



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Streptococcus mutans*'ın ANNE-ÇOCUK GEÇİŞİNİN
AP-PCR METODUYLA SAPTANMASI VE DİŞ ÇÜRÜĞÜ İLE İLİŞKİSİ**

Dt. MEHMET SERTAÇ PEKER

DOKTORA TEZİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. BETÜL KARGÜL

İSTANBUL – 2007

TEŞEKKÜR

Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki doktora eğitimimim süresince varlığı ve bilgisi ile bize güven veren, pedodonti eğitimimizi en iyi şekilde almamız için her türlü ortam ve şartı hazırlayan, bizi hiç yalnız bırakmayıp yol gösteren, sabrını, iyi niyetini ve desteğini bizden hiç esirgemeyen, değerli hocam Prof. Dr. İlknur TANBOĞA'ya,

Tez çalışmam boyunca yardım eden ve yol gösteren, destek sabır ve katkılarıyla tezimin şekillenmesini sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Betül KARGÜL'e

Anabilim Dalına girdiğim ilk günden beri Pedodonti eğitimime destek ve katkısı olan sayın hocalarım; Prof. Dr. Serap AKYÜZ'e, Prof. Dr. Lale DÜZDAR'a, Prof. Dr. Ali MENTEŞ'e

Doktora tezim ön çalışmalarında bana yol gösteren ve her aşamada danıştığım, çalışmamın planlamasında büyük emeği geçen M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Öğretim üyesi Doç.Dr. Tuğba Tunalı'ya ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayşen YARAT'a

Tezimin Laboratuvar işlemlerini hassasiyetle gerçekleştiren ve her aşamasında yardımcı olan Düzen Laboratuvar'ları Moleküler Biyoloji Bölümünden Dr. Bilgen DÖLEK ve arkadaşlarına,

Doktora tezimin istatistiksel analizlerinin yapımında samimi ilgisini gösteren biyoistatistik uzmanı Prof. Dr. Nural BEKİROĞLU ve A.Rana KONYALIOĞLU'na

Bölümde geçirdiğim yıllarımın en güzel hatıraları olacak her kıdemdeki tüm asistan arkadaşlarıma, özellikle dönem arkadaşlarım Dr. Özgür Önder KUŞÇU, Dr. Onur Özlem ULU ve 15 yıllık dostum Dt. Seçkin SÜSAL'a

Beni her durumda en iyi koşullarda büyütüp yetiştiren, eğitimimin her aşamasında bana sonsuz desteklerini sunan hayatım boyunca hep yanımda olan teşekkürlerin yetersiz

kalacağı annem Firuzan PEKER ve babam B.Güray PEKER ve kardeşim Nahid PEKER'e

Ve tez dönemi boyunca büyük bir sabır ve fedakarlıkla bana yardımcı olan sevgili eşim Dt.Oya ÖZTAN PEKER'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dt. Mehmet Sertaç PEKER

D) İÇİNDEKİLER

1.ÖZET.....	1
2.SUMMARY.....	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4.GENEL BİLGİLER.....	5
4.1.Diş Çürüğü.....	5
4.2.Diş Çürüğü Mikrobiyolojisi.....	6
4.2.1.Streptokoklar.....	6
4.2.1.1. <i>Streptococcus sanguis</i>	9
4.2.1.2. <i>Streptococcus salivarius</i>	9
4.2.1.3. <i>Streptococcus vestibulari</i>	9
4.2.1.4. <i>Streptococcus milleri</i>	9
4.2.1.5. <i>Streptococcus mitis</i>	10
4.2.2 Mutans streptokok grubu:.....	10
4.2.2.1. <i>Streptococcus sobrinus</i> (serotip d,g).....	11
4.2.2.2. <i>Streptococcus cricetus</i> (serotip a).....	11
4.2.2.3. <i>Streptococcus rattus</i> (serotip b).....	12
4.2.2.4. <i>Streptococcus ferus</i> (serotip c).....	12
4.2.2.5. <i>Streptococcus macacae</i> (serotip c).....	12
4.2.2.6. <i>Streptococcus downei</i> (serotip h).....	12
4.2.2.7. <i>Streptococcus mutans</i> (serotip c,e,f).....	12
4.2.3. <i>Streptococcus mutans</i> 'ın metabolik aktivitesi.....	13

4.2.4. <i>Streptococcus mutans</i> 'in Ekolojisi.....	14
4.2.5. <i>Streptococcus mutans</i> 'in Epidemiyolojisi.....	15
4. 3.Laktobasiller.....	15
4. 4.Aktinomiçesler.....	16
4.5. Yeni doğan da ağız florası.....	16
4.6 <i>Streptococcus mutans</i> 'ın geçişi.....	17
4.7 <i>Streptococcus mutans</i> 'ın karyojenitesine etkili faktörler.....	18
4.7.1. Ekstraselüler Polisakkarit Sentezi.....	18
4.7.2. Diş yüzeylerine tutunması.....	19
4.7.3.Şeker transportu ve intrasellüler polisakkarit sentezi.....	19
4.7.4. Asit toleransı.....	20
4.7.5. Asit üretimi.....	20
4.7.6.Endodekstranaz Üretimi	21
4.8. <i>Streptococcus mutans</i> 'ın Hücre Duvarı Özellikleri.....	21
4.8.1. Yüzey Proteinleri.....	22
4.8.2. Bakteriyosin Üretimi.....	22
4.9. <i>Streptococcus mutans</i> İzolasyonunda Kullanılan Kültür Yöntemleri.....	22
4.10. <i>Streptococcus mutans</i> İdentifikasyonunda Kullanılan Yöntemler	23
4.10.1. <i>S. mutans</i> 'm Tiplenmesi.....	23
4.10.1.1 Fenotipleme Yöntemleri:.....	23
4.10.1.2Genotipleme Yöntemleri.....	24
4.11. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PCR) temel bileşenleri.....	27
4.11.1. Çoğaltılacak olan kalıp DNA.....	27
4.11.2. Yüksek ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimleri.....	27
4.11.3. Sentezde Kullanılan Primerler ve Özellikleri.....	28
4.11.4. Sentezde kullanılan deoksinükleotid trifosfatlar(dNTP).....	28
4.11.5. DNA Polimerazın çalışması için gerekli tamponlar ve MgCl ₂	29

4.12. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Oluşum Mekanizması.....	29
4.12.1. Hedef DNA 'nın Denatürasyonu.....	31
4.12.2. Primerlerin Bağlanması (Annealing):.....	32
4.12.3. Uzama (Extension):.....	32
4.13. Polimeraz Zincir Reaksiyonunu Etkileyen Faktörler.....	33
4.13.1. Denatürasyon Sıcaklığı.....	33
4.13.2 Bağlanma Sıcaklığı ve Süresi:.....	34
4.13.3. Primerlerin Uzunluğu:.....	34
4.13.4.Magnezyum Konsantrasyonu.....	34
4.14. Amplifiye Edilmiş PCR Ürünlerinin Saptanması:.....	35
4.14.1. Etidyum Bromür ile Bantların Boyanması:.....	35
4.14.2.Southern Blot analizi:.....	35
4.14.3. Solüsyon Hibridizasyon Tekniği:.....	35
4.15. Mikrobiyal Dental Plak.....	36
4.15.1. Mikrobiyal Dental Plak ve Diş Çürüğü.....	36
4.15.2. Mikrobiyal Dental Plak Oluşumu ve Yapısı.....	36
4.15.3. Mikrobiyal Dental Plakın Mikrobiyolojik Yapısı.....	37
5.GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
5.1.Hasta seçimi ve örnek toplama.....	39
5.2. Tükürük de Mutans streptokok tespiti	40
5.2.1. Tükürük Mutans streptokok Ölçüm Basamakları.....	40
5.3. Mikrobiyal Dental Plak Örneklerinin Alınması.....	43
5.4. Mikrobiyal Dental plak örneklerinde kullanılan besiyerleri.....	43
5.4.1. Seçici TYCSB agar(Triptikaz-mayaözütü-sistin-sakaroz-basitrasin)43	
5.4.2. Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri (Oxoid).....	44

5.5. Tampon ve çözeltiler.....	44
5.6. Mikrobiyal Dental Plak örneklerinin labotatuvara getirilmesi ve işlemler ...	47
5.7. Gram Boyama.....	48
5.8. İzolatlardan DNA İzole edilmesi.....	48
5.9. DNA ların saflık kontrolü ve miktar tayini.....	49
5.10. AP-PCR (Arbitrarily Primed Polimerase Chain Reaction).....	50
5.11. AP-PCR Ürünlerinin Elektforezi.....	51
5.12. AP PCR ile izolatların tiplendirilmesi.....	52
5.13. Fotoğrafların çekilmesi.....	54
5.14. İstatistiksel Yöntem:.....	54
5.15. ETİK KURUL ONAYI.....	54
6. BULGULAR.....	55
6.1. Çalışma Grubunun Değerlendirilmesi.....	55
6.1.1. Yaş ve cinsiyet dağılımı.....	55
6.1.2. Çalışma grubundaki anne ve çocuk mutans streptokok dağılımı.....	57
6.1.3. Çalışma grubundaki anne DMF-T ve çocuk df-t değerlerinin incelenmesi.....	58
6.2. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen gruplar arası ilişkilerin değerlendirilmesi.....	67
6.3. Mutans streptokok izolasyonu yapılan grupta anne çocuk <i>Streptococcus mutans</i> geçişinin değerlendirilmesi	81
7. TARTIŞMA.....	100
7.1. SONUÇLAR.....	121
8. EKLER.....	122
9. KAYNAKLAR.....	133
10. ÖZGEÇMİŞ.....	150

II) KISALTMALAR:

A:	Adenin
AP-PCR:	Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction (Rastgele Başlatıcılı-PCR)
bp:	Base pair = Baz çifti
C :	Sitozin
DNA :	Deoksiribonükleik asit
dNTP:	Dinükleotridfosfat
G:	Guanin
MS:	Mutans streptokok
MSB:	Mitis Salivarius-Bacitracin Agar
PCR:	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
REA :	Restriksiyon Endonükleaz Analizi (Restriction Endonuclease Analysis)
RFLP:	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
PFGE:	PulsedField Jel Elektroforezi
<i>Sm:</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
T:	Timin
<i>Taq:</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TYCSB:	Trypticase-yeast-cysteine-sucrose-bacitracin agar

1.ÖZET

Diş çürüğü mikrobiyal dental plaktaki bakterilerin, ağız ortamındaki karbonhidratları fermente etmeleri sonucunda ortaya çıkan organik asitlerin diş sert dokularında meydana getirdiği dinamik biyokimyasal olaylar dizisidir.

Ülkemizde ve gelişmekte olan birçok ülkede, diş çürüğü temel bir sağlık problemi olarak önemini korumaktadır. İnsanlarda diş çürüğünü oluşturan en önemli bakteri *Streptococcus mutans*' tır. Bu bakteri ağız ortamında bebeklerin dişlerinin sürmesinden önce ya geçici olarak bulunurken ya da hiç bulunmazken, dişlerin sürmesi ile birlikte ağız ortamında yer almaktadır. Bir çok mikrobiyolojik ve epidemiyolojik çalışmada, anne ile çocukları arasında hem *Streptococcus mutans* hem de çürük skorlarında benzerlikler gösterilmiş ve tükürüklerinde yüksek *Streptococcus mutans* bulunan anneler ile bebekleri arasında sık tükürük teması olduğunda bebeğin erken dönemde enfeksiyon riskinin arttığı gözlenmiştir.

Diş çürüğünün engellenmesindeki koruyucu yaklaşımlardan bir tanesi de diş çürüğünün başlıca etkeni olan *Streptococcus mutans*'ın çocuklara doğal yollardan iletiminin araştırılmasıdır. Ayrıca süt dişlerinin *Streptococcus mutans* ile kolonize olmaması daimi dişlenme döneminde de çürük gelişiminin azalmasını sağlamış olacaktır.

Araştırmamızda 44 anne ve yaşları 11- 43 ay arası değişen 51 çocukta *Streptococcus mutans* varlığı kantitatif olarak değerlendirilmiş, *Streptococcus mutans* izole edilen 37 çocukta OPA-5 primeri kullanarak AP-PCR (Arbitrarirly Primed Polimarase Chain Reaction) yöntemi ile bu mikroorganizmaların annelerinden geçiş olup olmadığı incelenmiştir. Araştırma sonunda 15 çocuğun anneleriyle aynı *Streptococcus mutans* klonunu taşıdığı tespit edilmiştir. Anne-çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren gruptaki annelerin, *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen gruptaki annelere göre DMF-T değeri ve mutans streptokok miktarının yüksek olduğu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır (p=0.0001, p=0.001).

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus mutans*, anne-çocuk, geçiş, AP-PCR, diş çürüğü

2.SUMMARY

THE ESTABLISHMENT OF MOTHER CHILD TRANSMISSION OF *Streptococcus mutans* WITH AP-PCR METHOD AND THE RELATION WITH DENTAL CARIES

Dental caries is a dynamic biochemical serial process made by organic acids which are produced by the bacteria in the dental plaque that fermentates the carbohydrates in the oral cavity. And also in our country and in the world, dental caries is a still fundamental serious health problem. The main and the most important bacteria causes dental caries in human is *Streptococcus mutans*. This bacteria exists in the infants mouth temporarily for a short time or cannot be detected before the tooth eruption. A lot of microbiological and epidemiological studies shows parallel results about the *Streptococcus mutans* counts and caries scores between the mother and children and increased infection risk in the early period whose have frequent saliva contact between mothers and infants. One of the preventive approaches for preventing caries is searching the ways for transmission of *Streptococcus mutans*. Furthermore preventing the colonization of deciduous teeth with *Streptococcus mutans* will prevent the dental caries process.

In our study 44 mothers and 51 children ages between 11- 43 months old are evaluated quantitatively about *Streptococcus mutans* levels. And in 37 *Streptococcus mutans* isolated children had examined about the transmission from mothers with Arbitrarily Primed PCR (AP PCR) method with using the OPA-5 primer. At the result, 15 children have been found that carrying the same clones with their mothers. We observed 195 amplicons and 6 different genotypes in the DNA amplification among the mother and children.

And we also found that the mothers who has streptococcus mutans transmission to their children have more DMF-T values and mutans streptococci counts than the others ($p=0.0001$, $p=0.001$).

Keywords: *Streptococcus mutans*, mother-child, transmission, AP-PCR, dental caries

3.GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürüğü mikrobiyal dental plaktaki bakterilerin, ağız ortamındaki karbonhidratları fermente etmeleri sonucunda ortaya çıkan organik asitlerin diş sert dokularında meydana getirdiği dinamik biyokimyasal olaylar dizisidir.

Ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde, diş çürüğü temel bir sağlık problemi olarak önemini korumaktadır. Gelişmiş batı ülkelerinde ise son 20-25 yıldır diş çürüğü prevalansında düşüş görülmesine rağmen bazı bireylerde yüksek çürük aktivitesi bulunurken bazılarında hiç çürüğün bulunmaması bu konudaki çalışmaları devam ettirmektedir (140).

İnsanlarda diş çürüğünü oluşturan en önemli bakteri *Streptococcus mutans*'tır ve bu bakteri hastalık oluşturan bir bakterinin tüm özelliklerine sahiptir (131). Diş çürüğü prevalansı ile *Streptococcus mutans* seviyesi ilişkilidir ve eliminasyonu hastalığın ortadan kalkması ile sonuçlanmaktadır (155).

Streptococcus mutans, bebeklerin dişlerinin sürmesinden önce ağız ortamında ya geçici olarak bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadır. Çünkü bu bakterilerin kolonize olması için diş yüzeyi gibi sert alanların olması gerekmektedir (20,22,31,34).

Streptococcus mutans prevalansı ile süt dişlerindeki çürük arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sonucunda, süt dişlerindeki *Streptococcus mutans* kolonizasyonunu geciktirmek ya da tamamıyla engellemekle çocuklarda diş çürüğü oluşumunun etkili bir şekilde azalacağı kanısına varılmıştır (1,81,139). Ayrıca süt dişlerinin *Streptococcus mutans* ile kolonize olmaması daimi dişlenme döneminde de çürük gelişiminin azalmasını sağlamış olacaktır (34).

Streptococcus mutans'ın erken yaşta kolonize olması, çocuklarda ileriki yaşlarda diş çürüğü gelişme riskinin çok daha fazla olacağını göstermektedir.(34) Dolayısıyla bu gözlemler, erken dönemde *Streptococcus mutans* enfeksiyonunun önlenmesi ve mikrobiyolojik olarak risk altındaki çocukların ne kadar önemli olduğu gerçeğini ortaya koymakta ve vurgulamaktadır. Bu yüzden süt dişlerinde *Streptococcus mutans* enfeksiyonunun klinik olarak pratik ve güvenilir yaklaşımlarla önlenmesi bireyde hem süt hem de daimi dişlenme döneminde çürük gelişimini önemli ölçüde azaltacaktır (140).

Bir çok mikrobiyolojik ve epidemiyolojik çalışmada, anne ile çocukları arasında hem *Streptococcus mutans* hem de çürük skorlarında benzerlikler gösterilmiş ve tükürüklerinde yüksek *Streptococcus mutans* bulunan anneler ile bebekleri arasında sık tükürük teması olduğunda bebeğin erken dönemde enfeksiyon riskinin arttığı gözlenmiştir (2,41,82).

AP-PCR (Arbitrarirly Primed Polimarase Chain Reaction) yöntemi ise *Streptococcus mutans*'ın saptanmasında kullanılan günümüzdeki en geçerli, pratik, güvenilir moleküler biyolojik bir yöntemdir.

Araştırmamızda; çocuğun anne ile en yakın ilişkide olduğu dönemde *Streptococcus mutans*'ın anneden çocuğa geçişinin, günümüzde bu konuda en geçerli yöntem olan AP-PCR metodu ile incelenmesi, anne ve çocuktaki diş çürüğü ve diğer alışkanlıklarla olan ilişkilerinin tespit edilmesi ve elde edilen verilerin diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

4.GENEL BİLGİLER

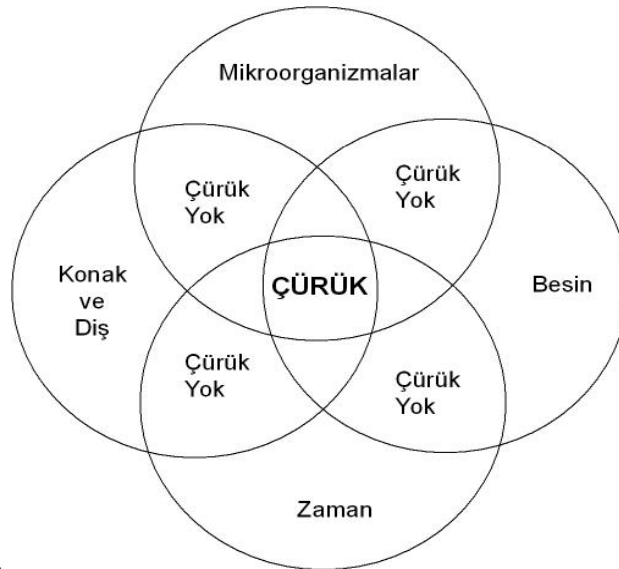
4.1.Diş Çürüğü

Diş çürüğü, mikrobiyal dental plaktaki bakterileri, ağız florası, karbonhidratlar, diş yapısı ve bazı immün sistem gibi faktörlerinin etkisiyle dişin organik ve inorganik yapısını bozmasıdır (93,100).

Diş çürüğü ve ortaya çıkarmış olduğu sistemik komplikasyonların kişinin kendisine, topluma ve devlete verdiği maddi ve manevi zararlar düşünülecek olursa semptomaya yönelik tedaviden çok koruyucu önlemlerin alınmasının önemi ortaya çıkmaktadır. Ağız ve diş hastalıklarının sebebinin belirli bakteriler olduğu düşünülürse, koruyucu önlemlerin hedefi risk altındaki kişilerin tespit edilerek mikrobiyal dental plaktaki patojenlerin baskılanması ve elimine edilmesidir (45).

Diş çürüğü mikrobiyal dental plaktaki bakterilerin, ağız ortamındaki karbonhidratları fermente etmeleri neticesinde ortaya çıkan organik asitlerin diş sert dokularında meydana getirdiği dinamik biyokimyasal olaylar dizisidir.

Diş çürüğünün etiyolojisinde birkaç faktör vardır. Bu faktörler mikrobiyal dental plak, bakteriler, karbonhidratlar ve zamandır. Bu etiyolojik faktörlerin ilişkisi Şekil 1’de özetlenebilir (78).



Şekil 1. Diş çürüğündeki etyolojik faktörler

Mikrobiyal dental plak bakterileri monosakkaritleri, disakkaritleri ve polisakkaritleri kullanabilir. Fruktoz ve glikozdan oluşan monosakkaritler asidojenik bakteriler tarafından fermente edilerek organik asitler oluştururlar. Disakkaritler hümorale enzimlerle glikoz ve fruktoza çevrilerek asit oluşumuna katkıda bulunurlar. Bakteriyel enzimler disakkaritlerden sakkaroz sentez ederek polisakkaride dönüştürür. Polisakkaritler bakterilerin ve ürünlerinin diş yüzeyinde birikmesine, etkilerinin belirli bir seviyeye ulaşmasına neden olur. Monosakkaritler bakteriler tarafından kullanıldığında mikrobiyal dental plak pH'sının değişimine sebep olmaktadır. Plak pH tespiti deneylerinde, pH değerinin 5-10 dakika içinde 5,5 ve daha aşağı değerlere düştüğü görülmüştür. pH değerinde görülen bu azalmanın zaman içerisinde tekrarlanması ile çürüğe yakınlık gösteren diş yüzeylerinde demineralizasyon başlar (100).

Çürük mikrobiyolojisi ile ilgili çalışmalar germ-free ve gnotobiyotik hayvan deneyleri ile yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde çürükte etkili bakteri grupları belirlenmiştir (34,109,112).

4.2.Diş Çürüğü Mikrobiyolojisi

Diş çürüğü oluşumunda etkisi olan başlıca bakteri grupları mutans streptokokları, laktobasiller ve aktinomiçeslerdir.

4.2.1.Streptokoklar

Gram pozitif, küresel veya oval şekilli, 0.5-2µm çapında, çiftler veya zincirler halindedir. Gaz üretimleri yoktur. Metabolizmaları fermentatifdir. Katalaz içermezler. α veya β-hemolitikdirler. Çoğalmaları için ideal sıcaklık 37 °C'dir.

Üst solunum yolları ve ağız mikroflorasının büyük bir çoğunluğunu oluştururlar ve birçok alt gruplara ayrılırlar. Mutans streptokoklar genç plakta toplam koloni oluşturan birimlerin % 50 sini oluştururlar (94,100,109). Mutans streptokokların biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo1. Mutans streptokoklarının biyokimyasal özellikleri (13,59,64,98,152)

	Türler						
	<i>S.mutans</i>	<i>S.ratus</i>	<i>S.sobrinus</i>	<i>S.cricetus</i>	<i>S.downei</i>	<i>S.macacae</i>	<i>S.ferus</i>
Karakteristikler							
Havalı ortamda yaşama:	Δ	Δ	Δ	Δ	+	z	Δ
10 c de yasama	-	-	-	-	B	B	-
45 c de yasama	Δ	Δ	Δ	Δ	-	-	-
%6,5 NaCl ile yasama	-	-	Δ	Δ	-	-	-
Hemoliz	γ	B	γ veya α	γ	B	α	B
Fermantasyon:							
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	Δ	+	-	+	+
Raffinose	+	+	Δ	+	-	+	-
İnulin	+	+	Δ	Δ	+	-	+
Melibiose	Δ	+	-	B	B	B	B
Salicin	+	+	-	+	+	B	+
Trehalose	+	+	Δ	+	+	+	B
Hidroliz							
Arginin	-	+	-	-	-	-	-
Eskulin	+	+	Δ	Δ	-	+	+
Üretim							
Hidrojen Peroksit	-	-	+	-	-	-	-
α galaktosidaz	Δb	B	-	B	B	B	B
β –glukozidaz	+	B	-	B	B	B	B
Voges-Proskauer test	+	+	+	+	+	B	Δ
(aseton üretimi)							
Basitrasin resistansı	+	+	+	-	-	-	-
Primer konak	insan	rat	insan	hamster	maymun	maymun	vahşi rat
		insan		insan			
				vahşi rat			

Δ, %11-89 suşlar pozitif

+: %90 ya daha fazla suş pozitif

-, %90 veya daha fazla suş negatif

z, zayıf büyüme

α, alfa hemoliz, kanlı agar da yeşil renklenme

γ, gamma hemoliz, berrak değil

B: Belirlenemedi

Mutans streptokoklar, koloni şekillerine ve biyokimyasal özelliklerine göre farklı gruplara ayrılır. Aşağıda Tablo 2.'de oral kavitedeki mutans streptokokların sınıflandırılması görülmektedir.

