Immunol](#). 2003 Jun;18(3):160-4.
157. Tony JC. Impact of basic research on tomorrow's medicine: applications and limitations of polymerase chain reaction amplification. *Chest* 1995; 108:1393-1404.
158. Truong TL, Ménard C, Mouton C, Trahan L. Identification of mutans and other oral streptococci by random amplified polymorphic DNA analysis. [J Med Microbiol](#). 2000 Jan;49(1):63-71.
159. Van Houte J, Gibbons RJ, Pulkkinen AJ. Ecology of human oral lactobacilli. [Infect Immun](#). 1972 Nov;6(5):723-9.
160. Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. [J Dent Res](#). 1994 Mar;73(3):672-81.
161. Van Loveren C, Buijs JF, ten Cate JM. Similarity of bacteriocin activity profiles of mutans streptococci within the family when the children acquire the strains after the age of 5. [Caries Res](#). 2000 Nov-Dec;34(6):481-5.
162. Wan AK, Seow WK, Purdie DM, Bird PS, Walsh LJ, Tudehope DI. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old predentate infants. [J Dent Res](#). 2001 Dec;80(12):2060-5.
163. Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. [Nucleic Acids Res](#). 1990 Dec 25;18(24):7213-8.
164. Whiley RA, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. [Oral Microbiol Immunol](#). 1998 Aug;13(4):195-216.
165. Whobdell M, Petersen PE, Clarkson J, Johnson N. Global goals for oral health 2020. [Int Dent J](#) 2003 53: 285-8.
166. Yoder S, Cao C, Ugen KE, Dao ML. High-level expression of a truncated wall-associated protein A from the dental cariogenic *Streptococcus mutans*. [DNA Cell Biol](#). 2000 Jul;19(7):401-8
167. Yoo SY, Kim KJ, Lim SH, Kim KW, Hwang HK, Min BM, Choe SJ, Kook JK. First isolation of *Streptococcus downei* from human dental plaques. [FEMS Microbiol Lett](#). 2005 Aug 15;249(2):323-6.
168. Yoo SY, Park SJ, Jeong DK, Kim KW, Lim SH, Lee SH, Choe SJ, Chang YH, Park I, Kook JK. Isolation and characterization of the mutans streptococci from the dental plaques in Koreans. [J Microbiol](#). 2007 Jun;45(3):246-55.

169. <http://genotyping.files.wordpress.com/2007/03/PZR.gif>.

FORMLAR

1. ERİŞKİNLER İÇİN YAZILI ONAM FORMU

Araştırma yürütücüsü: Prof. Dr. Figen Seymen

Araştırma Adı: Anne ve babadan, çocuğa geçen *S.mutans* ve *S. sobrinus* kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesi

Sizin ve çocuğunuzun İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmasını arzu ediyoruz. Aşağıda bu çalışmalar ile ilgili bazı bilgiler bulacaksınız. Bu bilgiler sizin, eşinizin ve çocuğunuzun çalışmaya katılmasının kolaylaştırılması ve öneminin anlaşılabilmesi için hazırlanmıştır. Bu çalışmada; anne, baba ve çocuk arasındaki *S. mutans* ve *S. sobrinus* geçişinin, çocuk 1 yaşına gelinceye kadar geçen süre içinde, genotipik çeşitlilik yönünden incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilmektedir.

Gerçekleştirilecek İşlemler

Sizin, eşinizin ve çocuğunuzun bu çalışmaya katılması halinde mevcut dişsel rahatsızlık ile ilgili her türlü dişhekimliği muayeneleri yapılacaktır. Dişler konumları, şekil ve boyutları, çürük var olup olmaması gibi özellikleri açısından incelenecek ve tükürük örneği vermesi istenecektir. Tükürük örneği verme işlemi: 25 ml'lik dereceli tükürük kaplarına 5 dakika süre ile tükürmesi şeklinde olacaktır. Ayrıca anamnez bilgileri alınırken size ve çocuğunuza bazı sözlü sorular sorulacaktır. Bu çalışmaya sizin ve çocuğunuzun katılıp katılmaması tamamen sizin kendi iradeniz ile vereceğiniz karara bağlıdır.

Katılımın Süresi

Bu çalışmaya katılmaya karar verirseniz işlemler yaklaşık olarak 15 dakika civarında sürecektir.