Tablo 2. Oral Streptokokların sınıflandırılması (100)

Grup ADI	Tür ADI
<i>Streptococcus mutans grubu</i> <i>(mutans streptococci)</i>	<i>S. mutans, serotip c,e,f</i> <i>S. sobrinus, serotip d,g</i> <i>S. cricetus, serotip a</i> <i>S. rattus, serotip b</i> <i>S. ferus</i> <i>S. macacae</i> <i>S. downei serotip h</i>
<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. sanguis</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. parasanguis</i> <i>S. Oralis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. crista</i>

4.2.1.1. *Streptococcus sanguis*

Küresel ve oval şekilli, 0.8-1.2µm çapında, orta veya uzun zincirler oluştururlar. Diş yüzeylerinde kolonize olabilirler. Genellikle fissürlerde çürüğe sebep olurlar. Ağızda *Streptococcus mutans*'dan daha az yoğunluktadır. Sakkaroz içeren ortamda ekstrasellüler polisakkarit (EPS) oluşturan koloniler pürüzlü yüzeyli, sert kümeler halinde ve agara yapışık olarak bulunurlar (62).

Kanlı agarda α-hemoliz yaparlar. Hidrojen peroksit üretir, eskülin ve arginini hidrolize eder. *S. sanguis* aerobik ortamda üreyebilir. Çoğalabilmeleri için karbonhidratlara ve aminoasitlere gereksinimleri vardır (109).

4.2.1.2. *Streptococcus salivarius*

Küresel ve ovoid şekilli, 0.8-1.0µm çapında hücrelerdir. MSB agar üstünde geniş kümeler oluşturan, mukoid koloniler halinde görünürler. Kanlı agarda hemoliz oluşturmazlar. Sakkaroz içeren besiyerinde, suda çözünen bir fruktoz polimeri olan levan oluştururlar. Mikrobiyal dental plak, boğaz, nazofarenks, ağız mukozasında ve dilin sırt yüzeyinde bulunurlar. Yeni doğanların ağzında dişler sürmeden yerleşebilirler. İnsanda az derecede karyojenik aktivite gösterirler (60,100).

4.2.1.3. *Streptococcus vestibularis*:

İnsanda vestibüler mukozadan izole edilirler. α-hemolitik streptokok grubu olarak tanımlanmışlardır. Bir çok tanımlanmamış türe ayrılır. Sakkarozdan ekstrasellüler polisakkarit oluşturmazlar. Laktozdan asit üretebilirler. Sorbitol, mannitol, inulin ve rafinozu fermente edemezler (59,100).

4.2.1.4. *Streptococcus milleri*:

Küresel ve ovoid şekilli, çiftler veya zincirler halinde bulunan hücrelerdir. İnsan ağzında diş yüzeylerinden, dişeti oluğundan, nazofarenksten, boğazdan, ayrıca insan vücudunun değişik bölgelerinde oluşan abselerden izole edilmiştir (59).

4.2.1.5. *Streptococcus mitis*:

Mitis Salivarius Basitrasin (MSB) agarda dairesel, yumuşak kahverengi-siyah koloniler oluşturabilen heterojen bir türdür.

Kanlı agarda α -hemoliz yapar. Sakarozdan ekstraselüler matriks sentezlemezler. İntraselüler polisakkaritler oluşturabilirler ama belirleyici değildir. Boğazdan, ağız boşluğundan, kandan, subakut bakteriyel endokarditten izole edildiği belirtilmiştir (60).

4.2.2. Mutans streptokok grubu:

Streptococcus mutans ilk olarak J. Kilian Clarke tarafından 1924 yılında izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Clarke, derin dentin çürüklerinde küçük zincirler oluşturan coccobasillere rastlamış ve bunların mutasyona uğramış streptokoklar olduğunu düşünerek *Streptococcus mutans* adını vermiştir. Daha sonra diş çürüğü ile *Streptococcus mutans* arasındaki ilişkiyi kanıtlamaya çalışmış ancak destek görememiştir (38).

Diş çürüğü ve streptokoklar arasındaki bağlantı 1960'lı yıllarda gnotobiyotik hayvan modelleri kullanılarak yapılan çürük mikrobiyolojisi çalışmalarıyla tekrar gündeme gelmiştir (71).

Serolojik çalışmalarla hücre duvarının antijenik özelliklerine göre sekiz serotipi tanımlanmıştır (13,26,39,100,109,152). Mutans streptokok grubuna ait özellikler Tablo 3 de gösterilmektedir.

Tablo 3. Mutans streptokok grubunun ayırt edici özellikleri (100)

	Nükleik Asit- baz içeriği (Mol%)	Hücre duvarında bulunan Polisakkaritler	Serotip
<i>S. mutans</i>	36-38	Rha, Glc	<i>c, e, f</i>
<i>S. rattus</i>	41-43	Rha, Gal, Gro	<i>b</i>
<i>S. sobrinus</i>	44-46	Rha, Glc, Gal	<i>d, g</i>
<i>S. cricetus</i>	42-44	Rha, Glc, Gal	<i>a</i>
<i>S. downei</i>	41-42	TE	<i>h</i>
<i>S. macacae</i>	35-36	TE	<i>c</i>
<i>S. ferus</i>	43-45	Rha, Glc	<i>c</i>
Rha:ramnoz; Glc:Glikoz; Gro:Gliserol Gal:Galaktoz TE: tayinedilmemiş			

4.2.2.1. Streptococcus sobrinus (serotip d,g):

Çiftler ve uzun zincirler halinde bulunan, 0.5 µm çapında gram(+) koklardır. Sakkaroz içeren agarda 1mm çapında, pürüzlü yüzeyli, kümeler halinde bulunurlar. Bazı türleri kanlı agarda α-hemolitiklidir (61). *Streptococcus sobrinus*'un diş çürüğü oluşumundaki rolü hakkında çok fazla bilgi mevcut değildir. Çünkü *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'un birbirinden ayırt edilmesine yönelik çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Fakat son yıllarda moleküler biyolojik yöntemlerdeki gelişmeler ile *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'un fenotipik ve genotipik farklılıklarının ayırt edilmesi olanaklı hale gelmiştir (88,128).

4.2.2.2. Streptococcus cricetus (serotip a):

Çiftler veya zincirler halinde bulunup, 0.5µm çapındadırlar. Sakkaroz içeren agarda 1mm. çapında, pürüzlü yüzeyli, kümeler halinde, ekstraselüler glukan içeren bir sıvı ile çevrili koloniler, kanlı agarda 2-3 mm çapında, düzgün yüzeyli yuvarlak koloniler oluştururlar. Fakültatif anaeroblardır. Hamster ve ratların ağızında bulunurlar. İnsanlardan ender olarak izole edilirler (62,100).

4.2.2.3. *Streptococcus rattus* (serotip b):

Çiftler veya zincirler halinde bulunup, 0.5 µm çapındadırlar. Eskülin ve arginini hidrolize ederler. Hidrojen peroksit üretmezler. Sakkarozdan ekstrasellüler glukan sentezlerler (61).

4.2.2.4. *Streptococcus ferus* (serotip c):

Çiftler ve zincirler oluşturan 0.5 µm çapında gram(+) koklardır. Sakarozdan ekstrasellüler ve intraselüler polisakkarit üretirler. İnsandan izole edilmezler, sadece vahşi ratların ağzından izole edilirler (60).

4.2.2.5. *Streptococcus macacae* (serotip c):

İnsanda bulunmazlar. Mannitol, rafinoz ve sorbitol fermentasyonu yaparlar. Eskülini hidrolize ederler (62).

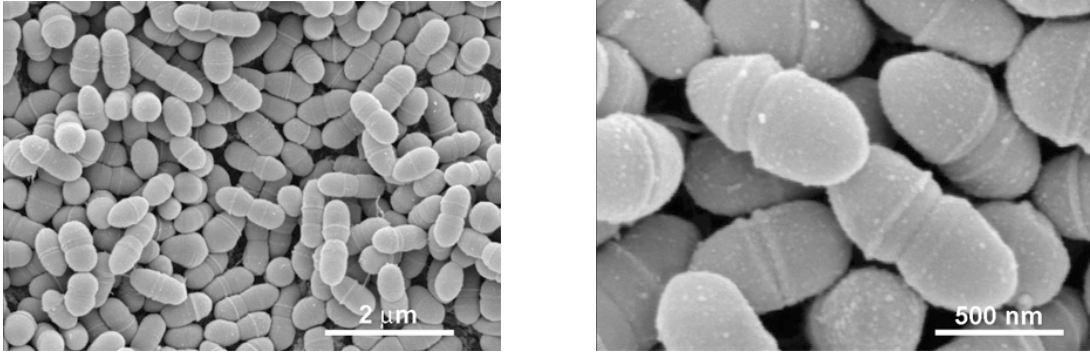
4.2.2.6. *Streptococcus downei* (serotip h):

İnsandan izole edilememektedirler (60).

4.2.2.7. *Streptococcus mutans* (serotip c,e,f):

Çiftler veya kısa ve orta uzunlukta zincirler halinde bulunup 0.5–0.75 µm çapındadırlar. (Resim 1) Kapsülsüzdürler. Gram(+), katalaz(-), ve koloniler hareketsizdir. Mikrobiyal dental plaktan izole edilen mutans streptokokların c,e ve f serotipleri mevcuttur. *Streptococcus mutans* grubu morfolojik ve fizyolojik özelliklerine göre homojen bir grup oluşturlar (61,90,126).

Mitis-salivarius-bacitracin agar'da küçük, düzensiz, sınırlı, opak buzlu cam görünümünde, kabarik koloniler oluştururlar. Sakkaroz içeren mitis-salivarius agar veya trypticase-yeast-cystine agar üzerinde pürüzlü yüzeyli, kümeler halinde, üzerlerinde boncuk veya damlacıklar halinde suda zenen ekstraselüler polisakkarit içeren sıvı bulunan koloniler oluştururlar. Kanlı agarda α , β ve γ hemoliz yaparlar. Koloni şekilleri bulundukları kültür ortamına göre değişkenlik gösterir. Katı ortamda gözlenen morfolojileri, pürüzlü, düzgün yüzeyli ve mukoid özellikte kolonilerdir. Katı ortamlarda veya asit koşullarda 1,5–3 μ m uzunluğunda çubuklar oluştururlar. Sakkaroz içeren agarda çoğu *S.mutans* türü, 1mm çapında koloniler oluşturur ve suda eriyebilen polosakkaritler oluştururlar. Kanlı agarda anaerobik olarak iki gün inkübe edildiğinde, gri-beyaz, dairesel ve düzensiz sınırlı, 0,5-1mm çaplı koloniler oluşturur (62) (Resim 1).



Resim1. *Streptococcus mutans* kolonilerinin elektron mikroskopi görüntüleri

4.2.3. *Streptococcus mutans*'ın metabolik aktivitesi:

Sakkarozdan ekstrasellüler polisakkarit oluşturma yeteneği *Streptococcus mutans*'ın çürük yapıcı belirgin özelliklerindendir. *Streptococcus mutans*'ın gluklan üretmeyen tipleri diş düzgün yüzeylerinde çürük oluşturamaz. Sorbitol ve mannitol fermente eder. oğalmaları için belli vitaminler dışında özel şartlara gerek yoktur. Nitrojen kaynağı olarak amonyak kullanırlar. Diğer oral streptokoklar için inhibitör olan sulfonamidler *Streptococcus mutans* için inhibitör etki göstermez. Bu özelliğinden dolayı *Streptococcus mutans* izolasyonu için seçici besiyeri hazırlanmasında faydalanılır (100,109).

Streptococcus mutans, sakkarozdan suda çözünmeyen polisakkaritler sentezleyerek diş yüzeylerine kolonize olabilir. Diğer streptokoklardan daha asidürik olup organik asitler üretir. Karyojenik ve karyojenik olmayan streptokoklar glikoz içermeyen sıvı ortamda çoğalıp fermentasyon yapabilirler. Glikoz fermentasyonu sonucu asit üretimi karyojeniteyi belirlemeye yönelik spesifik özelliklerden değildir. Katı ortamda *Streptococcus mutans*'ın asit yoğunlaştırması diğer streptokoklardan daha fazladır. Asidofiliktirler ve asit ortama diğer bakterilerden daha yüksek tolerans gösterirler (100,109). Bu asit tolerans özelliğinin, membrana bağlı proton-translocating ATP-ase enzimi ile ilgili olduğu bildirilmiştir (16).

Karyojenik *Streptococcus mutans* türleri, lizojenik bakteriyofaj yapar. Karyojenik olmayan *Streptococcus mutans*'ın mutant tipleri cama yapışma özelliği göstermez ve suda çözünmeyen polisakkarit oluşturma yetenekleri azalmıştır. Bu mutant türler, lizojenik fajlarla enfekte olurlarsa yapışma yeteneği kazanarak suda çözünmeyen polisakkarit oluşturabilirler (109).

4.2.4. *Streptococcus mutans*'ın Ekolojisi

Streptococcus mutans'ın oral kavitede ilk olarak yerleşmesi, dişlerin sürmesi ile retansiyon bölgelerinin oluşmasına bağlıdır. *Streptococcus mutans* uniform olarak tüm yüzeyde kolonize olmayıp belli bölgelerde toplanır. Kolonize olma sıklığı sırayla posterior aproksimal bölgeler, fissürler, anterior aproksimal bölgeler ve diğer düz yüzeylerdir (100,109).

Aktif çürüklü bireylerin mikrobiyal dental plak örneklerinden çok sayıda izole edilmektedir (94,100,109).

4.2.5. *Streptococcus mutans*'ın Epidemiyolojisi:

Epidemiyolojik çalışmalar neticesinde çocuklar ve genç erişkinlerde mine çürüğünde; yaşlılarda kök çürüklerinde; bebeklerde biberon çürüklerinde birinci sıradaki etkenin *Streptococcus mutans* olduğu tespit edilmiştir. Dünya genelindeki tüm insanlarda

Streptococcus mutans mevcuttur (94). Çok düşük, düşük ve yüksek çürük prevelansı gözlenen bireylerin hemen hemen tümünde *Streptococcus mutans* görülmüştür (33). Erişkinlerde dişler çekildikten sonra yok oldukları ancak protez kullanımı ile birlikte yeniden ortaya çıktıkları bildirilmiştir (32). Mutans streptokoklar 19-31. aylarda enfeksiyon penceresi olarak tanımlanan bir dönemde, bebeklerin süt dişlerinin sürmesi ile birlikte kolonize olmaya başlarlar. Dört yaşındaki çocukların %33-75'inde, genç erişkinlerin %80-90'ında ve tüm yetişkinlerde bu mikroorganizma bulunmaktadır (34). c,e,f serotipleri (*S.mutans*) ve d, g (*S.Sobrinus*) serotipleri insanda yüksek oranda gözlenir. *Streptococcus mutans* kolonizasyonu retansiyon yerlerinin artması ile birlikte artış gösterir (90,93,94,100). Hipoplazik mine lezyonlarında retansiyon yerinin fazla olması nedeniyle kolonizasyonunda artış görülebilir (89,109). Serotip c, insanda tükürük ve mikrobiyal dental plakta bulunur. *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans* kadar sık bulunmaz ve genellikle *Streptococcus mutans* ile beraber görülür (32,80,91).

4.3.Laktobasiller

Gram (+) fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen çubuk şeklinde bakterilerdir. Genellikle ağız boşluğundan izole edilirler ve oral mikrofloranın %1 inden az kısmını oluştururlar. Glikozdan laktik asit ve asetik asit üreten çeşitleri mevcuttur. Ağız boşluğunda ve diş çürüğünde en çok rastlanan türler *L. casei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. cellobiosus*, *L. buchneri* ve *L. brevis* olarak tespit edilmiştir.(100)

Diş yüzeyine afiniteleri yoktur ve mikrobiyal dental plakta az miktarda bulunurlar (12,31,42,100,109). Asidofilik ve asidojeniktirler (144,146). Görülme sıklığı çürük lezyon sayısına ve retansiyon yerine bağlı olarak artış gösterir. Derin dentin çürüklerinde % 85 oranında yer aldıkları belirtilmektedir (25).

İnsanda laktobasiller, tükürükten, diş yüzeyinden, dilin dorsumundan, vestibüler mukozadan ve sert damaktan izole edilirler (109).

Tükürükteki laktobasil sayısı karyojenik potansiyelin değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir (7,100,109).

Lactobacillus asidophilus tükürükte en fazla izole edilen mikroorganizmadır. Diş yüzeyine afiniteleri düşük olduğu bilinen laktobasillerin *Lactobacillus casei* türü mikrobiyal dental plak ve çürük dentinden izole edilebilmiştir. Araştırmacılar laktobasillerin çürüğün başlamasından çok çürüğün ilerlemesinden sorumlu olduğunu bildirmektedirler (61,102,117,145).

4.4.Aktinomiçesler

Aktinomiçeslere; ağız florası, mikrobiyal dental plak, aproksimal yüzeyler, dişeti oluğu ve çürük lezyonunda rastlanabilir. Gram (+), hareketsiz, filamentöz bakterilerdir. Aktinomiçesler plak oluşumuna katkıda bulunurlar (100,109,154).

Glikozu metabolize ederek asetik, laktik, formik, süksinik asit oluştururlar. Kök yüzeyi çürükleri ve gingivitis ile ilişkili oldukları ifade edilmektedir (100,109).

A.viscosus ve *A. Naeslunduui* nin kök çürüğü, fissür çürüğü, ve periodontal yıkımla ilgili olduğu bildirilmiştir. *A. viscosus*, temiz bir diş yüzeyine kolonize olan ilk bakteriler arasındadır. *A.naeslundii*’ nin bazı türleri sakkorozdan ekstrasellüler fruktan üretebilir. Üreaz üreterek plak pH’ını etkileyen türleri de mevcuttur (100).

4.5. Yeni Doğanda Ağız Florası

Steril olan fetusun doğumdan sonra ağız boşluğu hızla annesinin florası ile kolonize olmaktadır (19,82). Yeni doğanın ağız florasının ilk konukları doğumdan kısa süre sonra kolonize olan *Streptococcus salivarius* ve dişlerin sürmesi öncesi ağızdaki streptokokların büyük bir kısmını oluşturan *Streptococcus mitis*’dir (128). Bununla beraber *Veilonella alcalescens*, laktobasiller ve candida albicans’da doğumdan hemen sonra yerini alan diğer mikroorganizmalardır. Actinomyces ve diğer anaeroblar ise aylar sonra görülebilir (130).

Birinci yaşın ortalarına doğru dişlerin ağız boşluğunda sürmeleri ile ortamdaki mikroorganizmaların tür ve dağılımında değişiklikler meydana gelir (30,77). Süren dişler *Streptococcus sanguis* ve mutans streptokoklar için tutunacak alanlar sağlarlar. Sert yzeeye ihtiyaı olan bu streptokoklardan *Streptococcus sanguis* birinci yaşın sonlarına doğru görülebilmektedir (31,128) Mutans streptokoklarının kolonizasyonu genellikle birinci yaştan sonra olur (130).

4.6. *Streptococcus mutans*'ın geçişi:

Diş rğnn engellenmesinde ki koruyucu yaklaşımlardan bir tanesi de diş çürüğünün başlıca bir etkeni olan *Streptococcus mutans*'ın çocuklara doğal yollardan iletiminin araştırılmasıdır (37).

Mutans streptokoklar ağız ortamı dışında çok sınırlı yüzeylerde canlılıklarını koruyabildikleri için streptokok enfeksiyonun gerçekleşmesinde en önemli etkenin tükürük transferi olduğu bildirilmektedir (82).

Annedeki *Streptococcus mutans*'ın bebeğe aktarım yaşı ve miktarı çocuktaki *Streptococcus mutans* kolonizasyonu açısından çok önemlidir. Ağızdaki mikrofloranın tür ve dağılımındaki önemli değişiklikler, süt dişlerinin sürmesi ile başlar. Mutans streptokoklar ve *Streptococcus sanguis* sert yüzeylerde kolonize olabildikleri için dişler sürdükten sonra sayılarında artış gözlenmektedir. Bazı araştırmacılar mutans streptokokların en yoğun miktarda aktarıldığı dönemin annelerin çocuklarıyla yakın ve sıkı bir temastan hoşlandıkları ilk yaşlar olduğunu belirtirler (37,87).

Yapılan birçok çalışmada mutans streptokokların aile içerisinde taşındığı vurgulanmakta ve çocuklardaki mutans streptokokları enfeksiyonunun temel kaynağının anne olduğu genotipik, DNA parmak izi ve plazmid DNA profilleri çalışmaları ile ve fenotipik bakteriyosin tiplemesi ve serotipleme çalışmaları ile ortaya konmuştur. Bununla birlikte ebeveynler ve çocukları arasındaki kolonizasyon düzeylerinde de çok yakın paralellikler gözlenmiştir. Anne baba dışında çocukların bir arada olduğu kreşlerinde mutans streptokoklar dahil bir çok enfeksiyonun yayılması için uygun ortamlar olduğunu belirten çalışmalar da vardır (136).

4.7. *Streptococcus mutans*'ın karyojenitesinde etkili faktörler:

Streptococcus mutans diş çürüğü oluşumuna neden olan ve mikrobiyal dental plakta baskın olmasını sağlayan bir takım faktörlere sahiptir. Bunlar intraselüler ve ekstraselüler polisakkarit sentezi, asit üretimi, asidik ortamlarda canlılığını devam ettirme yeteneği ve endodekstranaz üretimi olarak sayılabilir (12,55,100).

4.7.1. Ekstraselüler Polisakkarit Sentezi:

Polisakkaritler, suda çözünebilir ve çözünemeyen polisakkaritler olmak üzere ikiye ayrılır. Suda çözünen polisakkaritler hareketlidir (labildir) ve bakterilerce metabolize edilebilirler. Suda çözünmeyenler mikrobiyal dental plağın oluşumuna katılırlar ve bakterilerin plağa tutunmasını sağlarlar. *Streptococcus mutans* sahip olduğu glikozil transferaz enzimi oluşumunda görevli *gtf* genleri ile sakkaroz varlığında suda çözünebilir (α 1-6 bağlı) ve suda çözünmeyen (α 1-3 bağlı) glukoz (dekstran) moleküllerini sentezler (100). Glukozlar, mikrobiyal dental plak matriksinin önemli bir kısmını oluşturarak *Streptococcus mutans*'ın tutunmasını ve bakteri metabolizmasının asidik yan ürünlerinin ortamda birikmesini sağlar (129).

Streptococcus mutans, *ftf* geni tarafından üretilen fruktoziltransferaz enzimi ile sakkarozun yapısındaki fruktozdan inulin tipinde bir fruktan polimeri oluşturur. B, 2-1 bağlı fruktoz ünitelerinden oluşan fruktanlar adezyona katılmaz ve dental plakta uzun süre kalmazlar. Daha çok ekstraselüler karbonhidrat kaynağı olarak bulunurlar. Ağız boşluğundaki bakterilerin çoğu tarafından üretilen fruktanhidrolaz enzimleri aracılığı ile fruktoza parçalanırlar (100,109).

Bu polisakkaritler sakkarozun glikozid bağları ile bağlanması sonucunda oluşur.

n-sakkaroz glukoziltransferaz (glukoz)n+n-fruktoz

n-sakkaroz fruktoziltransferaz (fruktan)n+N-glikoz

4.7.2. Diş yüzeylerine tutunması:

Streptococcus mutans'ın diş yüzeylerine tutunması iki aşamada meydana gelir. Başlangıç tutunması reversible (dönüşebilir) bir olaydır ve yüzey komponentleri tarafından gerçekleştirilir. Bu aşamada bakteri, hücre proteinleri ve tükürük glikoproteinleri ile pelikül arasında bir etkileşim meydana gelir. *Streptococcus mutans*'ın yüzeyinde bulunan fibrillerdeki fonksiyonel kısımlar peliküldaki komponentlere tutunur. Daha sonra da glukanlar ve hücre yüzeyinde bulunan reseptörler (adhesinler) tarafından yönlendirilen hücre akümülayonu gerçekleşir (50,100,118).

4.7.3.Şeker transportu ve intrasellüler polisakkarit sentezi:

Streptococcus mutans sahip olduğu yüksek afiniteli şeker transport sistemleri aracılığı ile hücre içine şeker transportunu gerçekleştirir (12,100). Mutans streptokoklar fosfoenolpiruvat (PEP) bağlantılı fosfotransferaz (PTS) [PEP-PTS] sistemine sahiptirler. PTS, asidojenik oral bakterilerde bulunur. Hücre sitoplazmasında Hpr ve Enzim I (EI) adlı şekere özgü olmayan ve Enzim H (EH) adlı şekere özgü proteinlere sahiptir. PTS aktivitesi, ortamdaki glikozun sınırlı, pH'ın nötr ve bakteriyel büyümenin düşük hızda olduğu durumlarda optimaldir (100,109).

Streptococcus mutans'da bulunan diğer bir şeker transport sistemi de çoklu şeker metabolizmasıdır. (multiple sugar metabolism, msm sistemi) Melibiyoz, rafinoz ve izomaltosakkaritlerin hücre içine iletimini sağlar (28,100).

Ortamda fazla glikoz ve sakkaroz gibi şekerlerin varlığında *Streptococcus mutans* intrasellüler polisakkarit (IPS) sentezleyerek depo eder. IPS glikojene (α 1,4 bağlı glukan) benzeyen bir polimerdir. Glikoz bulunmadığı durumlarda depo edilmiş intrasellüler polisakkaritler metabolize ederek fermentasyon ve asit üretiminin devamlılığı sağlanır (12,24,100,109).

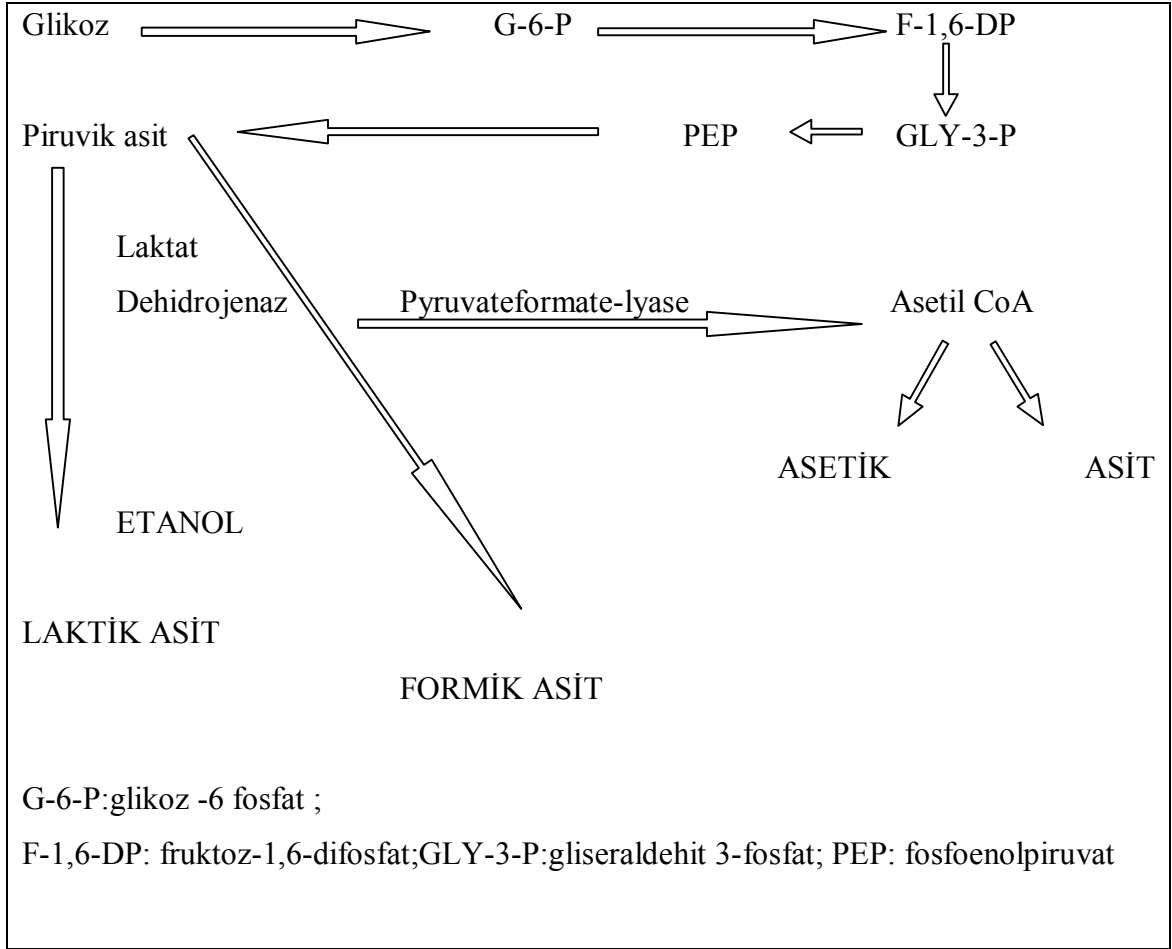
4.7.4. Asit toleransı:

Mutans streptokoklar glikozu fermente ederek organik asitleri oluştururlar. Enzim sistemleri ile gerçekleşen bu reaksiyonlar, mikrobiyal dental plağın asidik karakter kazanmasına neden olur. *Streptococcus mutans* asidik koşullara adapte olmasını sağlayan bir özelliğe sahiptir (17,43,58). Ürettiği membrana bağlı ATPase enzimi ile H⁺ iyonlarını hücre dışına pompalar ve hücre içi asit konsantrasyonunu azaltır (16).

pH 4.0 den düşük değerlerde bile metabolizmasını sürdürebilir. Asit toleransı ATPase enzim aktivitesinin yükselmesine bağlıdır. Böylece *Streptococcus mutans* düşük pH değerlerinde bile glikolizi sürdürür ve yaşamaya devam eder (43,100,109).

4.7.5. Asit üretimi:

Streptococcus mutans birçok şekeri fermente ederek organik asit üretir (Şekil 2). Glikoz bakteri hücresinin içine alınıp glikoliz yoluyla piruvik asite çevrilir. Mutans Streptokoklar, ortamda şekerin fazla bulunduğu durumlarda piruvik asiti laktatdehidrojenaz (LDH) ile laktik asite çevirirler. Laktik asit diş çürüğü oluşumunda en kuvvetli ve en etkili asittir. Glikozun sınırlı miktarda bulunduğu durumlarda piruformat lyase (PFL) enzimi aracılığı ile formik asit, asetik asit ve etanol üretirler PFL'nin düzenlenmesi, gliseraldehit 3-fosfat (GLY-3-P) kontrolü ile sağlanır. GLY-3-P, PFL enzimi için negatif etkilidir (100) (Şekil 2).



Şekil 2. *Streptococcus mutans*’ın karbonhidrat metabolizmasının son ürünleri (100).

4.7.6.Endodekstranaz Üretimi

Streptococcus mutans, ekstraselüler dekstranlar içindeki α 1-6 bağlarını parçalayan endodekstranaz enzimi üretir. *Streptococcus mutans* ürettiği endodekstranazlar aracılığı ile glukoz içeren başlangıç mikrobiyal dental plak içine invaze olabilir (12).

4.8. *Streptococcus mutans*’ın Hücre Duvarı Özellikleri

Streptococcus mutans levan ve glukozdan oluşan bir kapsül ve kompleks yapıda bir hücre duvarına sahiptir. Peptidoglikanlar, lipotekoik asit, polisakkaritler, proteinler ve lipoproteinler bu kompleks yapı içinde yer alır. Bu bileşenlerin herhangi birinde oluşabilecek bir değişiklik hücre yüzeyinin özelliklerini değiştirebilir (100,109,120).

Hücre duvarının kalitatif ve kantitatif kompozisyonu genotipik değişikliklerin oluşmasına sebep olur. *Streptococcus mutans* karbonhidrat antijenlerine göre 8 serotipe ayrılır. Grup a antijeni D-glikoz sekansına bağlı bir polisakkarittir. Grup b antijeni polisakkarit ve glikoproteinden oluşur. Grup c antijeni ramnoz ve glikozdan; grup d antijeni D-galaktozdan; grup e antijeni D-glikoz-L-ramnoz-L-ramnoz oligosakkarit sekansından oluşan antijenlere sahiptir. Grup f antijeni ise eşit oranda ramnoz ve glikoz içerir (109).

4.8.1. Yüzey Proteinleri

Streptococcus mutans hücreleri, Pl (veya I/II, B, IF, SR, PAc) adı verilen ve pelikulla kaplı yüzeylere tutunmayı sağlayan proteinler içerir (40). *Streptococcus sobrinus*'da benzer fonksiyon gösteren *spaA* adlı bir proteine sahiptir (84).

4.8.2. Bakteriyosin Üretimi

Bakteriyosinler, bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen ve diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyen proteinlerdir. Mutans streptokoklar tarafından üretilen bakteriosine mutasin adı verilir. Mutasin üreten mutans streptokokların kötü ağız hijyeni ve beslenme alışkanlıklarına sahip bireylerde daha uzun süreli kolonize oldukları ifade edilmektedir (63).

4.9. *Streptococcus mutans* İzolasyonunda Kullanılan Kültür Yöntemleri

Streptococcus mutans izolasyonunda genellikle mitis salivarius basitrasin (MSB) agar kullanılır. Sakkaroz, basitrasin ve potasyum tellürit içerir (53). TYCSB agar; TYC agar (trypticase, yeast extract ve cystine), sakkaroz ve basitrasin içerir (148). GSTB agar; GS agar (trypticase ve yeast extract), glukoz, sakkaroz, basitrasin ve potasyum tellürit içerir (135). TSY20B agar, trypticase soy agar, yeast extract, sakkaroz ve basitrasin içerir (125).

4.10.Streptococcus mutans İdentifikasyonunda Kullanılan Yöntemler

4.10.1. Streptococcus mutans'ın Tiplenmesi

Streptococcus mutans izolatlarının tiplenmesi, epidemiyolojik çalışmalarda, bakterilerin geçiş yollarının saptanmasında, hastalıkların spesifik bakteri türleriyle olan ilişkilerinin belirlenmesinde, enfeksiyonun heterojenitesinin incelenmesinde yararlanılan bir yöntemdir (1,47).

S. mutans'ın tiplenmesinde kullanılan yöntemler, tiplenebilirlik (her izolat için bir sonuç alınması), tekrarlanabilirlik (her tekrarda aynı sonuca ulaşabilme), ayırt edilebilirlik (ilgili olmayan türleri ayırt edebilme) kriterlerine uymalıdır (9).

Mikroorganizmaların epidemiyolojik tiplemesi , fenotipleme ve genotipleme olarak iki şekilde yapılır (11,47,67)

4.10.1.1. Fenotipleme Yöntemleri:

Bakteriyosin üretiminin ve bakteriyosinlere duyarlılığın ölçülmesi, serotipleme, biyokimyasal testler, antibiyotik rezistansı ve bakteriyofaj tipinin belirlenmesi gibi yöntemlerdir (11).

Bakteriyosin tipleme:

Oral streptokoklar için geliştirilen ilk epidemiyolojik tipleme yöntemidir (70). Bakteriosinler, diğer bakterilerin çoğalmasını inhibe eden protein içerikli substanslardır. Tipleme bakteriyosinlere karşı duyarlılığın ve inhibitör etkilerin belirlenmesi ile yapılır (47).

Serotipleme :

İmmünodifüzyon, immünofloresans ve immunelektroforez yöntemleri kullanılarak hücre duvarındaki karbonhidrat antijenler belirlenir (27,113).

Biyotipleme:

Mutans streptokokların fermentasyon özelliklerine, arginin hidrolizine ve bakteriyosin duyarlılığına göre yapılır. Hücresel yağ asidi analizi, hücre protein analizi ve multilocus enzim elektroforezi (MEE) kullanılır (51).

4.10.1.2. Genotipleme Yöntemleri

Moleküler tipleme yöntemleri mikroorganizmaların DNA'ları ile ilgili, ayırt ediciliği ve tekrarlanabilirliği yüksek yöntemlerdir (10,111). Plasmid analizi, restriksiyon nükleaz analizi (REA), restriction fragment length polymorphism (RFLP), pulsed field gel electrophoresis (PFGE) ve arbitrarily-primed polymerase chain reaction (AP-PCR) bu yöntemler arasındadır (47).

Plazmid Analizi:

Plazmidler, DNA'nın ekstrakromozomal halkalarıdır. Antimikrobiyal rezistans, virulans özellikleri ve hidrokarbon metabolizması gibi birçok özelliklere sahiptir (96). Plazmid analizi epidemiyolojik çalışmalarda uygulanan ilk DNA bazlı tekniktir (36). *Streptococcus mutans* türlerinin sadece %5'inde plazmid bulunduğundan *Streptococcus mutans* tiplemesinde sık kullanılmamaktadır (56).

Restriksiyon Endonükleaz Analizi (Restriction Endonuclease Analysis - REA)

:Bakteri kromozomu DNA'sı restriksiyon endonükleaz enzimleri ile belli DNA dizilerinden kesilir ve sonra jel elektroforezi ile ayrılır. Restriksiyon endonükleaz enzimleri bakterilerden elde edilir veya sentetik olarak üretilirler. Jeller etidyum bromür ile boyandıktan sonra ultraviyole ışık altında bant yapıları marker'lar (DNA cetveli) ile karşılaştırılarak incelenirler. Bu işlem ile birçok bant içeren bakteriye özel parmak izleri elde edilir (137). REA. mutans streptokokların genetik ilişkilerini belirlemede kullanılmıştır (6,35,79,121).

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP):

Mikroorganizmaların DNA'sı enzimlerle kesilip elektroforezle ayrıldıktan sonra ayrılan kısımlar Southern Blot tekniğindeki DNA veya RNA problemleri ile işaretlenir (75,132). DNA ekstraksiyonu ve jel elektroforez sonrasında fragmanlar RNA problemleri ile hibridize edilir. Elde edilen bantlar karşılaştırılarak ribotipleme yapılır (6,121).

"PulsedField" Jel Elektroforezi (PFGE):

DNA molekülleri belirli zaman aralıklarında birbirlerine farklı açıda iki elektriksel alan etkisinde bırakılır. DNA molekülleri bir elektriksel akıma uygun hareket ederken kısa bir süre sonra diğer akıma uygun yönde ilerler. Bu yöntemle 5 megabaz boyutundaki DNA parçaları bile ayrılabilir (137). Yüksek tekrarlanabilirliği ve ayırt edici özelliğinden dolayı "altın standart" olarak kabul edilir (10,111).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu:

Son yıllarda *Streptococcus mutans*'ın çürük ve dental plak oluşumu ile olan ilişkisinin belirlenmesinde moleküler genetik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (67,120,121).

Polimeraz zincir reaksiyonu, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir. Bu yöntem ile çok az miktarda DNA kısa sürede çoğaltılabilir. Çift iplikli bir DNA molekülünün denatürasyonu hedef dizilerine iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanır. Spesifik kısa zincirli oligonükleotid primerler, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelere hidrojen bağları ile bağlanırlar. Primerlerin spesifik olduğu hedef dizilere, bağlanması ve uzaması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. Böylece hedef bölgelerin çoğaltılması (amplifikasyon) sağlanır. Bu hedef genetik materyal, çok az sayıda bile olsa çoğaltılarak identifiye edilebilir (137,151).

Hücrelerde DNA doğal olarak replikasyon ile çoğalır. DNA çift sarmalında birbirinden ayrılan ipliklerin tamamlayıcıları sentezlenerek bir DNA modülünden onunla aynı olan iki yavru molekül meydana gelir. Buna göre hücre bölünmesiyle yeni oluşan hücrelere tüm genler aynen geçerler. Her yeni hücre jenerasyonunda genlerin kopya sayılarının iki katına çıkması nedeniyle jenerasyonlar boyunca DNA miktarı başlangıca göre üssel olarak artar. Örneğin 30 jenerasyon sonra hücre ve gen sayısında milyarlarca kez artış olur. In vitro koşullarda istenilen bir genin ya da özgün bir DNA dizisinin çok sayıda kopyasının elde edilmesi için rekombinant DNA yöntemleri ile DNA klonlanmasına ek olarak 1980’li yıllardan itibaren Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) da kullanılmaya başlanmıştır (106,137).

PCR ile istenilen genlerin ya da DNA dizilerinin jenerasyonlara bağlı replikasyonu, hızlandırılmış bir şekilde gerçekleştirilir. Aynen doğal hücre bölünmesinde olduğu gibi PCR replikasyon sürecini takip ederek yaklaşık 30 jenerasyon sonra seçilmiş bir DNA dizisinin aşağı yukarı milyar katını kopyalar (138).

Polimeraz zincir reaksiyonu, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir. Dr. Kary B. Mullis 1980’li yıllarda yaptığı PCR çalışmaları ile 1993 yılında Kimya alanında Nobel ödülü almıştır. Geliştirilmesinin ardından temel moleküler biyolojik araştırmalarda (klonlama, dizi analizi, kistik fibrozis, fragile x sendromu, AIDS, lösemi vb.) DNA temeline dayalı tanısı için de klinik tıpta hızla kullanılmaya başlamıştır. PCR ile insan genomik DNA sı gibi kompleks DNA kalıplarından spesifik DNA parçalarının sentezinin birkaç saat içinde gerçekleştirilebilir hale gelmesi bu teknolojinin yaygınlaşmasında başlıca neden olmuştur (65,106,138).

Ayrıca günümüzde polimeraz zincir reaksiyonunu allellik dizi varyasyonlarının gösterilebilmesi ile doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesi, adli tıp örneklerinin genetik tiplendirilmesi (analık babalık tayini) gibi tıbbın diğer kollarında, tarımda (tohum saflığının belirlenmesi), sistematik ve evolüsyon çalışmaları gibi bir çok alanda (doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı, türler arasındaki polimorfizmin belirlenmesi) kullanmak olası hale gelmiştir (47,106,137).

4.11. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PCR) temel bileşenleri

Polimeraz zincir reaksiyonunun gerçekleşmesi için belli temel bileşenler ve işlem basamaklarına gerek duyulmaktadır (138).

4.11.1. Çoğaltılacak olan kalıp DNA

PCR için her türlü kaynaktan temin edilen genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler veya herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir. Bu kalıp DNA molekülleri amaca göre komplementer DNA (cDNA), genomik DNA, genomik kitaplıklar halinde, araştırma laboratuvarları ve kliniklerden elde edilebilir (138).

4.11.2. Yüksek ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimleri

DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğın karşısına tamamlayıcı bir DNA ipliğı meydana getirmek üzere, orijinal kalıp iplikteki baz bilgisini kullanarak, dört çeşit deoksiribonükleotid trifosfattan, uzun polinükleotid zincirin sentezini katalize ederler. Bu enzimler, sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan kısa DNA parçalarına (primerlere) gerek duyarlar. Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup, primerin serbest 3'-hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapmaları ile, fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerizasyonu sağlanır (120,137).

Termostabil enzimlerden ilki ve en yaygın olarak kullanılanı *Thermus aquaticus*' tan elde edilen Taq DNA polimeraz' dır. Taq DNA Polimeraz'ın 95°C'deki yarı ömrü yaklaşık 40 dakika kadardır. Guanin+Sitozin (G+C) bazları yönünden zengin olan hedef DNA'ların amplifikasyonunda daha etkili olduğı belirtilmiştir. Bu fragman aynı zamanda geniş bir Mg⁺² iyon konsantrasyonunda (2-10mM) aktivite gösterebilmektedir. Böylelikle aynı reaksiyon tüpünde, iki veya daha fazla farklı hedef DNA sekansları aynı reaksiyon ortamında amplifiye edilebilir (66,137).

4.11.3. Sentezde Kullanılan Primerler ve Özellikleri

Sentetik olarak kolayca hazırlanabilen tek iplikçikli spesifik DNA segmentlerine primer adı verilir. Kullanılma amaçlarına göre, 10–40 oligonükleotid'den oluşabilirler. Primer dizileri hedef DNA üzerinde tamamlayıcı olan baz sıralarını bularak onlara bağlanır ve 3'-OH ucundan DNA sentezinin ilerlemesine basamak teşkil ederler. Primerlerin yapısında, %50-60 kadar Guanin+Sitozin (G+C) bazları bulunmaktadır. Bu da hedef DNA ile daha kuvvetli H⁺ bağları (Adenin=Timin, Guanin=Sitozin) kurulmasına yardımcı olur. Primerlerin 3'-OH ucundaki bazlar, hedef DNA'nın kopyalanmasını başlatır. Bu nedenle primerlerin 5' ucu hedef DNA'nın 3'-OH ucu ile birleşerek polimerizasyonun 5'-3' yönünde olmasını sağlar (15,137,151).

4.11.4. Sentezde kullanılan deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP)

Deoksinükleotid trifosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) yüksek saflıkta tek tek veya dördü karışımlar halinde ticari olarak elde edilebilir. Her deoksinükleotid trifosfat konsantrasyonunun eşit (20-200 mM arasında) olması ürünün özgünlüğü ve doğru sonuç elde edilebilmesi açısından önemlidir. Stok dNTP solüsyonlarının pH'ı 7.0 olmalı ve konsantrasyonları spektrofotometrik olarak kontrol edilmelidir (120,137).

Optimal dNTP konsantrasyonu; MgCl₂ konsantrasyonuna, reaksiyon koşullarına, Primer konsantrasyonuna, çoğaltılmış ürünün boyuna, PCR döngü sayısına bağlıdır. Düşük dNTP konsantrasyonları hedef olmayan bölgelerde yanlış primer eşleşmesini azaltır (137).

4.11.5. DNA Polimerazın çalışması için gerekli tamponlar ve MgCl₂

PCR'da kullanılan çeşitli tamponlar arasında genelde önerilen PCR tamponu 20°C'de saklanan 10-50 mM Tris-HCl'dir. Tris bir dipolar iyonik tampondur ve ısısal döngü işlemi boyunca pH'ı 6.8 ile 7.8 arasındadır (120,137).

Magnezyum iyon konsantrasyonu; primer eşleşmesini, ürün özelliğini, primer-dimer oluşumunu etkileyebilir. Mg⁺² iyonları, deoksiribonükleotid trifosfatlar ile çözünebilir kompleksler oluşturur, polimeraz aktivitesini stimüle eder, çift iplikli DNA' nın denatürasyon derecesini (*T_m*) artırır. Toplam dNTP konsantrasyonuna göre PCR karışımı 0.5-2.5 mM magnezyum içerebilir. Bu konsantrasyon PCR standardizasyonu ile belirlenebilir. Düşük MgCl₂ konsantrasyonu ürün oluşumunda azalmaya, yüksek MgCl₂ konsantrasyonu ise spesifik olmayan ürün birikimine yol açabilir (137).

4.12. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Oluşum Mekanizması

PCR, istenilen süreler için otomatik olarak farklı ısı dereceleri ayarlayabilen PCR aletleri "Thermal Cycler" yardımıyla gerçekleştirilir. Polimeraz zincir reaksiyonu 0.2 veya 0.5 ml'lik kapaklı steril tüplerde gerçekleştirilir (47,137).

Polimeraz zincir reaksiyonu çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanır. Amplimer olarak da adlandırılan oligonükleotid primerler, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülüleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelerle melezlenirler. Primerlerin spesifik olarak hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Böylece kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur. Bir PCR döngüsü denatürasyon, primerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) olarak adlandırılan üç aşamadan oluşur. Ardarda tekrarlanan denatürasyon, primerlerin bağlanması ve primerlerin uzaması evreleriyle DNA parçaları üssel olarak artar. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngü de diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır.

Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkması ile sonuçlanır. PCR boyunca biriken ürünlerin boyu iki primerin boyu ve hedef DNA bölgeleri arasındaki mesafelerin toplamı kadardır (Şekil 3) (47,65, 110, 138).

Matematiksel olarak amplifikasyon “ $(2^n - 2^n) X$ ” formülü ile ifade edilir.