Potansiyel Risk ve Sorunlar

Bu çalışmada kullanılan klinik muayene yöntemleri rutin dişhekimliği muayene yöntemleri ile aynıdır.

Hastaların Olası Yararları

Tüm klinik muayene işlemleri ve tükürük testleri ücretsiz olarak gerçekleştirilecektir ve bulgular size iletilecektir. Mevcut rahatsızlıkla ilgili olarak yapılması gereken tedaviler konusunda bilgi verilecektir. Gereken tedaviler randevu düzenine uyarak gerçekleştirilecektir.

Alternatif Tedavi Yöntemleri

Tükürük örneği alınması esnasında karşılaşılabilecek herhangi bir olumsuz durum karşısında ve dişsel tedavi ihtiyaçlarınız için dişhekiminiz ve fakültemizin ilgili klinikleri size yardımcı olacaktır. Çalışma esnasında deneklerden bir defaya mahsus olmak üzere şekersiz sakız ile uyarılmış tükürük örneği alınacağından çalışmanın herhangi bir riskinin söz konusu olmayacağı düşünülmektedir.

Gizlilik

Bu konudaki tüm kayıtlar gizli tutulacaktır. Siz, eşiniz ve çocuğunuz herhangi bir yayında isimle veya benzeri şekilde anılmayacaksınız. Her örneğe verilecek bir kod numarası olacaktır. Bu kod numaraları ve isimler tarafımızdan saklanacaktır.

Kurumumuzun Sorumluluk Sınırları

Herhangi bir fiziksel yaralanma oluşmaması için gereken her türlü özen ve hassasiyet gösterilecektir. Muayene işlemleri tükürük örneği alma esnasında oluşacak herhangi bir fiziksel travmadan dolayı kurumumuz sorumluluk kabul etmemektedir. Fakat oluşacak zararlar konusunda yardımcı olmak için elimizden gelen gayret gösterilecektir.

Çalışmadan Çıkmak

Siz, eşiniz ve çocuğunuz istediğiniz takdirde çalışma kapsamı dışında kalabilirsiniz. Çalışma kapsamı dışında kalmanız Dişhekimliği Fakültesinin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

Sorularınız

Sizin ve çocuğunuzun çalışma ile ilgili sorularınız en kısa sürede yanıtlanacaktır. Sorularınızı doğrudan Prof. Dr. Figen Seymen ve Dt. Aslı Patır'a sorabileceğiniz gibi gerekirse 0-212-414 20 20- 30400 no'lu telefonu da kullanabilirsiniz.

Bu proje İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurul komitesi tarafından incelenmiş ve onaylanmıştır. Bu proje ile ilgili sorularınız gerekirse önceden telefon ile randevu alarak komiteye de yöneltebilirsiniz.

Onay:

Yukarıda yazılı bilgileri okudum. İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesinin bu araştırma projesine özgürce ve herhangi bir baskı altında kalmadan gönüllü olarak katılmak istiyorum.

Projeye katılan kişinin Adı Soyadı,

İmzası

Yaşı, Cinsiyeti

.....

.....

Araştırmacının imzası

Tarih

.....

.....

ÇOCUKLARIN KATILIMI İÇİN YAZILI ONAM FORMU

Araştırma yürütücüsü: Prof. Dr. Figen Seymen 0 212 414 20 20 / 30400

-----ismi yazılı çocuğumun ebeveyni (veya yasal vasisi) olarak Yazılı Onam formunda belirtilen çalışmaya katılmasına izin veriyorum. Bu konuda ilgili formu okudum ve gereken bilgileri aldım. Bu formun bir kopyası bana verildi.

Veli veya vasisin imzası

Tarih

.....

.....

Araştırmacının imzası

Tarih

.....

.....

Aşağıdaki soruları Evet/Hayır olarak işaretleyiniz.