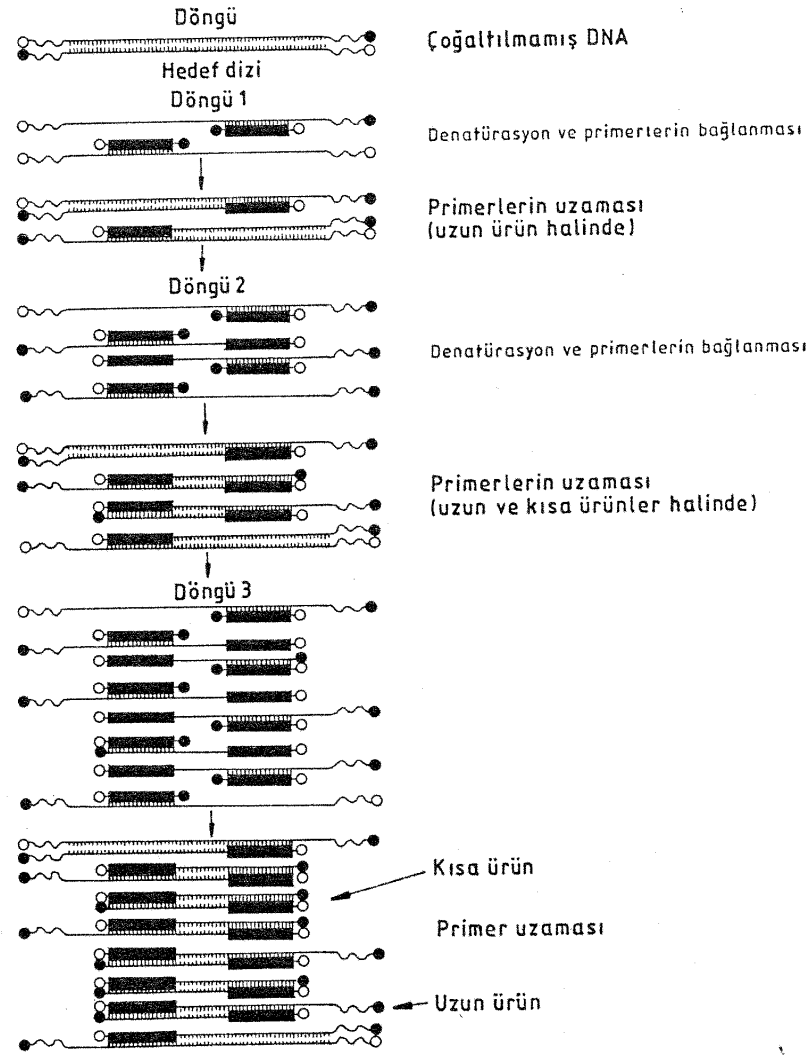
n = Döngü sayısı

2n = Birinci ve ikinci döngü sonucunda oluşan boyları bilinmeyen ürünler.

X = Orijinal kalıbın kopya sayısı

Potansiyel olarak her döngünün % 100 verimle gerçekleştiği varsayılırsa, örneğin 20 döngü sonucu 2^{20} kat ürün meydana gelir.

PCR verimini etkileyen önemli bir faktör, DNA polimeraz enzimidir. Normalde enzim miktarı, 25-30 PCR döngüsü sonucunda hedef dizi artışı ve termal denatürasyon nedeniyle sınırlayıcı bir etken haline gelir. Verimliliği azaltan bir diğer faktör de konsantrasyonu artan hedef dizilerin primer ile bağlanma yarışıdır (138).



Şekil 3. PCR çoğaltım döngüleri (boş daireler 5'-PO₄ucunu, dolu daireler 3'-OH ucunu belirtmektedir).

4.12.1. Hedef DNA 'nın Denatürasyonu

PCR reaksiyonu için gerekli maddeler gerekli konsantrasyonlarda PCR yapılacak tüplere konulduktan sonra Thermal Cycler aletine yerleştirilir. Başlangıç denatürasyonunda kompleks DNA kalıplarının denatüre olmasını sağlamak için ısı otomatik olarak 95°C'ye yükseltilir. Etkin denatürasyon sıcaklığı ve süresi 92-95°C ve 3-5 dakika olarak saptanmıştır (137).

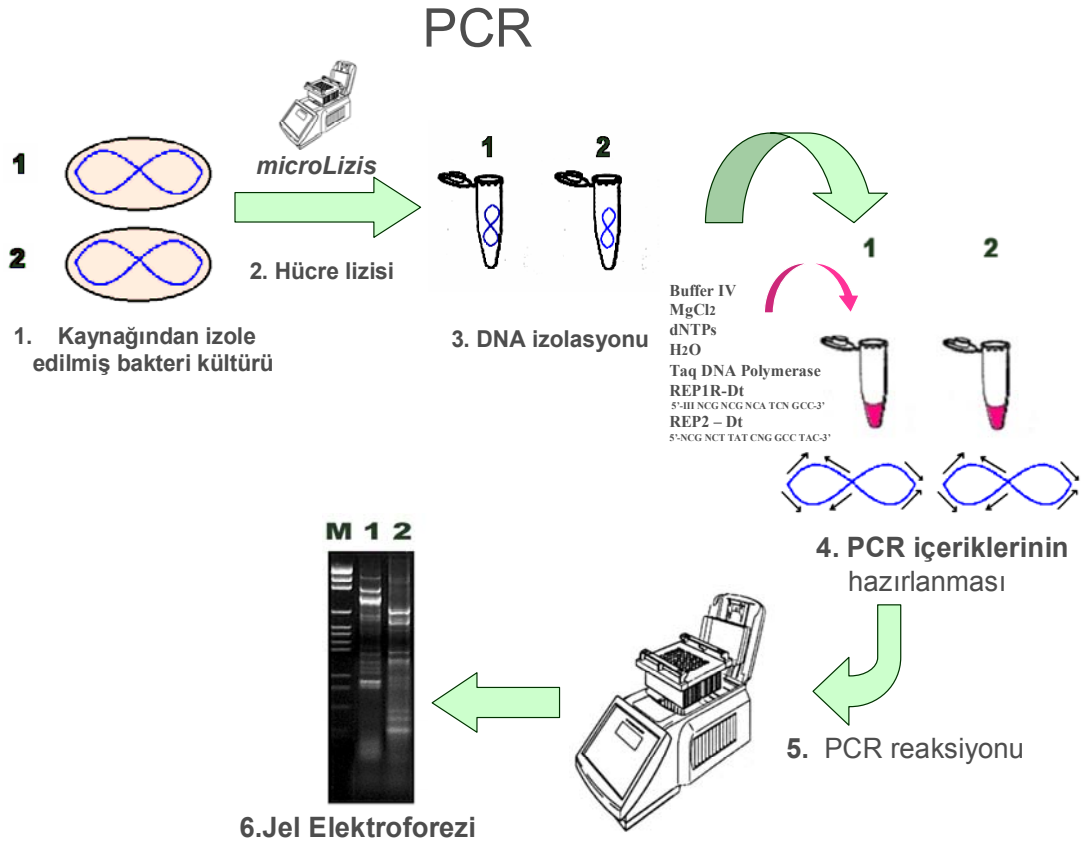
4.12.2. Primerlerin Bağlanması (Annealing):

Denatürasyon için ayarlanmış olan süre sona erdikten sonra, thermal cycler aleti ısıyı 55-65°C'ye azaltır. Bu ısı primerin özelliğine göre değişir. Ortamdaki primerler hedef DNA üzerindeki komplementer dizilere bağlanır. Primerler kalıp DNA'nın sentezi için, başlangıç noktası olarak görev yaparlar. Primer eşleşmesi için gereken ısı ve süre amplifikasyon primerlerinin konsantrasyon ve uzunluklarına bağlıdır (75,137).

4.12.3. Uzama (Extension):

Kalıp DNA'ya primerlerin bağlanması gerçekleştikten sonra aletin ısısı 70-72°C'ye yükselerek tüpler içinde bulunan ve ısıya dayanıklı olan DNA Polimeraz enzimi 5'-3' yönünde olacak şekilde nükleotidleri primerin 3'-OH ucuna yerleştirir ve hedef DNA sekansının bir kopyası elde edilir. Uzama 3'-OH ucuna bağlantı olur olmaz başlar. 72°C'ye yaklaşıldığı anda termal DNA polimerazlar en aktif hallerine geçerler ve baz uzaması 100 baz/saniyeye yaklaşır. Polimerizasyonda yeni bazların 5'-fosfat gruplarındaki bir fosfat ile primerin 3'-OH ucu kalıp DNA'nın komplementeri olacak şekilde ilave olurlar. Bu şekilde hedef DNA kopyaları elde edilmeye devam eder. Uzama aşaması için 2 dakika yeterli olurken tüm moleküllerde reaksiyonun tamamlanmasını için son PCR döngüsü yaklaşık 10-15 dakika sürdürülür (120,137).

Bu üç aşamanın tekrarlanmasıyla DNA fragmanları üssel olarak artar. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün ardışık döngüde diğer primer için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katma çıkması ile sonuçlanır (75,137). Şekil 4'de polimeraz zincir reaksiyonunun aşamaları görülmektedir (137).



Şekil 4. PCR reaksiyonun işleyişi

4.13. Polimeraz Zincir Reaksiyonunu Etkileyen Faktörler

Denatürasyon sıcaklığı, bağlanma sıcaklığı ve süresi, primer uzunluğu ve Mg⁺² konsantrasyonu polimeraz zincir reaksiyonunu etkileyen faktörlerdendir (120,137).

4.13.1. Denatürasyon Sıcaklığı:

DNA dizilerindeki bazlar birbirlerine hidrojen bağlarıyla bağlıdırlar. DNA denatürasyon sıcaklığından fazla bir sıcaklıkta ısıtılıp soğutulduğunda diziler birbirinden ayrılabilir. Kalıp DNA'nın yetersiz denatürasyonu sonucunda DNA iplikleri yeniden birleşerek ürün veriminin düşmesine neden olabilir. PCR sırasında etkin denatürasyon sıcaklığının 92-95 °C olduğu belirlenmiştir (137).

4.13.2 Bağlanma Sıcaklığı ve Süresi:

PCR için seçilen bağlanma sıcaklığı primerlerin boyuna ve içerdikleri baz çeşidine bağlıdır. Primerler için $Tm = [(A+T) \times 2 + (G+C) \times 4]$ °C formülü ile hesaplanır. Bağlanma sıcaklığı (Ta), primerlerin hesaplanan sıcaklık derecesinden 5 °C daha az olmalıdır. PCR sırasında bağlanma sıcaklığı çok düşük değerde tutulursa primerlerin özgünlüğü azalır primer kendine komplementer olmayan DNA dizilerine bağlanarak spesifik olmayan amplifikasyonlara yol açabilir. Bağlanma süresi genellikle kısadır. Çoğu primer, çok uzun değilse 30 saniyeden az bir zaman içinde bağlanma işlemini gerçekleştirebilir (137).

4.13.3. Primerlerin Uzunluğu:

Primerler seçilirken veya hazırlanırken bulundurdıkları baz sıralarının sadece hedef DNA üzerinde bulunmasına dikkat edilmelidir. Primer tasarımı yapılırken dört bazın eşit sayıda bulunması önemlidir. En uygun primer boyu primerin Adenin+Timin (A+T) içeriğine ve reaksiyonda kullanılan diğer primerin denatürasyon derecesine göre belirlenir (16,137).

4.13.4. Magnezyum Konsantrasyonu:

Magnezyum; kalıp, primer ve deoksinekleotid trifosfatlar ile bağlanır. Mg^{+2} konsantrasyonu deoksinekleotid trifosfatlardan 0.5-2.5 mM fazla olmalıdır. Uygun Mg^{+2} konsantrasyonu her primer için PCR standardizasyonu aşamasında denenerek belirlenir (15,137).

4.14. Amplifiye Edilmiş PCR Ürünlerinin Saptanması:

Polimeraz zincir reaksiyonunda amplifiye edilmiş ürünlerin saptanmasında farklı yöntemlerden yararlanılmaktadır.

4.14.1 Etidyum Bromür ile Bantların Boyanması:

Reaksiyon tüplerinde amplifiye olan PCR ürünleri yükleme tamponu yardımıyla agaroz jel elektroforezine aktarılır. Bu ortamda, ürünler molekül ağırlıklarına göre ayrılırlar. Jel, etidyum bromür solüsyonu ile boyanarak PCR ürünleri görünür hale getirilir. Oluşan bantlar, marker'larla (DNA cetvelleri) karşılaştırılarak değerlendirme yapılır (55,86).

4.14.2.Southern Blot analizi:

Amplifiye olmuş ürünler, agaroz jel elektroforezine tabi tutularak molekül ağırlıklarına göre ayrılırlar. Agaroz jelden nitroselüloz filtre veya naylon gibi katı bir ortama aktarıldıktan sonra denatüre ve fıkse edilirler. ³²P veya biotin gibi işaretli spesifik problemlerle hibridizasyona tabi tutulurlar. Sonuçlar otoradyografi veya biotin kullanılmışsa renk indeksine göre değerlendirilir (75).

4.14.3.Solüsyon Hibridizasyon Tekniği:

Amplifiye edilmiş DNA ürünleri ve işaretli problemler uygun sodyum klorür (NaCl) yoğunluğuna sahip bir hibridizasyon solüsyonu içinde bir araya getirilirler. Karışım 95°C'de denatüre edilerek DNA iplikçikleri birbirinden ayrılır. Solüsyon ısı 50–60°C'ye kadar indirildiğinde problemler spesifik DNA dizilerine bağlanır. Karışım poliakrilamid jel elektroforezine (PAGE) aktarılır. Jel içindeki DNAxDNA hibrit molekülleri büyük olduğundan ve yavaş hareket ettiklerinden başlangıçta yer alırlar. Küçük moleküller ise karşı uçta lokalize olurlar. Değerlendirme Southern Blot analizinde olduğu gibi yapılır (137).

4.15. Mikrobiyal Dental Plak

4.15.1. Mikrobiyal Dental Plak ve Diş Çürüğü

Ağız boşluğundaki bakterilerin türleri, sayısı ve biyolojik özellikleri, birçok çalışmanın konusu olmuştur (14,104,118,119).

Bir polimer matriks içinde bulunan mikroorganizma topluluğuna mikrobiyal dental plak denir. Ağız içerisindeki bölgelere ve dişlere göre farklılıklar gösteren uniform olmayan bir yapıdadır. Bu polimerik kompozit yapı, bakteriler ve substratlar arasındaki değişik etkileşimler sonucu oluşur. Bakteriyel ürünlerin açığa çıkması ile diş çürüğü ve periodontal hastalıklar gibi patolojik olaylar gelişir (100).

Mikrobiyal Dental Plak ve oral flora birçok bakteri topluluğunun yaşadığı, denge bozulmadığında patolojik özellik göstermeyen bir ekolojik sistemdir. Patolojik özellik kazanmasında üç görüş öne sürülmüştür. **Spesifik plak hipotezine** göre birçok farklı mikroorganizmadan oluşan mikrobiyal dental plak mikroflorası içinden spesifik türler hastalığa neden olur. **Nonspesifik plak hipotezi**, hastalığın tüm mikrobiyal dental plak mikroflorasının birlikte aktivitesi sonucu oluştuğunu kabul etmektedir. **Ekolojik plak hipotezine** göre hastalıkla ilişkili olan bakteriler sağlıklı ağızlarda da bulunabilirler; ancak patolojik düzeyde değildir. Çevresel koşullarda ortaya çıkan değişiklik sonucu mikroflora dengesinin bozulması ile patojen bakteriler aktivite gösterebilirler. Örneğin, uzun süreli şeker alımına bağlı olarak çevresel koşullar ve plak pH'sinin düşmesi çürüğe neden olan türlerin çoğalmasına yol açabilir (100).

4.15.2. Mikrobiyal Dental Plak Oluşumu ve Yapısı

Mikroorganizmalar temiz bir diş yüzeyine tutunamaz. Tükürükteki glikoproteinlerin, fizyolojik olarak diş yüzeyine çökerek oluşturduğu tabakaya pelikül adı verilir. Diş temizlendikten sonraki iki saat içinde koklar pelikülle kaplı mine yüzeyine adsorbe olurlar. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* ve aktinomiçesler bu öncü mikroorganizmalardandır. Bakteri hücresi ve pelikülle kaplı diş arasında uzun dönemli fizikokimyasal etkileşimler başlar. Bu moleküllerin etkileşimi sonucu oluşan elektrostatik yük değişimleri ve van der Waals kuvvetleri, zayıf bir çekim alanı oluşturarak dönüşümlü (reversible) bir adezyon sağlar. Oral streptokokların birçoğunda

görülen antijen I/II multifonksiyonel reseptörler adezyonda önemlidir. Bakterilerdeki bu reseptör noktalar, tükürük glikoproteinlerine, diğer bakteri hücrelerine ve kalsiyuma tutunma özelliği gösterir. Bu safhadan sonra bakteriler pelikula dönüşümsüz (irreversibl) olarak tutunur ve enfekte olan pelikıl mikrobiyal dental plak özelliği kazanır. Mikrobiyal dental plak, mikroorganizmaların tükürük akışı ve dil hareketleri gibi mekanik kuvvetlerle diş yüzeyinden uzaklaşmalarına engel olur (92,100,118).

İlk tutunan bakteriler ile yeni katılan bakteriler arasındaki koagregasyon mikrobiyal dental plak mikroflorasındaki bakteri sayısını ve çeşitliliğini artırır. Aerob ve fakültatif anaerob mikroorganizmalar oksijeni kullanarak karbondioksit oluştururlar. Böylece zorunlu anaerob bakterilerin çoğalması için uygun ortam sağlanır. Zorunlu anaerob bakteriler, streptokok ve *Actinomyces* gibi türlere tutunur. Buna koadezyon adı verilir. Mutans streptokokların, bazı mitis gruplarının ve *A. naeslundii*'nin sakkarozdan ürettiği ekstrasellüler glukanlar ve fruktanlar bakteriler arası tutunmayı ve akümüasyonu kolaylaştırır (50,100,109,118,149).

4.15.3. Mikrobiyal Dental Plakın Mikrobiyolojik Yapısı

Dental plak ve ağız mikroflorasında 300'den fazla bakteri türü tanımlanmıştır (72,118). Dental plak mikroflorası dişin farklı yüzeylerine göre değişmektedir (50). Fissürlerin mikroflorası Gram (+) karakterde ve streptokoklar baskındır. Özellikle *Streptococcus mutans* çürük gözlenmeyen bölgelerde bile bulunabilir. Zorunlu anaerob bakteriler ve Gram (-) türler genellikle düşük sayıda bulunur ve nadir olarak izole edilirler. Dişeti oluğunda daha farklı türde ve çoğunlukla Gram (-), zorunlu anaerob bakterilere rastlanır. Aproksimal bölgelerdeki plakta bu iki grubun karışık olarak bulunduğu bir mikroflora mevcuttur. Supragingival plaktaki mikroorganizmalar aşağıdaki Tablo 4'de gösterilmiştir (100).

Tablo 4. Supragingival plakta bulunan bakteriler (100).

Mikrobiyal dental plakta görülen bakteriler
<i>S. sanguis</i>
<i>S. oralis</i>
Mutans streptokoklar
<i>S. salivarius</i>
<i>A. naeslundii</i>
<i>A. odontolyticus</i>
<i>Haemophilus spp.</i>
<i>Captocytophaga spp.</i>
<i>Fusobacterium spp.</i>
Siyah pigmentli anaeroblar

5.GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Hasta seçimi ve örnek toplama

Araştırma; Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü Sağlam Çocuk Kliniğinde ve Düzen Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Araştırmaya; Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü Sağlam Çocuk Kliniğine rutin kontroller ve aşı takibi için gelen 1- 3.5 yaşları arasında (11-43 ay), 23'ü kız 28 'i de erkek olmak üzere toplam 51 çocuk ve 44 anne katılmıştır. Annelere yapılacak çalışma ile ilgili bilgi verilerek aydınlatılmış onam formları okutulup imzalatıldı. (Ek1.Hasta onam formu)

Araştırmaya katılan anne ve çocuklardan örneklerin toplanma işlemleri sabah 9.00-12.00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Örnekler alınırken bireylerin en az bir saat kadar yemek yememiş olmalarına ve son 15 gün içerisinde antibiyotik kullanmamış olmalarına dikkat edildi (114).

Anne ve çocukların ağız içi muayeneleri yeterli gün ışığında oturur pozisyonda steril ayna ve sond yardımı ile yapıldı. Anamnez alınıp ilgili anket formu dolduruldu. Ankette anne ve çocuğun genel sağlık durumları, ağız ve diş sağlıkları, genel hijyen ve beslenme alışkanlıkları, çocuklara kim tarafından bakıldığı gibi genel bilgiler soruldu (Ek 2 Anamnez Anket formu).

Anamnez formlarındaki ağız ve diş şemalarına çürük(D), dolgulu(F) ve çekilmiş(M) dişler işlendi. Dişlerin değerlendirilmesi WHO (153) kriterlerine uygun olarak gerçekleştirilerek DMF-T, df-t indeksleri hesaplandı (Ek 3 Hasta muayene formu).

5.2. Tükürük de Mutans streptokok tespiti

Tükürükde Mutans streptokok tespitinde Dentocult® SM Strip mutans Kitleri (Orion Diagnostica, Espoo, Finland) kullanıldı. Strip mutans kiti, üretici firmanın belirttiği yöntemler doğrultusunda uygulandı. Dentocult® SM kiti içinde; seçtirici bir buyyon tüpü, plastik strip, basitrasin diski ve parafin içermektedir (Resim 2).



Resim 2. Dentocult SM kiti

5.2.1. Tükürük Mutans streptokok Ölçüm Basamakları:

Ölçüme başlanmadan önce buyyon içine 1 adet basitrasin diski konuldu (Resim 3). Annelere parafin 1 dakika çiğnetilerek tükürük stimule edildi. Anneden dilini dışarı çıkarması istenip plastik strip dilin üzerinde 10 defa çevirildi (Resim 4). Daha sonra dudaklarını hafifçe kapatması istenip strip dudakların arasından üzerinde ki aşırı tükürük sıyrılarak çekildi.

Çocuklarda ise strip dil üzerinde çevrilip, sıyrılarak çekildi. Strip hafifçe çalkalanmış buyyonun içerisine yerleştirilerek, (Resim 5) 37 °C de 48 saat etüvde inkübe edildi (Sanyo MIR 162) (Resim6). 48 saat sonunda mutans streptokok miktarları test skorumla sistemi ile üretici firmanın örnek kartına göre: milimetredeki toplam koloni sayısı (cfu/ml) $0 = <10^4$, $1 = 10^4 - 10^5$, $2 = 10^5 - 10^6$ ve $3 = >10^6$ olarak ve hesaplandı (Resim 7).



Resim 3. Basitrasin diskinin konulması



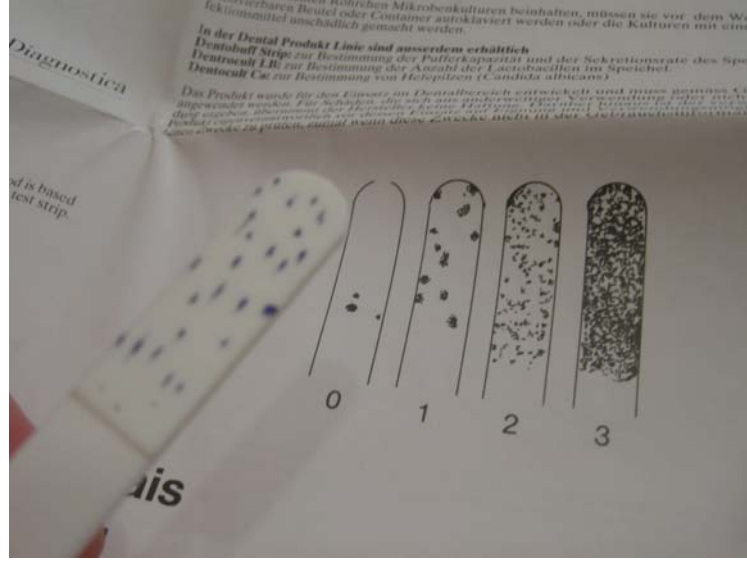
Resim 4. Dil üstünde stripin dolaştırılması



Resim.5.Stripin buyyon içine konulması



Resim 6.İnkube edilmesi



Resim 7. Test Strip'in değerlendirme kartı ile karşılaştırılması

5.3. Mikrobiyal Dental Plak Örneklerinin Alınması

Mikrobiyal Dental Plak örnekleri annelerin üst 1. azı dişlerinin bukkalinden, çocuklarda ise üst süt V numaralı azı dişin yüzeyinden steril bir kürdan yardımı ile alınarak 0.15 M ,1ml serum fizyolojik içeren plastik tüplere konulmuştur.

5.4. Mikrobiyal Dental plak örneklerinde kullanılan besiyerleri

5.4.1. Seçici TYCSB agar (Tryptikaz-mayaözü-tü-sistin-sakaroz-basitrasin)

Seçici TYCSB agar mikrobiyal dental plak örneklerinden *Streptococcus mutans* seçici izolasyonu amacı ile kullanılmıştır.

TYCSB agarın içeriği ve hazırlanma şekli aşağıdaki gibidir.

İçeriği:

Trypton (Oxoid)	15 g.
L-Sistin (Merck)	0.2 g.
Maya özütü (Oxoid)	5 g.
Na ₂ SO ₃	0,1 g.
NaCl	1 g.
Na ₂ HPO ₄	0.8 g.
NaHCO ₃	2 g.
Sakaroz	200 g.
Sodyum asetat	12 g.
Agar (Oxoid)	12 g.
Destile su	1000ml
pH	7.3±0.2

Hazırlanan besiyeri 121°C de 15 dakika otoklavlanıp steril edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra da 50°C'ye kadar soğutulup 0,2 U/ml olacak şekilde filtre ile sterilize edilmiş basitrasın aseptik şartlarda konulup karıştırıldı. Hazırlanan karışım steril petri kaplarına dökülüp donmaya bırakıldı.

5.4.2. Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri (Oxoid)

Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri, *Streptococcus mutans* izolatlarının kültivasyonu için kullanılmıştır (61).

37 g besiyeri tartılıp içeriği 1 lt distile suda tamamen çözülünceye kadar karıştırıldı ve sonra 121°C'de 15 dak. otoklavlanıp steril edildi. 50°C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına döküldü.

5.5.Tampon ve çözeltiler**TE Tamponu (Tris EDTA)**

-Tris baz 10mM pH 7.4

-EDTA 1mM pH 8.

Yukarıdaki solüsyondan 5'er ml alınıp üstüne 490ml steril su eklenip 500ml ye tamamlanır. (11)

TBE tamponu (Tris borate EDTA) (pH8.0)

-Stok solüsyon (5x/lt)

- Tris base 54g

- Borik asit 27.5 g

- 0.5M EDTA (pH8.0) 20ml (11).

Lizozim solüsyonu

2mg lizozim 1ml destile steril suda çözülerek hazırlanır (99).

dNTP karışımı (Fermentas; her bir deoksinükleotidtrifosfattan 100mM)

Primerler (Thermo Biosciences GmbH)

OPA 5 (Operon Technologies, Alemeda) 5'-AG GG GT CT TG'

Taq DNA polimeraz (Fermentas)

Mg Cl₂ Solüsyonu (Fermentas)

Markör DNA (Fermentas)

Gene Ruler TM 100bp DNA Ladder (1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 80)

Jel yükleme tamponu

6x yükleme tamponu (Fermentas)

(%0.09 Bromfenol mavisi, %0.09 Ksilen siyanol FF, %60 Gliserol, 60 mM EDTA)

10 X PCR tamponu + (NH₄)SO₄ (Fermentas)

750mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C)

200mM (NH₄)SO₄

0.1 % Tween 20

Etidyum Bromür Solüsyonu

Etidyum bromür 10 mg

Distile su 1ml

(11)

Kullanılan diğer cihazlar

Mikro santrifüj 13.000 rpm (Sanyo)

Etüv cihazı (Sanyo MIR 162)

Spektrofotometre (Varian)

Yatay elektroforez (Primacell EC 340)

Thermal Cycler (Applied Biosystems, GeneAmp, PCR System 9700) (Resim 8)

Güç kaynağı 1500V (EC Apparatus Corp. EC 600-90) (Resim 9)

UV Transilüminatör (254nm)

Poloraid Kamera (Kodak)



Resim 8. Thermal Cycler, PCR Cihazı (Applied Biosystems, GeneAmp, PCR System 9700)



Resim 9:Güç kaynağı (EC Apparatus Corp.EC 600-90) ve Yatay elektroforez.

5.6. Mikrobiyal Dental Plak örneklerinin labotatuvara getirilmesi ve işlemler

Alınan örnekler 1 saat içerisinde laboratuvara getirilerek ilgili işlemlere alınmıştır. Mikrobiyal Dental Plak numunesi içeren tüpler 1 dakika vorteksle karıştırılıp (10^{-4} ve 10^{-3}) seyreltme işlemleri yapılmış ve daha önceden hazırlanmış TYCSB agar içeren petrilerdeki besiyeri yüzeyine her seyreltmeden 100 μ l alınarak steril baget ile yayılmıştır. Daha sonra petri kapları %5 CO₂ içeren etüvde 37° C de 2 gün süresince inkübe edilmişlerdir.

İnkübasyon sonunda besiyerinde düzensiz, sert buzlu cam görünümünde, agar yüzeyinden alınırken tüm koloninin birlikte geldiği, bazı koloniler üzerinde bir damla sıvı oluşan, gri, beyaz, sarı renkli 0.5-2mm çapında *Streptococcus mutans* kolonileri gözlenmiştir (Resim 10) (26,61).

Bu kolonilerden tipik bir veya iki olası *Streptococcus mutans* kolonisi beyin-kalp sıvı infüzyon besi yerine inoküle edilmiş ve 48 saat 37°C de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında sıvı besi yerinden alınan 500µl kültür, %40 oranında steril gliserin ile karıştırılarak daha sonra kullanılacak işlemler için -20°C de saklanmıştır.



Resim 10. Besiyerinde üreyen Mutans streptokok kolonileri

5.7. Gram Boyama

İzolatların mikroskopik özelliklerinin saptanması için gram boyama yapılmıştır. Bunun için Beyin Kalp İnfüzyon sıvı besiyerinde çoğalan 48 saatlik kültürler kullanılmıştır. Lam üzerine alınan kültürler fikse edildikten sonra 1 er dakika. kristal viole ve. gram iodyür ile, 6sn. etanol, ve 30 sn. safranin ile işlem gördükten sonra kurutularak incelenmiştir. İzolatların boyutları morfolojileri ve gram reaksiyonları değerlendirilmiştir. Gram + olduğu saptanan izolatlarla çalışmaya devam edilmiştir (60).

5.8. İzolatlardan DNA İzole edilmesi

DNA izolasyonu Manz ve ark. uyguladığı ‘Guanidin thiocyanate’ yöntemi ile yapılmıştır (99).

Bu yöntemde ki işlemler aşağıdaki sırayı izlemiştir.

- 1- Beyin kalp infüzyon sıvı besiyerinde çoğalan 48 saatlik kültürlerden 1,5 ml lik bir Ependorf tüpünün içine alınan 1 ml kültür, 4000 rpm de 10 dak santrifüjlenerek süpernatantı atıldı. Hücrelerin içine 1 ml TE tamponu eklenip kısa bir süre vortekslenip yıkandı ve tekrar santrifüjlenip supernatant atıldı.
- 2- Hücrelerin üzerine 200µl lizozim solüsyonu (2mg/ml⁻¹) eklendi. Süspansiyon karıştırılıp 37^oC de 15 dakika inkübe edildi. (inkübasyon esnasında tüpler sık sık karıştırıldı)
- 3- Hücre lizisi için 200 µl guanidum tiyosiyonat tamponu ilave edilip oda sıcaklığında 15 dakika karıştırıldı.
- 4- 150 µl, 2.5M amonyum asetat (ph4,5) ile proteinlerin presipitasyonu sağlandı ve 550 µl kloroform/izoamilalkol (24:1v/v) ilave edildi. 30 saniye kuvvetli karıştırdıktan sonra 14000 g’de 4^oC de 15 dakika santrifüj yapıldı.
- 5- Üstteki sıvı faz dikkatlice toplandı ve yeni bir ependorf tüpü içerisine alındı. Nükleik asitler 2 hacim soğuk etenolle, -20 ^oC de 30 dakika çöktürüldü.
- 6- Bu karışım 14000 g’de 4^oC de 15 dakika santrifüjlendi ve üst fazı atılıp liyofilizatör de pellet kurutuldu.
- 7- Pellet 100 µl distile suda tekrar süspanse edildi.
- 8- PCR (Polimarese Chain Reaction) çalışmasında eritilip kullanılmak üzere -20^oC de depolandı.

5.9. DNA’ ların saflık kontrolü ve miktar tayini

İzolatlardan elde edilen genomik DNA’ların kalitatif olarak tayini agaroz jel elektroforezinde kontrol edildi (89). Daha sonrada saflık kontrolleri ve miktar tayinleri spektrofotometre ile yapıldı (11,124).

Agaroz jel elektroforezi, 5 µl/ml etidyum bromid’li % 1 lik agaroz jelde gerçekleştirildi. Jel hazırlanmasında ve elektroforez de TBE tamponu kullanıldı. 5 µl DNA solüsyonu, 2 µl yükleme solüsyonu ile karıştırılıp 5V/cm de 45 dakika yürütüldü.

Elektroforezde markör DNA olarak ‘Gene ruler DNA ladder mix’ (Fermentas) kullanıldı. Elektroforez sonucunda başlangıç noktasına yakın yüksek molekül ağırlıklı tek bir bant gözlenmesi DNA bütünlüğünün tam olduğunu göstermiştir (11,124). Daha sonra izole edilen DNA'lar seyreltilerek 260 ve 280 nm deki absorbanları ölçülmüş ve bütün DNA'ların PCR için uygun saflıkta oldukları bulunmuştur. İzole edilen DNA'ların 40-95 µg/ml olduğu bulunmuştur.

Genomik DNA ların saflık kontrolleri ve miktar tayinleri spektrofotometre ile gerçekleştirildi. Spektrofotometre de DNA ların 260 nm ve 280 nm deki absorbanları hesaplanmış (OD260 ve OD280) ve bu değerler arasındaki oran kullanılarak DNA nın saflığı kontrol edilmiştir. Saflık kontrolleri yapılan DNA miktarlarını hesaplanması için OD260 değeri kullanılmış ve DNA miktarları:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = \text{OD260} \times \text{seyreltme oranı} \times 50$$

formülü yardımı ile hesaplanmıştır (11).

5.10. AP-PCR (Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction)

Tüm *Streptococcus mutans* izolatları arasındaki benzer klonların incelenmesi için bu yöntem kullanılmıştır.

Bu yöntemde *Streptococcus mutans*'a özel OPA 5 primeri kullanılmıştır. (5'-AG GG GT CT TG-3')

PCR reaksiyonu hacmi toplam 25µl' dir.

Reaksiyon tüpü içerisindeki reaktif konsantrasyonları şöyledir:

1x PCR tamponu

0.2mM dNTP (deoksinükleosittrifosfat)

0.4µM primer (her bir primerden)

1µl kalıp DNA

4mM MgCl₂

2.5 Unit Taq polimeraz

Tüplerdeki karışım saf su ile 25µl'ye tamamlanmıştır (108).

Reaksiyon strip kapaklı ince çeperli tüplerde gerçekleştirilmiş PCR cihazına; Thermal Cycler(Applied Biosystems, GeneAmp, PCR System 9700) cihazına yerleştirilmiştir (Resim 8).

Uygulananan amplifikasyon programı şöyledir;

- İlk denatürasyon 94°C’de 5 dakika
- 35 döngü ve her döngüde:
 - 1- 94 °C’de 1 dakika
 - 2- 36 °C’de 2 dakika
 - 3- 72 °C’de 5 dakika
- Son uzama için 72 °C’de 5 dakika

Tüpler reaksiyon bittikten sonra 4 °C’de tutulmuşlardır. Her PCR denemesinde negatif kontrol olarak tüm PCR bileşenlerini içeren ancak DNA yerine steril saf su içeren bir tüpte reaksiyon işlemine konmuştur (108).

5.11.AP-PCR Ürünlerinin Elektroforezi

PCR ürünlerinin elektroforezinde (8x6) cm boyutlarında jel kullanılmıştır. Farklı aynı farklı agaroz jellerdeki bant izlerinin karşılaştırılması için markör DNA kullanımının yanında elektroforez koşulları standardize edilmiş ve bütün elektroforez işlemleri aynı şartlarda gerçekleştirilmiştir.

Agaroz jel hazırlanmasında TBE tamponu kullanılmış ve mikrodalga fırında eritildikten sonra 60°C’ye soğuduğunda içerisine 10mg/ml lik etidyum bromür solüsyonundan son konsantrasyon 0.5µg/ml olacak şekilde eklenmiştir (11).

AP-PCR ürünlerinin elektroforezi ise %1 lik agaroz jelde TBE tamponu kullanarak, 2.3V/cm de 3 saat boyunca sürdürülmüştür (11,122).

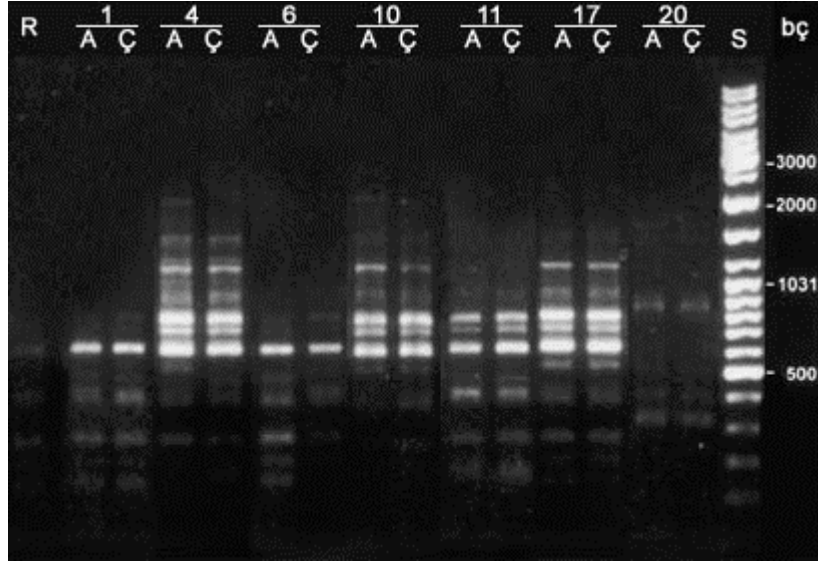
Elektroforez için 10µl PCR ürünü ve 5µl jel yükleme tamponu karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiş, her elektroforez işleminde örneklerle birlikte markör DNA da jel içinde yürütülmüştür.

5.12. AP PCR ile izolatların tiplendirilmesi

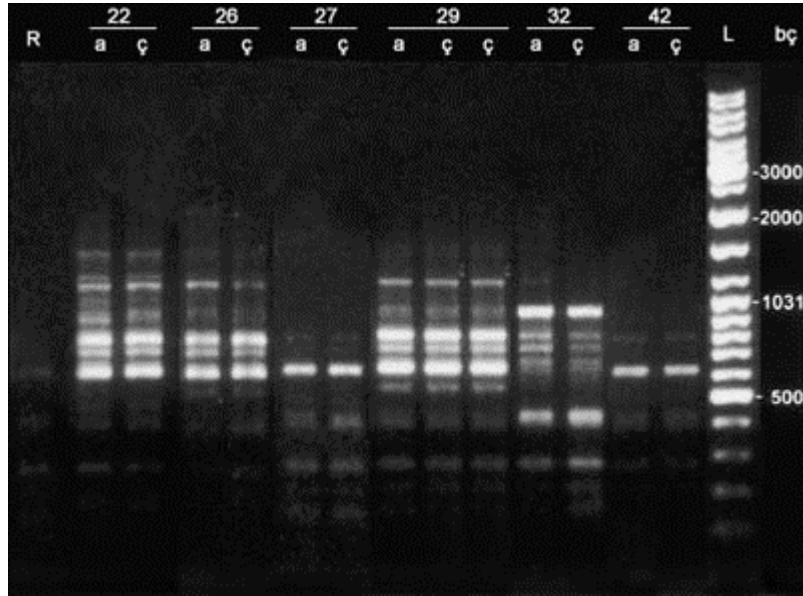
Annelerden çocuklara geçişin belirlenmesi amacıyla tiplendirme işlemi AP-PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. AP-PCR ile tiplendirme çalışmasına başlamadan önce yapılan $MgCl_2$ optimizasyonu denemelerinde optimum değer 4.0 mM olarak belirlenmiştir.

Manz ve arkadaşlarına (99) göre izole edilen DNA'lar ile yapılan amplifikasyon elde edilen ürünler %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek fotoğraflanmıştır.

Değerlendirme sonrası 15 çocuğun annesi ile aynı *Streptococcus mutans* klonuna sahip olduğu belirlenmiştir. AP PCR bantları ampikonların varlık ve yokluğuna, sayılarına göre tek tek gözle değerlendirilmiştir (108). Esas bantlar'ın (3000,2000,1031, 500baz çifti) benzer görüldüğünde eşdeğer olarak kabul edilmiştir.(51) OPA 5 primeri ile *streptococcus mutans*'ın DNA sının amplifikasyonunda ile 6 ile 9 arası ampikon görülmektedir. (0,5-3.0 kb) Anne çocuk *streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuk ve annesinin DNA amplifikasyonunda toplam 195 ampikon ve 6 genotip gözlenmiştir. (Resim 11 ve Resim 12)



Resim 11. Anne çocuk *streptococcus mutans* geçişi gösteren 7 çocuk ve annesinin DNA amplifikasyonu(1,4,6,10,11,17,20 no'lu anne-çocuk)



Resim 12 Anne çocuk *streptococcus mutans* geçişi gösteren 6 çocuk ve annesinin DNA amplifikasyonu (22,26,27,29,32,42 no'lu anne-çocuk)

5.13. Fotoğrafların çekilmesi

Agaroz jel deki DNA bantları Ultraviyole transilüminatörde görüntülendikten sonra karşılaştırılma yapılabilmesi için fotoğrafları çekilmiştir. Bunun için Polaraoid fotoğraf makinesi, Wratten 22A filtresi (Kodak) ve de siyah-beyaz polaroid filmler (Polaroid 667 Kodak) kullanılmıştır. Bu işlem 254 nm deki ultraviyole traansilüminatörün karanlık bir odaya konması ile gerçekleştirilmiştir.

5.14. İstatistiksel yöntem:

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi, alt grup karşılaştırmalarında Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, ikili grupların karşılaştırmasında Bağımsız t Testi , nitel verilerin karşılaştırmalarında Ki-kare ve Fisher Gerçeklik testi, değişkenlerin birbirleri ile ilişkilerini belirlemede Pearson Korelasyon Testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

5.15. ETİK KURUL ONAYI

MAR-YÇ-2004-0058 protokol nolu Streptococcus mutans'ın anne çocuk geçişinin AP-PCR metoduyla saptanması ve diş çürüğü ile ilişkisi isimli projemiz Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Etik Kurulu tarafından incelenerek B.30.2.MAR.0.01.00.02/AEK-165 sayılı karar ile onaylanmıştır (Ek 4).

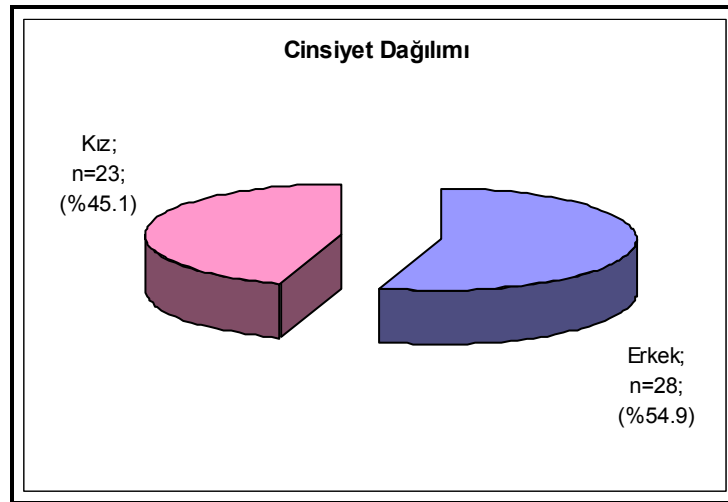
6. BULGULAR

Streptococcus mutans'ın anne çocuk geçişinin incelendiği çalışmamızda; elde edilen verilerin değerlendirilmesi üç bölümde yapılacaktır. İlk bölümde tüm çalışma grubunun değerlendirilmesi, ikinci bölümde mutans streptokok (MS) izole edilen ve edilmeyen gruplar arasındaki ilişkiler, üçüncü bölümde ise mutans streptokok izole edilen grupta anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren ve göstermeyen gruplar değerlendirilecektir.

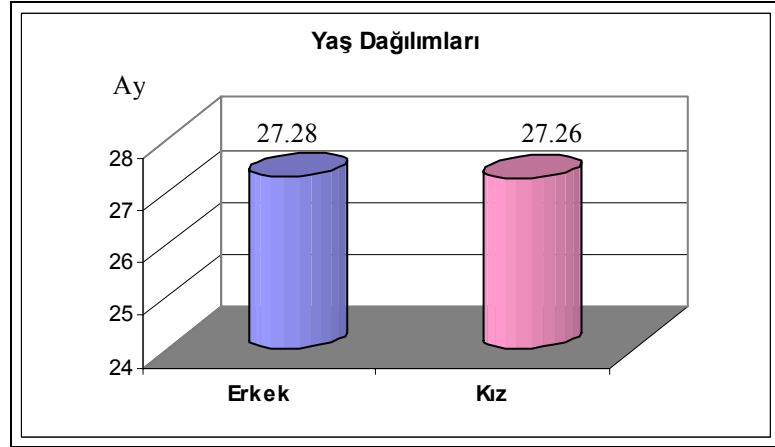
6.1. Çalışma Grubunun Değerlendirilmesi

6.1.1. Yaş ve cinsiyet dağılımı

Çalışmamıza yaşları 19-34 arasında değişen 44 anne; 23'ü kız, 28'i de erkek olmak üzere yaşları 11 ay-43 ay arasında toplam 51 çocuk katılmıştır. Kız çocukların yaş ortalaması 27.26 ± 7.66 ay, erkek çocuklarının ise 27.28 ± 7.64 ay olarak belirlenmiştir. Çocukların cinsiyete ve yaşa göre dağılımı Şekil 5,6 ve Tablo 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5. Çocukların cinsiyetlere göre dağılımı.



Şekil 6. Çocukların cinsiyete göre yaş(ay) dağılımı.

Tablo 5. Çocukların yaş (ay) dağılımı

	Cinsiyet	n	Ortalama±SS
Çocuk yaş (ay)	Kız	23	27.26±7.66
	Erkek	28	27.28±7.64

Çalışma grubundaki annelerin yaş ortalaması 25.23 ± 3.37 (yıl), çocukların ise 27.27 ± 7.57 (ay) olduğu görülmektedir. Annelerin minimum ve maksimum yaş aralığı 19-34 yıl, çocukların ise 11-43 ay olarak belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Anne ve çocukların minimum ve maksimum ve ortalama yaş dağılımı.

	n	Minimum	Maksimum	Ortalama±SS
Anne Yaş (yıl)	51	19	34	25.23 ± 3.37
Çocuk yaş (ay)	51	11	43	27.27 ± 7.57

6.1.2. Çalışma grubundaki anne ve çocuk mutans streptokok dağılımı

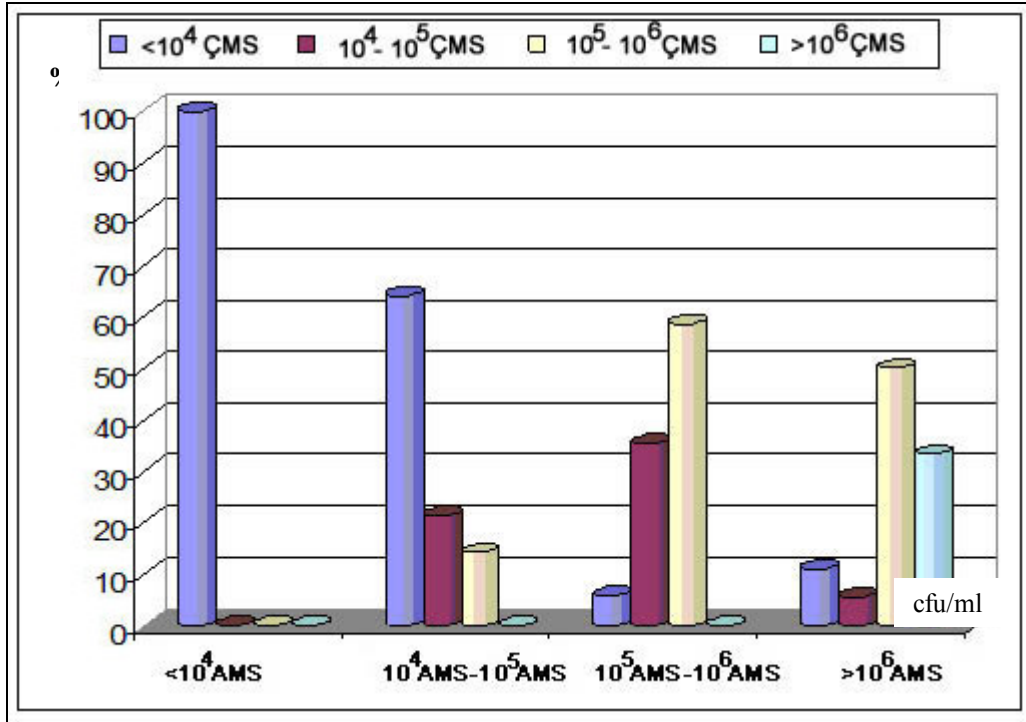
Çalışmamızda; çocukların ve annelerin mutans streptokok(MS) dağılımı incelendiğinde mutans streptokok miktarı yüksek annelerin çocuklarının da mutans streptokok miktarlarının yüksek olduğu görülmüştür.