Yüksek risk göstergeleri*:

	E	H		E	H
Beyaz lezyon			Dişlerini floridli diş macunu ile		
Çürük kavitesi / röntgende dentin çürüğü			günde iki kez fırçılıyor		
Son 3 yılda yapılmış dolgu			Fluoridli gargara/jel kullanıyor		
Dişler üzerinde gözle görülebilir yoğun plak			Fluorid verniği /jeli uygulanmış		
Karbonhidrattan zengin içerikli öğünler			Fissür örtücü var		
Günde >3 şekerli/pişmiş nişastalı ara öğün			Görünürde tükürük miktarı yeterli		
Tükürük akışını azaltan faktörler :			Günde 4 kez ksilitollü çiklet çiğniyor		
Hiposalivasyon yapan ilaç			Her gün çiklet çiğneme alışkanlığı var		
Hiposalivasyon yapan sistemik nedenler			Anne/bakıcıda çürük yok		
Baş boyun bölgesine radyasyon			Son bir ayda antibiyotik tedavisi görmüş		
Ağız kuruluğu şikayeti var					
Sabit/hareketli protezler					
Ortodontik tedavi					

Koruyucu faktörler :

Orta risk göstergeleri :**

	E	H	
Açığa çıkmış kök yüzeyleri			*işaretli bölümdeki sorulardan birisinin yanıtı evet ise YÜKSEK RİSKLİ- ÇAT yapılır.
Derin çukurcuk-fissürler			**Klinik muayenede çürük ya da yakın zamanda yapılmış dolgu varsa YÜKSEK RİSKLİ

ÇAT sonucu

• Tükürük, akış hızı: ml / 5 dak	ölçülecek
• Tükürük akış hızı : ml / dak	hesaplanacak
• Tamponlama kapasitesi:	pH	10 dakika sonra bakılacak
• Mutans streptokokları sayısı : cfu/ml	Yüksek / Orta / Düşük
• Laktobasil sayısı : cfu/ml	Yüksek / Orta / Düşük
• Maya sayısı : cfu/ml	Yüksek / Orta / Düşük

Çürük riski Yüksek Orta Düşük

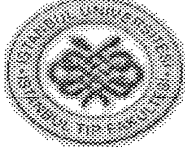
ÇAT sonucuna göre MS ve LB sayısı düşük bile olsa diğer risk faktörlerinden birkaçı varsa ORTA RİSKLİ

Dişhekiminin hastaya önerisi :.....
(Bakınız ÇAT Çürük Kontrolü Öneri Formu)

Randevu tarihi 1 ay sonra 3 ay sonra 6 ay sonra 12 ay sonra 2 yıl sonra

Dişhekiminin imzası

ETİK KURUL KARARI



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 14/06/2006

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Pembe Salon

Toplantı Sayısı : 6

Sorumlu araştırmacılığını Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi, Klinik Bilimleri Bölümü, Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Figen Seymen'in, üstlendiği Dt.Asılı Patir'in yürüteceği 2006/989 protokol numaralı "Anne ve babadan, çocuğa geçen S.mutans ve S.Sobrinus Kolonizasyonlarındaki genotipik çeşitliliğin belirlenmesi" başlıklı tez çalışması araştırma fonundan desteklendiği takdirde kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Zafer ARI
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. Aykan CANBERK
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D, Romatoloji Bilim Dalı

Prof.Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU
Biokimya A.D

Dr.Ecz. Güldem MERCANOĞLU
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Mübeccel DEMİRKOL
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM
Tıp tarihi ve Deontoloji A.D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nöroloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Ümit TÜRKOĞLU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Veli UYSAL
Patoloji A.D.

Prof.Dr. Yeşim ERBİL
Genel Cerrahi A.D.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Aslı	Soyadı	PATIR
Doğ.Yeri	Edirne	Doğ.Tar.	15.06.1978
Uyruğu	TC	TC Kim No	16663949396
Email	asli_patir@yahoo.com	Tel	05322301819

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi	2002
Lisans		
Lise		

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	iyi	iyi	72	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	62	61	61
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows	Çok iyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

SCI KAPSAMINDA ULUSLAR ARASI YAYIN

1. Alexandre R. Vieira , Figen Seymen , Asli Patir , Renato Menezes. Evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and isolate tooth agenesis, in a Turkish population. Archives of Oral Biology 2008: Vol: 53(8):780-784.
2. Patir A, Seymen F, Yildirim M, Deeley K, Cooper ME, Marazita ML, Vieira AR. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. Caries Res. 2008;42(5):394-400.
3. Vieira AR, Seymen F, Patir A, Menezes R. Evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and isolate tooth agenesis, in a Turkish population. Arch Oral Biol. 2008 Aug;53(8):780-4.