Anne mutans streptokok miktarı ile çocuk mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 2(%100), anne ve çocuk mutans streptokok miktarı 10^4 - 10^5 cfu/ml olan grupta 3(%21,4), anne ve çocuk mutans streptokok 10^5 - 10^6 cfu/ml olan grupta 10(%58.88), anne ve çocuk mutans streptokok miktarı $>10^6$ olan grupta ise 6(%33.3) anne-çocuk olduğu gözlenmiştir.

Anne mutans streptokok dağılımı ile çocuktaki mutans streptokok dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$) (Tablo 7, Şekil 7).

Tablo 7. Anne ve çocuklardaki mutans streptokokları dağılımı.

		Anne mutans streptokok miktarı (cfu/ml)								
		<10 ⁴		10 ⁴ -10 ⁵		10 ⁵ -10 ⁶		>10 ⁶		
Çocuk mutans streptokok miktarı (cfu/ml)	<10 ⁴	2	%100.00	9	%64.30	1	%5.90	2	%11.10	χ ² :35.65 p=0.0001
	10 ⁴ -10 ⁵	0	%0.00	3	%21.40	6	%35.30	1	%5.60	
	10 ⁵ -10 ⁶	0	%0.00	2	%14.30	10	%58.80	9	%50.00	
	>10 ⁶	0	%0.00	0	%0.00	0	%0.00	6	%33.30	



Şekil 7. Anne ve çocuktaki mutans streptokok dağılımı

AMS: Anne mutans streptokok miktarı

ÇMS: Çocuk mutans streptokok miktarı

6.1.3. Çalışma grubundaki anne DMF-T ve çocuk df-t değerlerinin incelenmesi

Çalışma grubundaki annelerin DMF-T (çürük, eksik, dolgulu diş sayısı) değeri 4.70 ± 2.98 , çocukların df-t (çürük ve dolgulu diş sayısı) değeri 2.64 ± 3.48 ’ dir.

Çalışma grubundaki anne ve çocukların DMF-T ve df-t değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$).

Anne DMF-T değeri arttıkça çocukta da df-t değerinin pozitif yönde arttığı tespit edilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Çocuk ve annelerin df-t DMF-T ilişkileri

Çocuk df-t	Anne DMF-T	
	r	0.640
	p	0.0001
	n	51

Anne mutans streptokok miktarı ile DMF-T değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$).

Anne mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan grubun DMF-T değerleri, mutans streptokok miktarı $>10^6$ cfu/ml olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş ($p=0.002$),

Anne mutans streptokok miktarı 10^4 - 10^5 cfu/ml olan grubun DMF-T değerleri, mutans streptokok miktarı 10^5 - 10^6 cfu/ml ve $>10^6$ cfu/ml olan grupların DMF-T değerlerinden anlamlı derecede düşük olduğu ($p=0.026$, $p=0.0001$),

Anne mutans streptokok miktarı 10^5 - 10^6 cfu/ml olan grubun DMF-T değerleri, mutans streptokok miktarı $>10^6$ cfu/ml olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu ($p=0.0001$),

Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.975$, $p=0.268$) (Tablo 9-10).

Anne mutans streptokok miktarı ile çocuk df-t değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$).

Anne mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan grubun çocuk d-ft değerleri, anne mutans streptokok miktarı 10^5 - 10^6 cfu/ml ve $>10^6$ cfu/ml olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuş ($p=0.004$, $p=0.0001$),

Anne mutans streptokok miktarı 10^4 - 10^5 cfu/ml olan grubun çocuk df-t değerlerinin anne mutans streptokok değeri $>10^6$ cfu/ml olan annelerin çocuk df-t değerlerinden düşük olduğu bulunmuş ($p=0.0001$),

Anne mutans streptokok miktarı 10^5 - 10^6 cfu/ml olan grubun çocuk df-t değerlerinin, anne mutans streptokok miktarı $>10^6$ cfu/ml olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiş ($p=0.0001$), (Şekil 8)

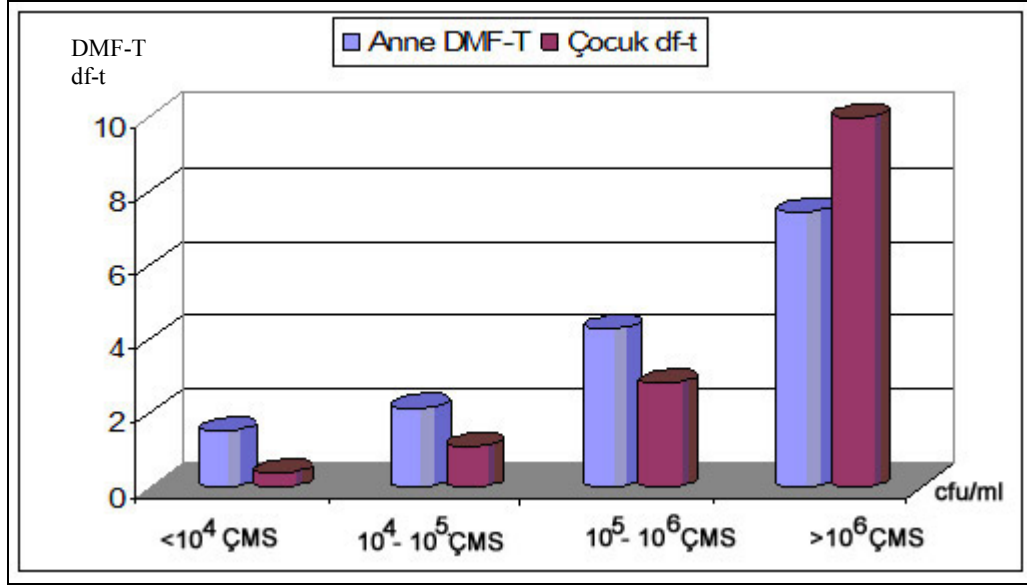
Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p=0.08$, $p=0.124$) (Tablo 9-10).

Tablo 9. Anne ve çocuk mutans streptokok ve df-t, DMF-T ilişkileri

Mutans streptokok (cfu/ml)	n	Anne DMF-T	n	Çocuk df-t
<10⁴	2	1.5±0.71	14	0.36±1.08
10⁴-10⁵	14	2.14±1.03	10	1.1±0.99
10⁵-10⁶	17	4.29±2.31	21	2.81±2.18
>10⁶	18	7.44±2.36	6	10±3.58
F		20.79		31.65
p		0.0001		0.0001

Tablo 10. Anne ve çocuk mutans streptokok dağılımına göre DMF-T df-t ilişkileri

Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi	Anne DMF-T	Çocuk df-t
<10⁴ / 10⁴-10⁵	0.975	0.8
<10⁴ / 10⁵-10⁶	0.268	0.004
<10⁴ / >10⁶	0.002	0.0001
10⁴-10⁵ / 10⁵-10⁶	0.026	0.124
10⁴-10⁵ / >10⁶	0.0001	0.0001
10⁵-10⁶ / >10⁶	0.0001	0.0001



Şekil 8. Anne ve çocukların mutans streptokok ve df-t, DMF-T ilişkileri
ÇMS: Çocuk mutans streptokok miktarı

Çocukların mutans streptokok miktarları ile çocukların bakımını üstlenenler arasındaki ilişki anne, aile büyüğü, kreş ve özel bakıcı şeklinde sınıflandırarak incelendiğinde; Mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 7(%50) çocuğa annesinin baktığı, 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 4(%40) çocuğa annenin, 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 10(%47.6) çocuğa ve $>10^6$ cfu/ml olan 5(%83.3) çocuğa annesinin baktığı, Mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 6(%42.9) çocuğa aile büyüğünün, 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 3(%30) çocuğa aile büyüğünün, 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 5(%23.8) çocuğa ve $>10^6$ cfu/ml olan 1(%16.7) çocuğa aile büyüğünün baktığı, Mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 1(%7.1) çocuğun kreşte bakıldığı, 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 2(%20) çocuğun, 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 4(%19) çocuğun kreşte bakıldığı, Mutans streptokok miktarı, 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 1(%10) çocuğun ve 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 2 (%9.5) çocuğun özel bakıcı tarafından bakıldığı tesbit edilmiş, Tüm gruplara bakıldığında bakıcıları ve çocuk mutans streptokok miktarı arasında anlamlı bir ilişki olmadığı, bununla birlikte anneleri tarafından bakılan çocuklarda yüksek mutans streptokok miktarı olduğu ortaya çıkmıştır ($p=0.652$) (Tablo 11).

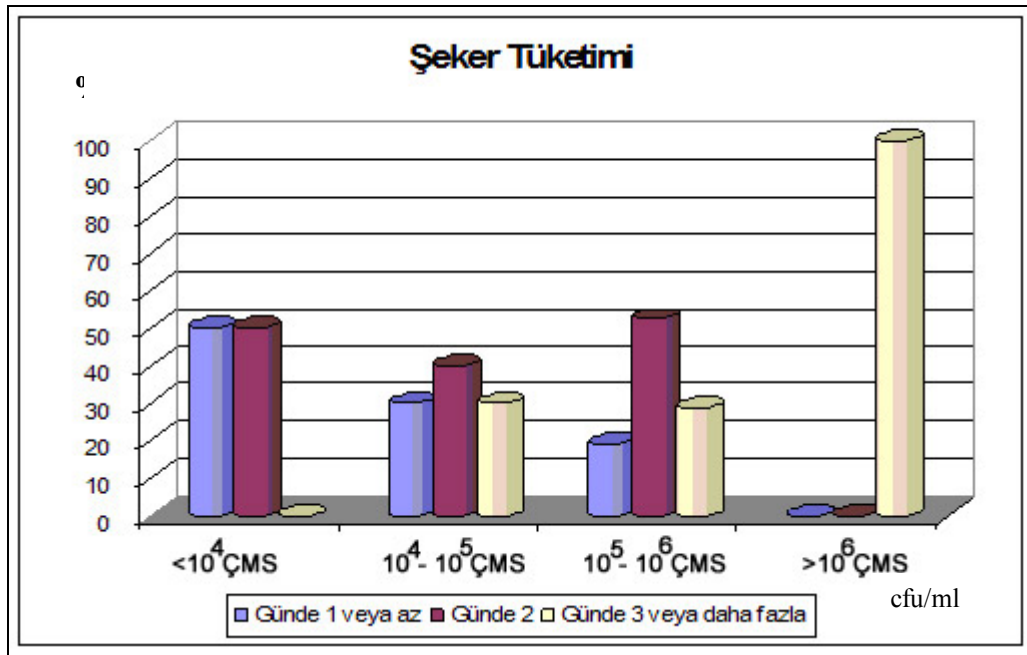
Tablo 11. Çocukların mutans streptokok miktarının çocuğun bakımını üstlenenlere göre değerlendirilmesi

Çocukların		Çocuk mutans streptokok miktarı (cfu/ml)								
Bakımı		<10 ⁴		10 ⁴ -10 ⁵		10 ⁵ -10 ⁶		>10 ⁶		
	Anne	7	%50.0	4	%40.0	10	%47.6	5	%83.3	
	Aile Büyüğü	6	%42.9	3	%30.0	5	%23.8	1	%16.7	
	Kreş	1	%7.1	2	%20.0	4	%19.0	0	%0.0	χ ² :6.85
	Özel Bakıcı	0	%0.0	1	%10.0	2	%9.5	0	%0.0	p=0.652

Çocukların günlük şeker tüketimi günde 1 veya daha az, günde 2 ve günde 3 veya daha fazla olmak üzere sınıflandırılıp çocuk mutans streptokok dağılımları incelendiğinde; Mutans streptokok miktarı <10⁴cfu/ml olan 7(%50) çocuğun günde 1 veya daha az, 7(%50) çocuğun günde 2 kez, Mutans streptokok miktarı 10⁴-10⁵cfu/ml olan 3(%30) çocuğun günde bir veya daha az 4(%40) çocuğun günde 2 kez, 3(%30) çocuğun günde 3 veya daha fazla, Mutans streptokok miktarı 10⁵-10⁶cfu/ml olan 4(%19) çocuğun günde 1 veya daha az, 11(%52.4) çocuğun günde 2 kez, 6(28.6) çocuğun günde 3 veya daha fazla, Mutans streptokok miktarı >10⁶cfu/ml olan çocukların 6(%100)'sının da günde 3 veya daha fazla şeker tükettiği tespit edilmiş ve şeker tüketimleri ile mutans streptokok dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (p=0.001) (Tablo 12) (Şekil 9).

Tablo 12. Çocukların mutans streptokok miktarı ve günlük şeker tüketimleri ile olan ilişkisinin değerlendirilmesi

Günlük Şeker Tüketimi		Çocuk mutans streptokokları miktarı								
		<10 ⁴		10 ⁴ -10 ⁵		10 ⁵ -10 ⁶		>10 ⁶		
	Günde 1 veya az	7	%50.0	3	%30.0	4	%19.0	0	%0.0	
	Günde 2	7	%50.0	4	%40.0	11	%52.4	0	%0.0	χ ² :22.27
	Günde 3 veya fazla	0	%0.0	3	%30.0	6	%28.6	6	%100.0	p=0.001



Şekil 9. Çocukların şeker tüketimi ve mutans streptokokları ile olan ilişkisinin değerlendirilmesi

ÇMS: Çocuk mutans streptokok miktarı

Annelerin mutans streptokok miktarı ile ağız hijyen durumları iyi, orta, kötü şeklinde sınıflandırılarak değerlendirildiğinde,

Ağız hijyeni iyi olan grupta mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 1(%5.9) anne, mutans streptokok miktarı 10^4 - 10^5 cfu/ml arası olan 9(%52.9) anne, mutans streptokok miktarı 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 7(%41.2) anne olduğu;

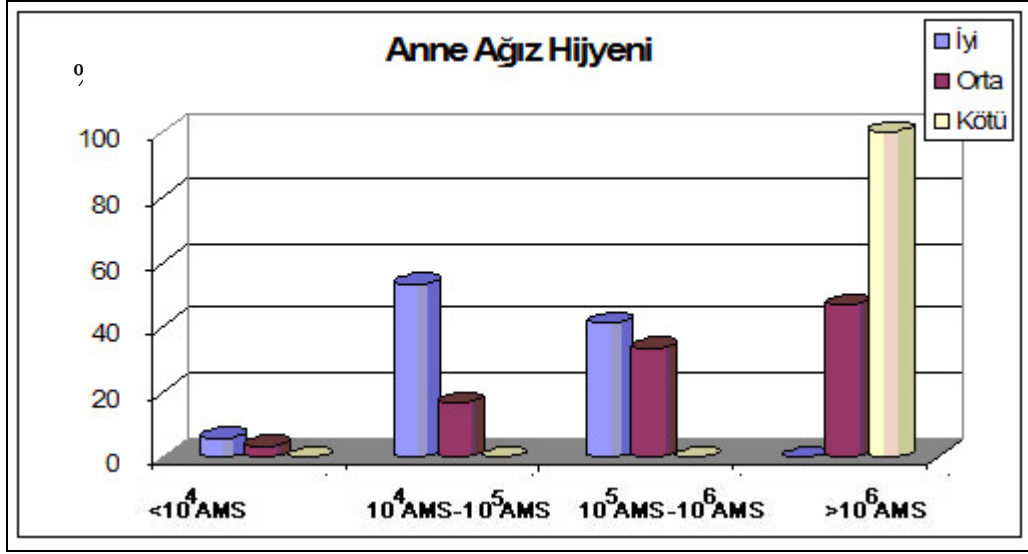
Ağız hijyeni orta seviyede olan grupta mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 1(%3.3), 10^4 - 10^5 cfu/ml 5(%16.7), 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 10(%33.3) anne, $>10^6$ cfu/ml olan 14(%46.7) anne olduğu;

Ağız hijyeni kötü olan grupta ise mutans streptokok miktarı $>10^6$ cfu/ml olan 4(%100) anne olduğu,

Annelerin mutans streptokok miktarı ile ağız hijyeni dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ($p=0.003$) (Tablo 13, Şekil 10).

Tablo 13. Annelerin mutans streptokok miktarı ve ağız hijyen durumu ilişkisi

Anne Mutans Streptokok miktarı (cfu/ml)	Anne Ağız Hijyeni İyi		Anne Ağız Hijyeni Orta		Anne Ağız Hijyeni Kötü		
$<10^4$	1	%5.9	1	%3.3	0	%0.0	
10^4 - 10^5	9	%52.9	5	%16.7	0	%0.0	
10^5 - 10^6	7	%41.2	10	%33.3	0	%0.0	$\chi^2:20.23$
$>10^6$	0	%0.0	14	%46.7	4	%100.0	P=0.003



Şekil 10. Annelerin mutans streptokok miktarı ve ağız hijyen durumu ilişkisi
AMS: Anne mutans streptokok miktarı

Çocukların ağız hijyenleri iyi, orta, kötü olarak sınıflandırılıp incelendiğinde;

Ağız hijyeni iyi olan çocuklarda mutans streptokok değeri $<10^4$ cfu/ml olan 12(%57.1) çocuk, 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 7(%33.3) çocuk, 10^5 - 10^6 cfu/ml arasında 2 (%9.5) çocuk varken;

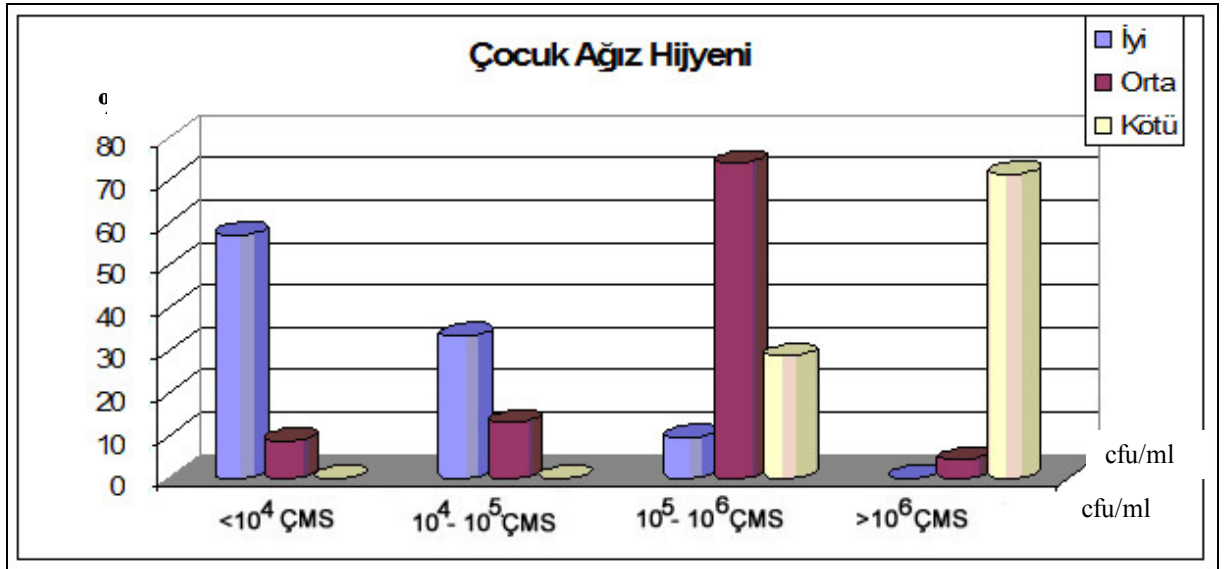
Ağız hijyeni orta olan grupta mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan 2(%8.7), 10^4 - 10^5 cfu/ml arasında 3(%13) çocuk, 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 17(%73.9), $>10^6$ cfu/ml olan 1(%4.3) çocuk olduğu,

Ağız hijyeni kötü olan grupta mutans streptokok değeri 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 2(%28.26) çocuk, $>10^6$ cfu/ml olan 5(%71.4) çocuk olduğu tespit edilmiştir.

Çocukların ağız hijyenleri ile mutans streptokok miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$) (Tablo 14 ve Şekil 11).

Tablo 14. Çocukların mutans streptokok miktarı ve ağız hijyeni ilişkisi

Çocuk Mutans Streptokok miktarı (cfu/ml)	Çocuk Ağız Hijyeni İyi		Çocuk Ağız Hijyeni Orta		Çocuk Ağız Hijyeni Kötü		
$<10^4$	12	%57.1	2	%8.7	0	%0.0	
10^4-10^5	7	%33.3	3	%13.0	0	%0.0	
10^5-10^6	2	%9.5	17	%73.9	2	%28.6	$X^2:51.60$
$>10^6$	0	%0.0	1	%4.3	5	%71.4	$P=0.0001$



Şekil 11. Çocukların mutans streptokok miktarı ve ağız hijyeni ilişkisi.
ÇMS: Çocuk mutans streptokok miktarı

6.2. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen gruplar arası ilişkilerin değerlendirilmesi

Çalışma grubundaki 51 çocuk içerisinde 17'si kız 20'si erkek olmak üzere toplam 37 çocuktan mutans streptokokları izole edilmişken; 44 annenin 42'sinden mutans streptokokları izole edildi.

Mutans streptokok izole edilmeyen 14 çocuğun 6'sı kız, 8'i erkek olarak tespit edilmiştir (Tablo 15).

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen grupların cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p=0.843$).

Tablo 15. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Kız	17	%45.9	6	%42.9	$\chi^2:0.03$
Erkek	20	%54.1	8	%57.1	$p=0.843$

Mutans streptokok izole edilen grupta; annelerin yaş ortalamasının 25.57 ± 3.77 yıl, çocukların ise 28.57 ± 6.93 ay olduğu anne DMF-T değerinin 5.41 ± 3.08 , çocuk df-t değerinin ise 3.51 ± 3.69 olduğu tespit edilmiştir.

Mutans streptokok izole edilmeyen grupta; annelerin yaş ortalamasının 24.36 ± 1.86 yıl, çocukların yaş ortalamasının ise 23.86 ± 8.39 ay olduğu , anne DMF-T değerinin 2.86 ± 1.7 , çocuk df-t değerinin ise 0.36 ± 1.08 olduğu bulunmuştur.

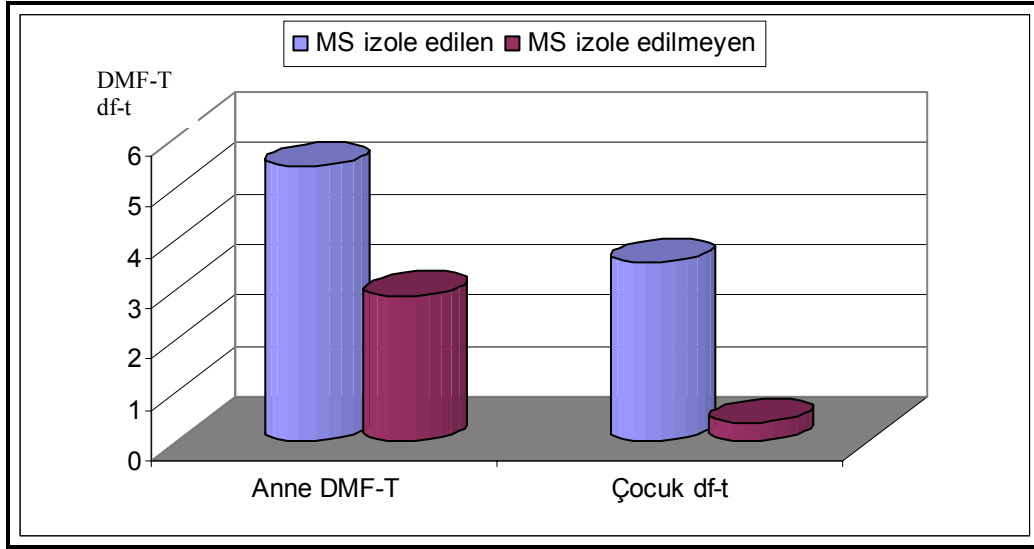
Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen gruplarda anne yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p=0.258$).

Mutans streptokok izole edilen gruptaki çocukların yaş (ay) ortalaması, izole edilmeyen gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.046$).

Mutans streptokok izole edilen anne ve çocukların DMF-T ve df-t değerleri mutans streptokok izole edilmeyen gruba göre istatistiksel olarak sırasıyla yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0.001$, $p=0.0001$) (Tablo 16., Şekil 12).

Tablo 16. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların yaş, df-t, annelerinin yaş ve DMF-T değerleri

	Mutans streptokok izole edilen çocuk n:37	Mutans streptokok izole edilmeyen çocuk n:14	t	P
Anne Yaş (yıl)	25.57 ± 3.77	24.36 ± 1.86	1.15	0.258
Çocuk Yaş(ay)	28.57 ± 6.93	23.86 ± 8.39	2.04	0.046
Anne DMF-T	5.41 ± 3.08	2.86 ± 1.7	2.92	0.001
Çocuk df-t	3.51 ± 3.69	0.36 ± 1.08	3.14	0.0001



Şekil 12. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen Çocukların df-t ve Annelerinin DMF-T dağılımı

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların annelerinin mutans streptokok miktarları incelendiğinde;

Mutans streptokok izole edilen çocukların annelerinin, mutans streptokok miktarı $<10^4$ cfu/ml olan hiçbir annenin bulunmadığı, mutans streptokok değeri 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 5(%13.5) anne, mutans streptokok değeri 10^5 - 10^6 cfu/ml olan grupta 16(%43.2)annenin, mutans streptokok değeri $>10^6$ cfu/ml olan grupta ise 16(%43.2)annenin bulunduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen çocukların annelerinin ise mutans streptokok değeri $<10^4$ cfu/ml olan 2(%14.3) anne, mutans streptokok değeri 10^4 - 10^5 cfu/ml arasında olan 9(%64.3) anne, mutans streptokok değeri 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 1(%7.1) anne, mutans streptokok değeri $>10^6$ cfu/ml olan 2(%14.3) anne olduğu tespit edilmiştir.

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların annelerinin mutans streptokok dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$) .(Tablo 17, Şekil 12).

Tablo 17. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların annelerinin mutans streptokok dağılımı

Anne Mutans Streptokok Miktarı (cfu/ml)	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
$<10^4$	0	%0.0	2	%14.3	
10^4-10^5	5	%13.5	9	%64.3	
10^5-10^6	16	%43.2	1	%7.1	$\chi^2:21.01$
$>10^6$	16	%43.2	2	%14.3	$p=0.0001$

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların mutans streptokok dağılımları incelendiğinde;

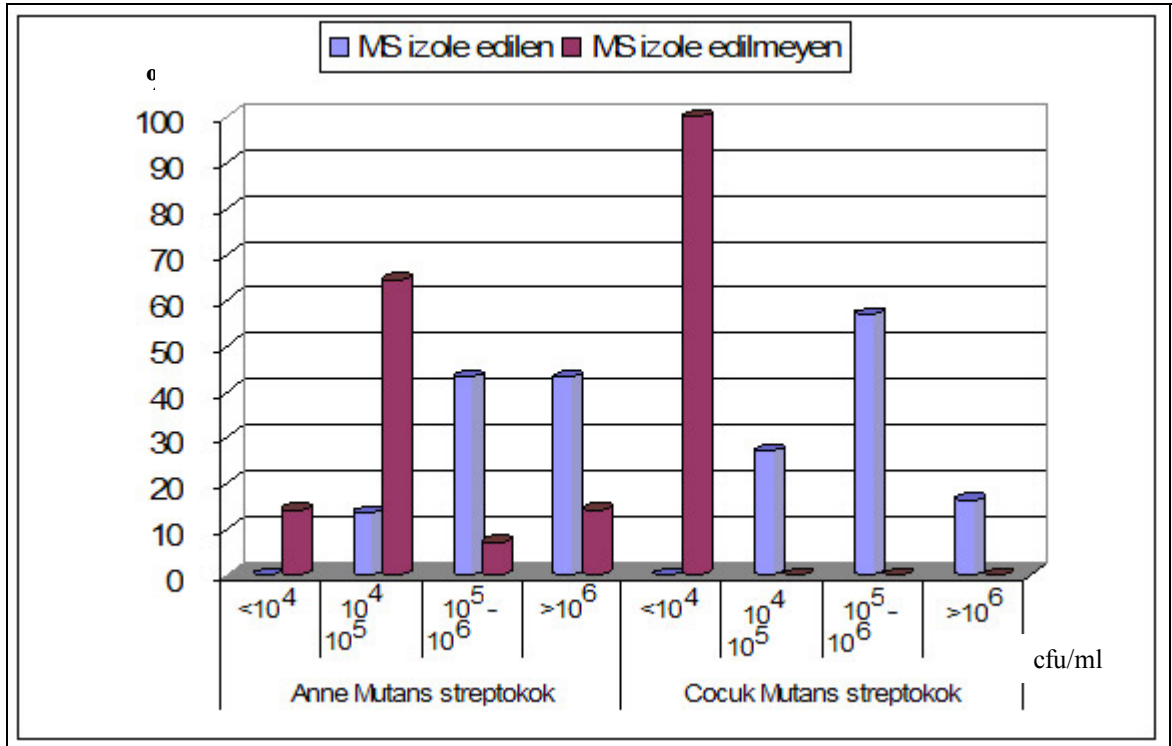
Mutans streptokok izole edilen çocuklarda mutans streptokok miktarı 10^4 cfu/ml olan hiçbir çocuk olmadığı, mutans streptokok miktarı 10^4-10^5 olan 10(%27) çocuk, mutans streptokok miktarı 10^5-10^6 cfu/ml arasında 21(%56.8) çocuğun olduğu, mutans streptokok miktarı $>10^6$ cfu/ml olan ise 6(%16.2) çocuğun bulunduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen grupta ise çocukların tamamının 14(%100.0) mutans streptokok miktarının $<10^4$ cfu/ml olduğu tespit edilmiştir.

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların mutans streptokok dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır($p=0.0001$) (Tablo 18.) (Şekil 13).

Tablo 18. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların mutans streptokok dağılım

Çocuk Mutans Streptokok Miktarı (cfu/ml)	Mutans Streptokok İzole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok İzole edilmeyen çocuk n:14		
$<10^4$	0	%0.0	14	%100.0	
10^4-10^5	10	%27.0	0	%0.0	
10^5-10^6	21	%56.8	0	%0.0	$\chi^2:51$
$>10^6$	6	%16.2	0	%0.0	p=0.0001



Şekil 13. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların ve annelerinin mutans streptokok dağılımı.

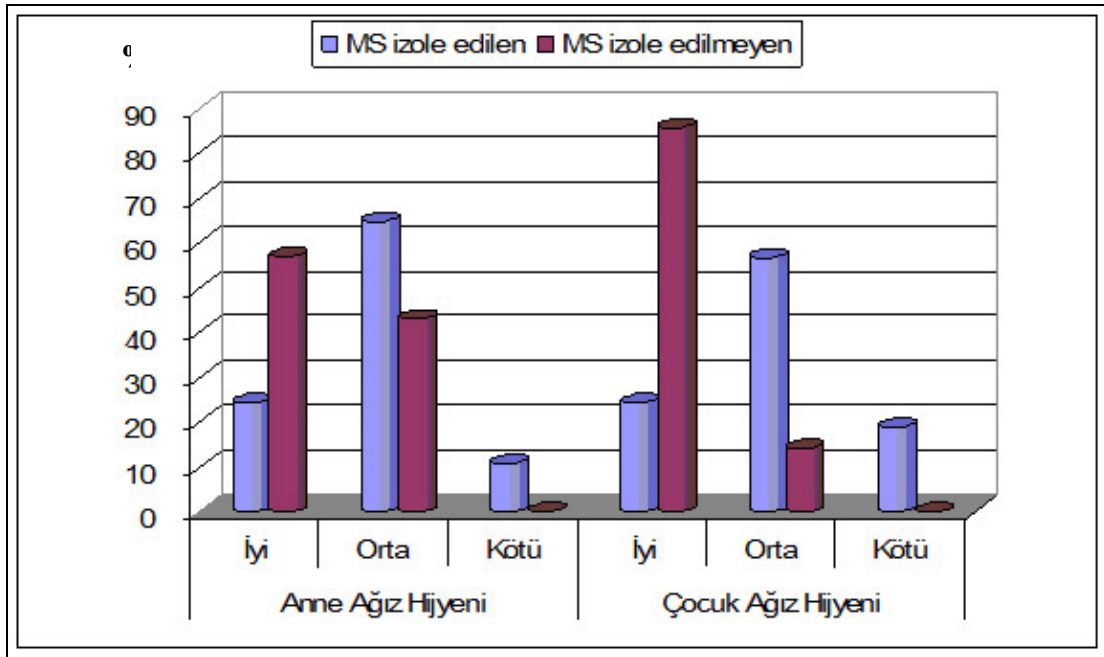
Mutans streptokok izole edilen gruptaki annelerin ağız hijyenlerinin 9'unun(%24.3) iyi, 24'ünün (%64.9) orta, 4'ünün (%10.8) kötü olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen grupta ise 8(%57.19) annenin iyi, 6(%42.9) annenin orta seviyede ağız hijyenine sahip olduğu görülmüştür.

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen annelerin ağız hijyenleri iyi, orta, kötü şeklinde sınıflandırılıp incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (p=0.041) (Tablo 19, Sekil 14).

Tablo. 19. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların annelerinin ağız hijyenleri arasındaki ilişki

Anne Ağız Hijyeni	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
İyi	9	%24.3	8	%57.1	
Orta	24	%64.9	6	%42.9	$\chi^2:6.41$
Kötü	4	%10.8	0	%0.0	p=0.041



Şekil 14. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların ve annelerinin ağız hijyen durumu

Mutans streptokokları izole edilen çocukların ağız hijyenleri incelendiğinde 9 (%24.3) çocuğun iyi, 21 (%56.8) çocuğun orta, 7(%18.9) çocuğun ise kötü bir ağız hijyenine sahip olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen grupta ise 12(%85.7) çocuğun ağız hijyeni iyi, 2(%14.3) çocuğun ise orta seviyede olduğu tespit edilmiş,

Ağız hijyeni değerlendirilmesinde; mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen gruplar aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (p=0.0001)

(Tablo 20, Şekil 14).

Tablo 20. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların ağız hijyenleri arasındaki ilişki

Çocuk Ağız Hijyeni	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
İyi	9	%24.3	12	%85.7	
Orta	21	%56.8	2	%14.3	$\chi^2:16$
Kötü	7	%18.9	0	%0.0	p=0.0001

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların bakımını üstlenenler, anne, aile büyüğü, kreş ve bakıcı şeklinde gruplanarak incelendiğinde;

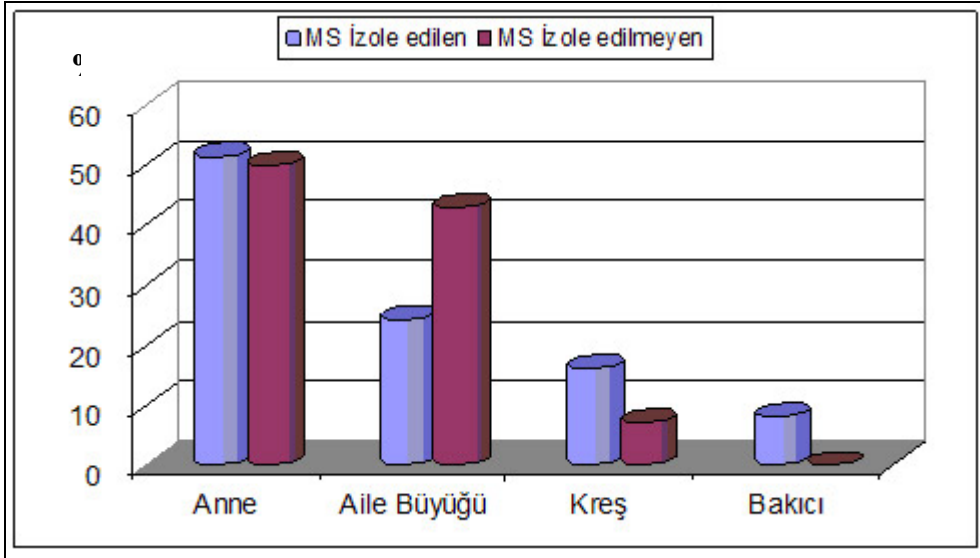
Mutans streptokok izole edilen çocuklarda annenin bakımı üstlendiği 19(%51.4), aile büyüğü tarafından bakılan çocuk sayısı 9(%24.3), kreşte bakılan 6(%16.2), bakıcı tarafından bakılan 3(%8.1) çocuk olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen çocuklarda annenin bakımı üstlendiği 7(%50), aile büyüğü tarafından bakılan çocuk sayısı 6(%42.9), kreşte bakılan 1(%7.1) çocuk olduğu tespit edilmiştir.

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların bakımlarını üstlenenler açısından değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı bulunmuştur (p=0.402) (Tablo 21., Şekil 15).

Tablo 21. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların bakıcıları ile olan dağılımı

Çocukların Bakımı	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Anne	19	%51.4	7	%50.0	
Aile Büyüğü	9	%24.3	6	%42.9	
Kreş	6	%16.2	1	%7.1	$\chi^2:2.93$
Bakıcı	3	%8.1	0	%0.0	p=0.402



Şekil 15. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların bakıcılara göre dağılımı

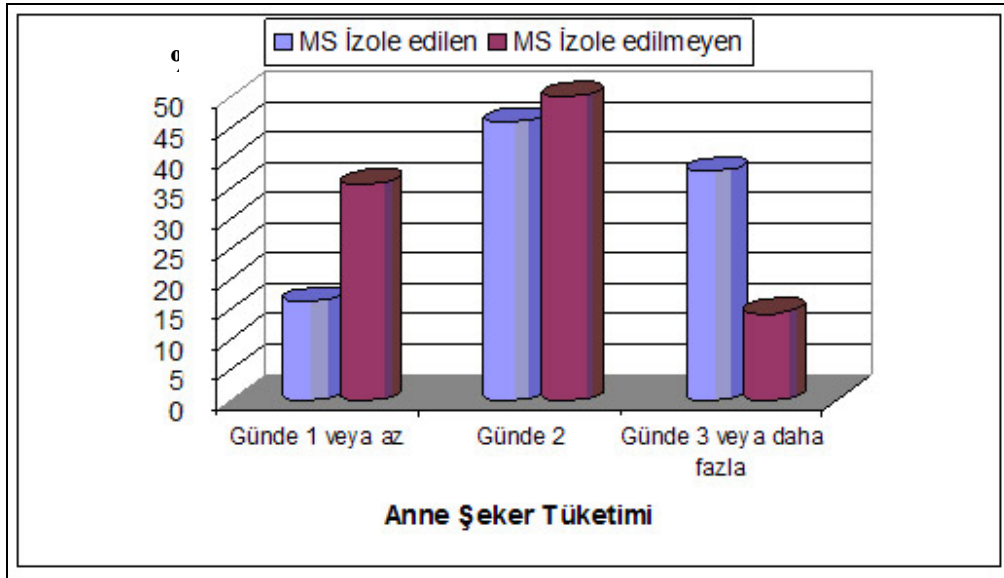
Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen annelerin şeker tüketimleri incelendiğinde; Mutans streptokok izole edilen grupta günde 1 veya daha az şeker tüketimi yapanların sayısı 6 (%16.2), günde 2 olanlar 17(%45.9), günde 3 veya daha fazla olanlar ise 14 (%37.8) olarak saptanmıştır.

Mutans streptokok izole edilmeyen annelerin şeker tüketimleri ise günde 1 veya az olan 5(%35.7), günde 2 olan 7(%50), günde 3'den fazla olan 2(%14.3) anne olarak tespit edilmiştir.

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen annelerin şeker tüketimleri arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı saptanmıştır (p=0.164) (Tablo 22, Şekil 16).

Tablo 22. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların annelerinin şeker tüketimi

Anne Şeker Tüketimi	Mutans Streptokok izole edilen Çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen Çocuk n:14		
Günde 1 veya az	6	%16.2	5	%35.7	
Günde 2	17	%45.9	7	%50.0	$\chi^2:3.62$
Günde 3 veya fazla	14	%37.8	2	%14.3	p=0.164



Şekil 16. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların annelerinin şeker tüketimi

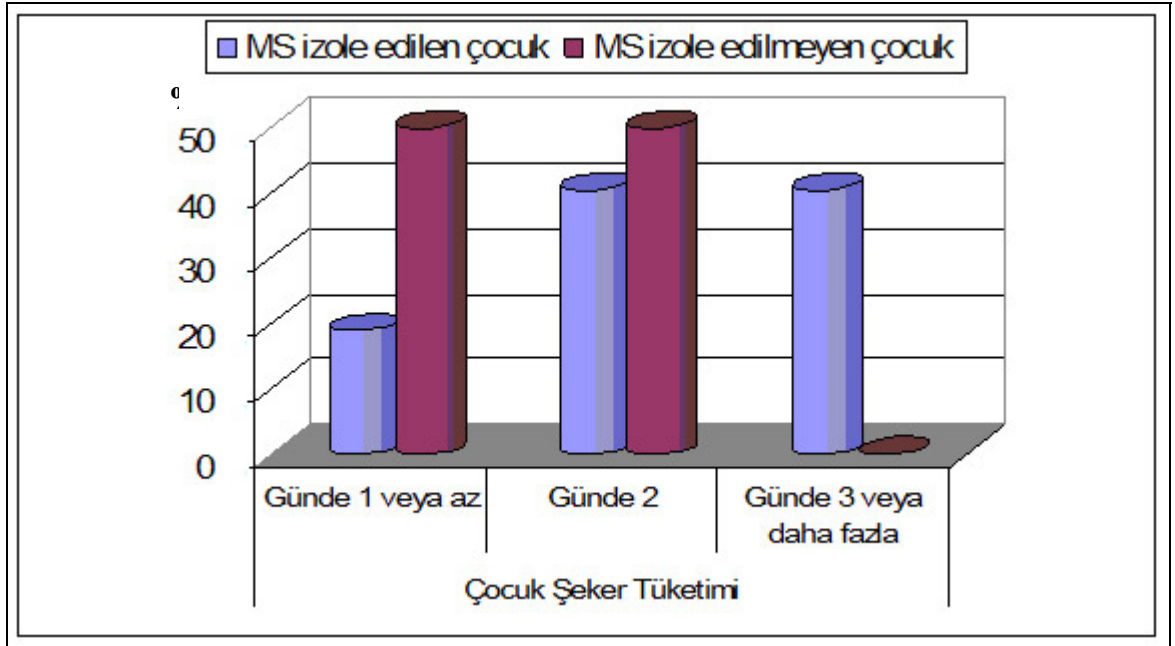
Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocukların şeker tüketimi incelendiğinde; Günde 1 veya daha az şeker tüketen çocuk sayısı 7(%18.9), günde 2 defa tüketen çocuk sayısı 15 (%40.5) olduğu, günde 3 veya daha fazla tüketen çocuk sayısı 15(%40.5) olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen çocukların 7(%50) sinin şeker tüketiminin günde 1 veya daha az, 7(%50) sinin ise günde 2 olduğu saptanmıştır.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. ($p=0.009$) (Tablo 23) (Şekil 17).

Tablo 23. Mutans streptokokları izole edilen ve edilmeyen çocukların şeker tüketimi ile ilişkileri

Çocuk Şeker Tüketimi	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Günde 1 veya az	7	%18.9	7	%50.0	
Günde 2	15	%40.5	7	%50.0	$\chi^2:9.46$
Günde 3 veya fazla	15	%40.5	0	%0.0	$p=0.009$



Şekil 17. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocuklardaki şeker tüketimi

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocuklarda florid tableti kullanımı incelendiğinde;

Mutans streptokok izole edilen grupta Florid tableti kullanan çocuk sayısının 20 (%54.1), kullanmayan çocuk sayısının 17 (%45.9) olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen çocukların ise 8(%57.1)'inin florid tableti kullandığı, 6(%42.9) sınıfın florid tableti kullanmadığı tespit edilmiş, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır (p=0.843) (Tablo 24).

Tablo 24. Mutans streptokok izole edilen ve edilemeyen çocuklarda florid tableti kullanımı

Florid Tableti	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Florid (+)	20	%54.1	8	%57.1	$\chi^2:0.039$
Florid (-)	17	%45.9	6	%42.9	p=0.843

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocuklarda annenin yemeğin tadına baktıktan sonra verme alışkanlığı incelendiğinde,

Mutans streptokok izole edilen çocuk grubunda hiç tatmadan veren anne sayısının 7(%18.9), bazen tadına bakan anne sayısının 26(%70.3), her zaman tadarak veren anne sayısının 4(%10.8) olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen çocuk grubunda ise 1(%7.1) annenin hiç yemeği tadına bakmadığı, 9(%64.3)'ünün bazen, 4(%28.6)'ünün ise her zaman tattığı tespit edilmiş, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır (p=0.224) (Tablo 25, Şekil 17).

Tablo 25. Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocuklarda annenin yemeği tadına bakarak verme alışkanlığı

Yemek Tatmak	Mutans Streptokok izole edilen çocuk N:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Hiç	7	%18.9	1	%7.1	
Bazen	26	%70.3	9	%64.3	$\chi^2:2.29$
Her Zaman	4	%10.8	4	%28.6	p=0.224

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocuklarda annenin emziği temizleme veya biberon ısisını kontrol etmek amacıyla ağzına götürme alışkanlığı incelendiğinde; Mutans streptokok izole edilen çocuk grubunda emzik ve biberonu ağzına götürmeyen anne sayısının 3(%8.1), arada sırada emzik veya biberonu temizlemek veya kontrol etmek amacıyla ağzına götüren anne sayısının 32(%86.5), devamlı olarak bunu yapan anne sayısının 2(%5.4) olduğu,

Mutans streptokok izole edilmeyen çocuk grubunda ise 3(%21.4) annenin emzik yada biberonu ağzına götürmediği, 9(%64.3) annenin bunu arada sırada yaptığı, 2(%14.3) annenin ise her zaman yaptığı tespit edilmiş, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır (p=0.224) (Tablo 26, Şekil 18).

Tablo 26. Mutans streptokok izole edilen ve edilemeyen çocuklarda annenin emziği ağzına götürme alışkanlığı

Emzik ve biberon kontrolü	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Hiç	3	%8.1	3	%21.4	
Bazen	32	%86.5	9	%64.3	$\chi^2:3.17$
Her Zaman	2	%5.4	2	%14.3	p=0.204

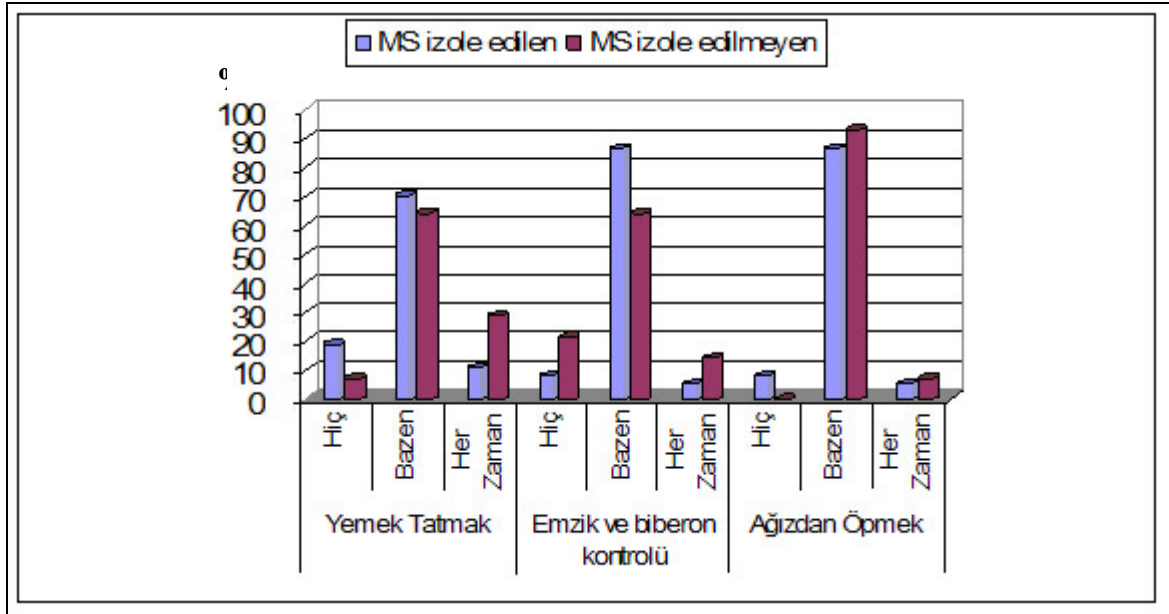
Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen çocuklarda annenin çocuğu ağızdan öpme alışkanlığı incelendiğinde;

Mutans streptokok izole edilen grupta böyle bir alışkanlığı olmadığını belirten anne sayısının 3(%8.1), arada sırada bunu yapan anne sayısının 32(%86,5) her zaman bunu yapanların sayısının 2 (%5.4) olduğu;

Mutans streptokok izole edilmeyen grupta çocuğunu ağızdan öpme alışkanlığı olan anne olmadığı, bazen bunu yapan anne sayısının 13(%92.9) olduğu, her zaman öpen anne sayısının ise 1(%7.1) olduğu saptanmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (p=0.540) (Tablo 27, Şekil 18).