ULUSAL YAYIN:

1. Erdal Karaöz, Patir A, Ayla Eker Sarıboyacı, Alpaslan Okçu, Sibel Köktürk, Gülçin Gacar, Pınar Çetinalp Demircan, Murat Kasap, Figen Seymen. İnsan dental pulpa ve periodontal ligaman kökenli mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu, karakterizasyonu ve farklılaşma potansiyeli. 3. Klinik pratikte kök hücre ve gen tedavisi kongresi. 29 Mayıs-1 Haziran 2008 Askeri Müze ve Kültür Sanat Sitesi Komutanlığı, Harbiye İstanbul.
2. Patir A, Seymen F. Konjenital diş eksikliği. Dişhekimliği Dergisi 2008:
3. Patir A, Seymen F. Erken Çocukluk Çürükleri. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2007;41(1-2):25-32.

4. Patır A, Seymen F. Ellis-Van Creveld Sendromu. Bir Olgu Bildirimi. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2007;41(1-2):33-38.
5. Patır A, Seymen F. Farklı dolgu materyallerinin florid salım özelliklerinin in vitro koşullarda incelenmesi. Akademik Dental Diş Hekimliği Dergisi 2007;9(4):14-22.
6. Tokmak E, Patır A, Yıldırım M, Seymen F. Türk çocuklarında altı yaş dişinin sürme zaman aralığının değerlendirilmesi. Türk Diş Hekimliği Dergisi 2007;14(70):237-240.

SÖZLÜ SUNUM:

1. Erdal Karaöz, Patır A, Ayla Eker Sarıboyacı, Alpaslan Okçu, Sibel Köktürk, Gülçin Gacar, Pınar Çetinalp Demircan, Murat Kasap, Figen Seymen. Characterization and Differentiation of Dental Pulp and PDL Stem Cells. PEF IADR 2008, 10-12 September, 2008, Queen Elizabeth Conference Center, London, England.
2. F. Seymen, A. Patır, R. Menezes, and A. Vieira. Evidence of Association between IRF6 and Tooth Agenesis in Turkey. 87th General Session & Exhibition of the IADR, 32nd Meeting of the CADR, Metro Toronto Convention Centre, ON, Canada 2-5, July 2008. 0224
3. F. Seymen, A. Patır, R. Menezes, and A. Vieira. Türkiye’de bireylerde görülen diş eksikliğinin IRF6 ile ilişkisi. Türk Pedodonti Derneği 15. Bilimsel Kongresi, Titanic De Luxe Resort Beach Hotel, Antalya, 17-21 Ekim 2007.
4. Patır A, Seymen F. Kompomerlerin florid salım özelliklerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Türk Pedodonti Derneği 14. Bilimsel Kongresi, Hotel Limra Tatil Köyü, Antalya, 11-15 Mayıs 2005.
5. Patır A, Seymen F. Ağız gargaralarının estetik restoratif materyallerin yüzey sertlikleri üzerine etkilerinin incelenmesi. Türk Pedodonti Derneği 13. Bilimsel Kongresi, Lykia World, Fethiye, 25-19 Mayıs 2003.

POSTER:

1. N. Callahan, A. Modesto, R. Meira, F. Seymen, A. Patır, and A. Vieira. AXIN2 Contributes to Isolated Tooth Agenesis. 87th General Session & Exhibition of the IADR, 32nd Meeting of the CADR, Metro Toronto Convention Centre, ON, Canada 2-5, July 2008.2246.
2. M. Yıldırım, A. Patır, K. Gençay F. Seymen. Surface Characteristics of Esthetic Restorative Materials After Poolishing Procedures. 9th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD), Dubrovnik, Croatia, May 29th – June 1st, 2008.P89.
3. M. Yıldırım, A. Patır, F. Seymen. Roland Desbuquis Tipi Dissegmental Displazi. Türk Pedodonti Derneği 15. Bilimsel Kongresi, Titanic De Luxe Resort Beach Hotel, Antalya, 17-21 Ekim 2007.
4. Patır A, Seymen F. Fluoride release from three different polyacid-modified resin composites. Annual meeting of the Continental European and Israeli Divisions of IADR, 26-29 September 2007, Thessaloniki, Greece.

ÖDÜL

CED Travel Stipend 2008. PEF IADR 2008, 10-12 September, 2008, Queen Elizabeth Conference Center, London.