Tablo 27. Mutans streptokok izole edilen ve edilemeyen çocuklarda annenin çocuğu ağızdan öpme alışkanlığı

Çocuğu ağızdan öpme alışkanlığı	Mutans Streptokok izole edilen çocuk n:37		Mutans Streptokok izole edilmeyen çocuk n:14		
Hiç	3	%8.1	0	%0.0	
Bazen	32	%86.5	13	%92.9	$\chi^2:1.23$
Her Zaman	2	%5.4	1	%7.1	p=0.540



Şekil 18. Mutans streptokok izole edilen ve edilemeyen çocukların annelerinin davranış şekilleri

Çalışma grubundaki 44 annenin emzirme süreleri incelendiğinde ise , annelerin emzirme süresi ortalaması 8.76 ± 3.06 ay,

Mutans streptokok izolasyonu yapılan annelerin emzirme süresi ortalaması 8.62 ± 3.26 ay, Mutans streptokok izole edilmeyen annelerin emzirme süresi ortalamasının ise 9.14 ± 2.54 ay olduğu saptanmıştır.

Mutans streptokok izole edilen ve edilmeyen annelerin emzirme süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p=0.593$).

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren grupta annelerin emzirme süresi ortalaması 8.53 ± 3.04 ay,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen grupta ise emzirme süresinin 8.68 ± 3.47 ay olduğu, Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruplardaki annelerin emzirme süreleri ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı bulunmuştur ($p=0.894$).

6.3.Mutans streptokok izolasyonu yapılan grupta anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirilmesi

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin belirlenmesi amacıyla tiplendirme işlemi AP-PCR (Arbitrarirly Primed PCR) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

OPA5 primeri ile mutans streptokok izolasyonu yapılan 37 anne-çocukta *Streptococcus mutans* geçişi incelenmiş olup değerlendirme sonrası 15 çocuğun annesi ile aynı *Streptococcus mutans* klonuna sahip olduğu belirlenmiştir.

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuk ve annesinin DNA amplifikasyonunda toplam 195 amplikon, 6 farklı genotip gözlenmiştir (Resim13, 14, 15 ve 16).

Mutans streptokok izolasyonu yapılan grupta *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuğa ait cinsiyet, çocuk yaş, çocuk df-t, anne DMF-T, çocuk ve anne mutans streptokok miktarları Tablo 28’de; Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen 22 çocuğa ait cinsiyet, yaş, df-t, anne DMF-T, çocuk ve anne mutans streptokok miktarları da Tablo 29’da gösterilmiştir.

Tablo 28. *Streptococcus mutans* geçişi gösteren çocukların cinsiyet, yaş, df-t, anne DMF-T ve anne ocuk mutans streptokok miktarları

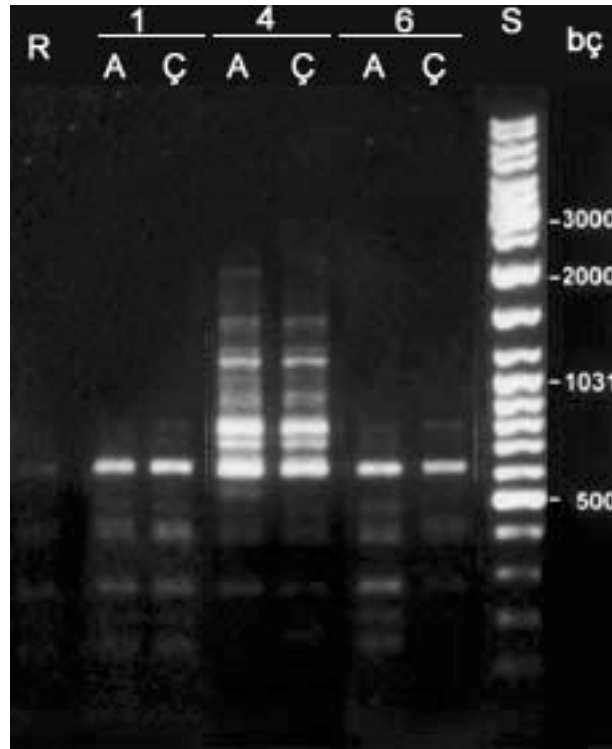
AİLE NO	BİREY	Çocuk Cinsiyet	ÇocukYaş (ay)	DMF-T-df-t (anne-ocuk)	Mutans streptokok miktarı(cfu/ml)
1	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	24	5	10^5-10^6
4	Anne			8	$>10^6$ 10^4-10^5 10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	34	8	10^5-10^6
6	Anne			9	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	24	2	10^4-10^5
10	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Kız	36	1	10^5-10^6
11	Anne			9	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	33	16	$>10^6$
17	Anne			7	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	16	0	10^4-10^5
20	Anne			4	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	25	2	10^4-10^5
22	Anne			8	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	26	12	$>10^6$
26	Anne			8	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	24	6	$>10^6$
	Çocuk2	Kız	39	10	$>10^6$
27	Anne			2	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	27	4	10^5-10^6
29	Anne			12	$>10^6$
	Çocuk	Kız	23	4	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	36	8	$>10^6$
32	Anne			4	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	24	1	10^5-10^6
42	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	37	3	10^5-10^6

Tablo 29. . *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen çocukların cinsiyet, yaş, df-t, anne DMF-T ve anne ocuk mutans streptokok miktarları

AİLE NO	Birey	ocuk Cinsiyet	ocuk Yaş(ay)	DMF-T/df-t (anne-ocuk)	Mutans streptokok miktarı(cfu/ml)
2	Anne			8	10^5-10^6
	ocuk	Kız	30	5	10^5-10^6
3	A			2	10^4-10^5
	ocuk	Kız	32	0	10^4-10^5
5	Anne			4	10^5-10^6
	ocuk	Erkek	33	2	10^4-10^5
	ocuk	Kız	16	0	10^4-10^5
7	Anne			11	$>10^6$
	ocuk	Erkek	27	8	$>10^6$
8	Anne			2	10^5-10^6
	ocuk	Kız	26	0	10^5-10^6
9	Anne			2	10^5-10^6
	ocuk	Erkek	23	0	10^5-10^6
12	Anne			2	10^4-10^5
	ocuk	Kız	28	1	10^4-10^5
13	Anne			3	10^5-10^6
	ocuk	Erkek	26	0	10^5-10^6
14	Anne			1	10^4-10^5
	ocuk	Kız	36	4	10^5-10^6
	ocuk	Kız	20	0	10^5-10^6
16	Anne			0	10^5-10^6
	ocuk	Erkek	19	0	10^4-10^5
18	Anne			6	10^5-10^6
	ocuk	Kız	37	1	10^5-10^6
19	Anne			7	10^5-10^6
	ocuk	Kız	29	3	10^5-10^6
21	Anne			2	10^5-10^6
	ocuk	Kız	37	2	10^5-10^6
23	Anne			6	10^5-10^6
	ocuk	Erkek	28	2	10^5-10^6
24	Anne			4	10^5-10^6
	ocuk	Kız	16	2	10^4-10^5

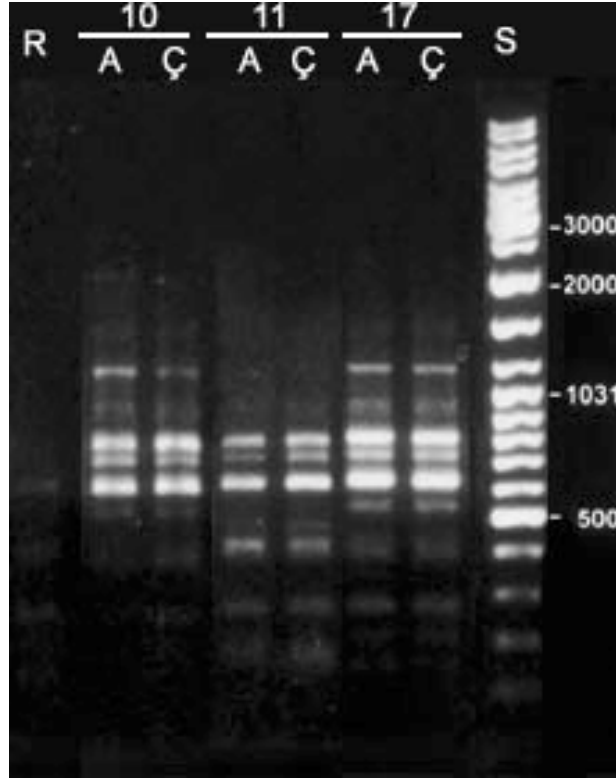
Tablo 29. . *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen çocukların cinsiyet, yaş, df-t, anne DMF-T ve anne ocuk mutans streptokok miktarları(devamı)

AİLE NO	Birey	ocuk Cinsiyet	.YAş(AY)	df-t/DMFT	S.Mutans
28	Anne			6	$>10^6$
	ocuk	Erkek	25	3	10^5-10^6
30	Anne			3	10^4-10^5
	ocuk	Kız	25	2	10^4-10^5
31	Anne			3	$>10^6$
	ocuk	Erkek	37	4	10^5-10^6
32	Anne			4	10^5-10^6
	ocuk	Kız	40	3	10^5-10^6
38	Anne			6	$>10^6$
	ocuk	Erkek	39	6	10^5-10^6

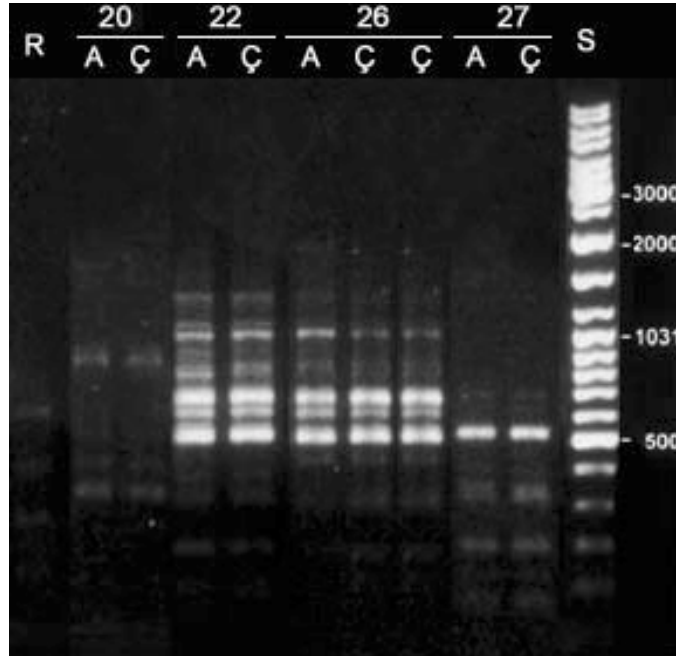


Resim13: Anne ocuk *streptococcus mutans* geçişini OPA-5 geni ile gösteren AP-PCR sonuçları (1,4,6 no'lu anne-ocuk)

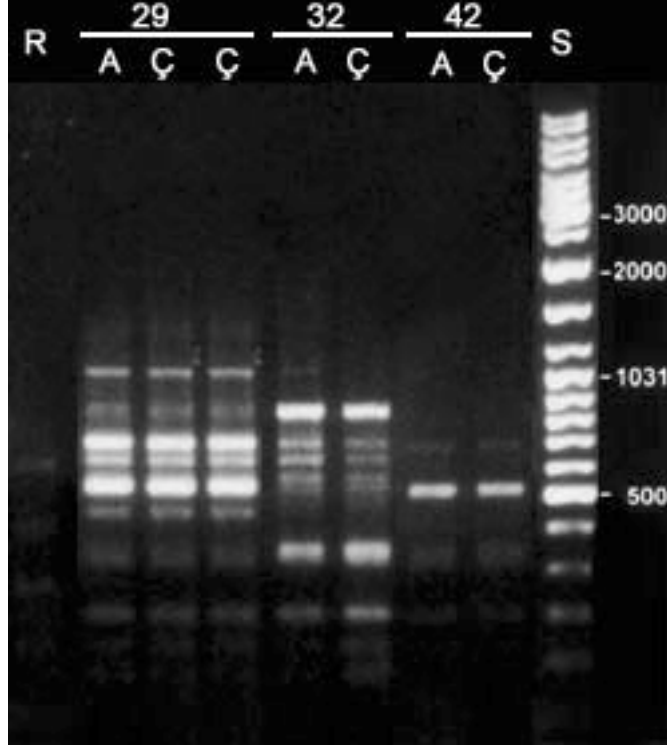
R: referans suş(NCTC 10449), S: standart marker, bç: baz ifti, A:anne, :ocuk



Resim14: Anne çocuk *streptococcus mutans* geçişini OPA-5 geni ile gösteren AP-PCR sonuçları (10,11,17 no'lu anne çocuk)
R: referans suş(NCTC 10449), S: standart marker, bç: baz çifti, A:anne, Ç:çocuk



Resim15: Anne çocuk *streptococcus mutans* geçişini OPA-5 geni ile gösteren AP-PCR sonuçları (20, 22, 26,27 no'lu anne-çocuk)
R: referans suş(NCTC 10449), S: standart marker, bç: baz çifti, A:anne, Ç:çocuk



Resim16: Anne çocuk *streptococcus mutans* geçişini OPA-5 geni ile gösteren AP-PCR sonuçları (29, 32, 42 no'lu anne çocuk)
R: referans suş(NCTC 10449), S: standart marker, bç: baz çifti, A:anne, Ç:çocuk

Mutans streptokok izole edilen ve anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren grupta; annelerin yaş ortalamasının 26.67 ± 4.42 yıl, çocukların 28.53 ± 6.73 ay, anne DMF-T değerinin 7.53 ± 2.39 , çocuk df-t değerinin ise 5.47 ± 4.56 olduğu tespit edilirken;

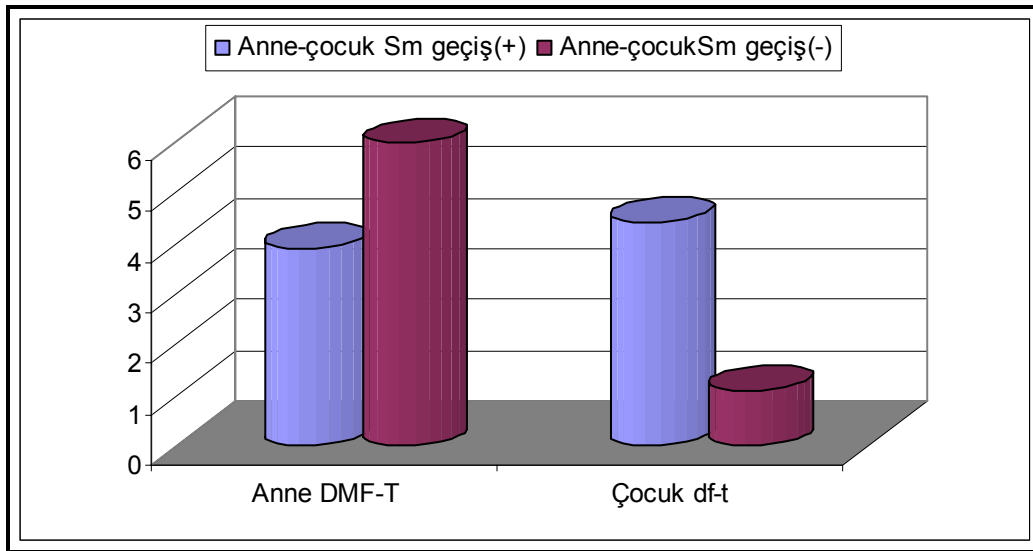
Anne-çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin olmadığı grupta; annelerin yaş ortalamasının 24.82 ± 3.14 yıl, çocukların yaş ortalamasının ise 28.59 ± 7.22 ay olduğu, anne DMF-T değerinin 3.95 ± 2.65 , çocuk df-t değerinin 2.18 ± 2.2 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 19).

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren anne ve çocuk yaşları ile geçiş göstermeyen gruptaki anne ve çocuk yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı bulunmuştur ($p=0.145$, $p=0.981$).

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren grup incelendiğinde anne DMF-T değeri 7.53 ± 2.39 , ocuk df-t değeri 5.47 ± 4.56 ,

Anne ocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen grupta ise anne DMF-T değeri 3.95 ± 2.65 , ocuk df-t değerinin ise 2.18 ± 2.2 olduğu bulunmuş, sırasıyla iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p=0.0001$, $p=0.006$).

ocuk df-t değerlerinin iki grupta birbirleri ile ilişkisi değerlendirildiğinde, anneler ($p=0.0001$) ve çocukların ($p=0.006$) kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olduğu saptanmıştır (Tablo 30).



şekil 19. Anne ocuk *Streptococcus mutans* geçişi değerlendirildiği grupta anne ve ocukların DMF-T ve df-t ilişkileri

Tablo 30. Anneden çocuğa *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği grupta anne ve çocukların yaş, df-t, DMF-T ile olan ilişkileri

	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22	t	p
Anne Yas (yıl)	26.67±4.42	24.82±3.14	1.49	0.145
Çocuk Yas(ay)	28.53±6.73	28.59±7.22	-0.02	0.981
Anne DMF-T	7.53±2.39	3.95±2.65	4.20	0.0001
Çocuk df-t	5.47±4.56	2.18±2.2	2.93	0.006

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuğun 4 kız(%26.7), 11 erkek(%73.3), Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen 22 çocuğun 13 kız(%59.1), 9 erkek(%40.9) olduğu tespit edilmiş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır (p=0.055) (Tablo 31).

Tablo 31. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen çocukların cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Kız	4	%26.7	13	%59.1	χ^2 :3.85
Erkek	11	%73.3	9	%40.9	p=0.055

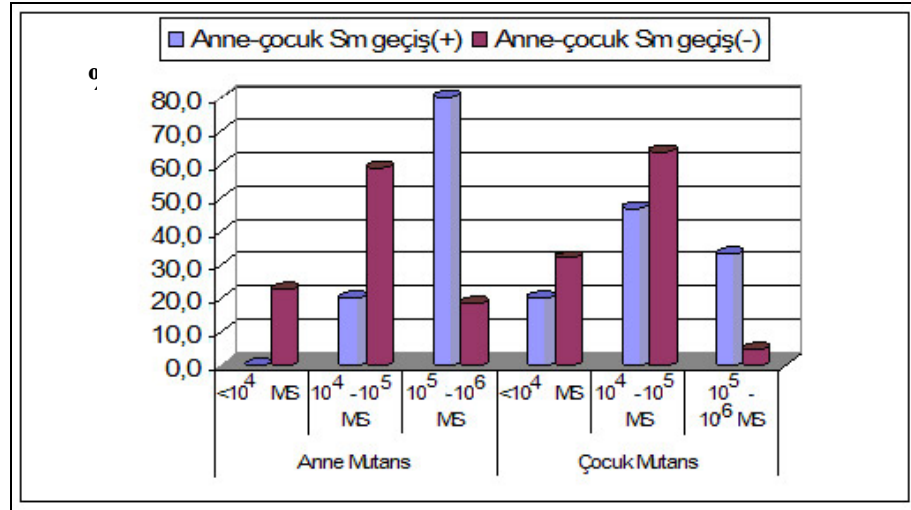
Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren grupta anne mutans streptokok miktarı 10^5 - 10^6 cfu/ml arasında olan 3(%20), mutans streptokok miktarı $>10^6$ cfu/ml olan 12 (%80) anne olduğu,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş göstermeyen grupta anne mutans streptokok miktarı 10^4 - 10^5 cfu/ml olan 5(%22.7), 10^5 - 10^6 cfu/ml olan 13(%59.1), $>10^6$ cfu/ml olan 4(%18.2) anne olduğu tespit edilmiştir.

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruplardaki annelerin mutans streptokok dağılımları incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gösterilmiştir ($p=0.001$) (Tablo 32, şekil 20).

Tablo 32. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki annelerin mutans streptokok miktarları arasındaki dağılım

Anne mutans streptokok Miktarı(cfu/ml)	Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
$<10^4$	0	%0.0	0	%0.0	
10^4 - 10^5	0	%0.0	5	%22.7	
10^5 - 10^6	3	%20.0	13	%59.1	$\chi^2:14.44$
$>10^6$	12	%80.0	4	%18.2	$p=0.001$



Şekil 20. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği grupta anne ve çocuk mutans streptokok dağılımı

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen çocukların mutans streptokok dağılımı incelendiğinde;

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren grupta mutans streptokok miktarı 10⁴-10⁵cfu/ml olan 3(%20) çocuk, mutans streptokok miktarı 10⁵-10⁶cfu/ml olan 7(%46,7) çocuk, 10⁶cfu/ml dan fazla olan 5(%33,3) çocuk olduğu,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen grupta ise mutans streptokok miktarı 10⁴-10⁵cfu/ml olan 7(%31,8) çocuk, 10⁵-10⁶cfu/ml olan 14(%63,6), >10⁶cfu/ml olan 1(%4,5) çocuk tespit edilmiş, gruplar arasında istatistikel olarak bir ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0.06) (Tablo 33, Şekil 20).

Tablo 33. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocukların mutans streptokok dağılımı

Çocuk mutans streptokok dağılımı (cfu/ml)	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
<10 ⁴	0	%0.0	0	%0.0	
10 ⁴ -10 ⁵	3	%20.0	7	%31.8	
10 ⁵ -10 ⁶	7	%46.7	14	%63.6	χ ² :5.47
>10 ⁶	5	%33.3	1	%4.5	p=0.06

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren gruptaki annelerin ağız hijyeni durumları değerlendirildiğinde; ağız hijyeni iyi anne olmadığı, orta seviyede olan anne sayısı 11(%73.3) kötü olan anne sayısının ise 4(%26,7) olduğu;

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen grupta ağız hijyeni iyi olan anne sayısı 9(%40.9), orta olan 13(%59.1) anne olduğu tespit edilmiş,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruplar arasında annenin ağız hijyeni açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (p=0.002) (Tablo 34, şekil 21).

Tablo 34. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki annelerin ağız hijyeni durumlarının değerlendirilmesi

Anne Ağız Hijyeni	Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
İyi	0	%0.0	9	%40.9	
Orta	11	%73.3	13	%59.1	$\chi^2:12.28$
Kötü	4	%26.7	0	%0.0	p=0.002

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocukların ağız hijyeni durumları incelendiğinde;

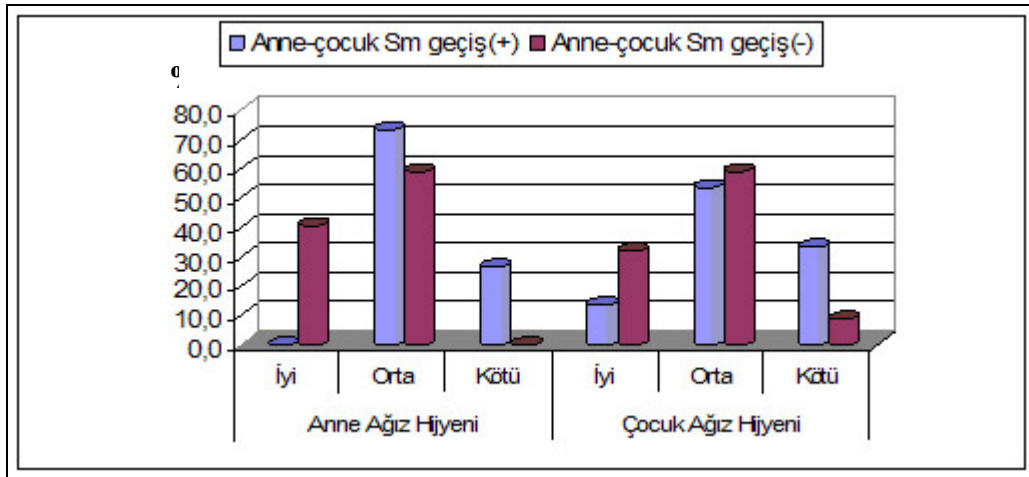
Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren gruptaki çocukların 2(%13,3) sinin ağız hijyeni iyi, 8(%53,3)' inin orta 5 (%33,3)'inin kötü olduğu,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen grupta ise ağız hijyeni iyi olan çocuk sayısı 7(%31,8), orta olan 13(%59,1), kötü olan ise 2(%9,1) çocuk saptanmıştır.

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren ve göstermeyen gruplar arasında çocuk ağız hijyeni açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir (p=0.130) (Tablo 35, Şekil 21).

Tablo 35. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocukların ağız hijyeni durumlarının değerlendirilmesi

Çocuk Ağız Hijyeni	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) N:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
İyi	2	%13.3	7	%31.8	
Orta	8	%53.3	13	%59.1	$\chi^2:4.07$
Kötü	5	%33.3	2	%9.1	p=0.130



Şekil 21. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki anne ve çocukların ağız hijyen durumları

Anne-çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren çocukların bakımını üstlenenler, anne, aile büyüğü, kreş ve bakıcı şeklinde gruplanarak incelendiğinde;

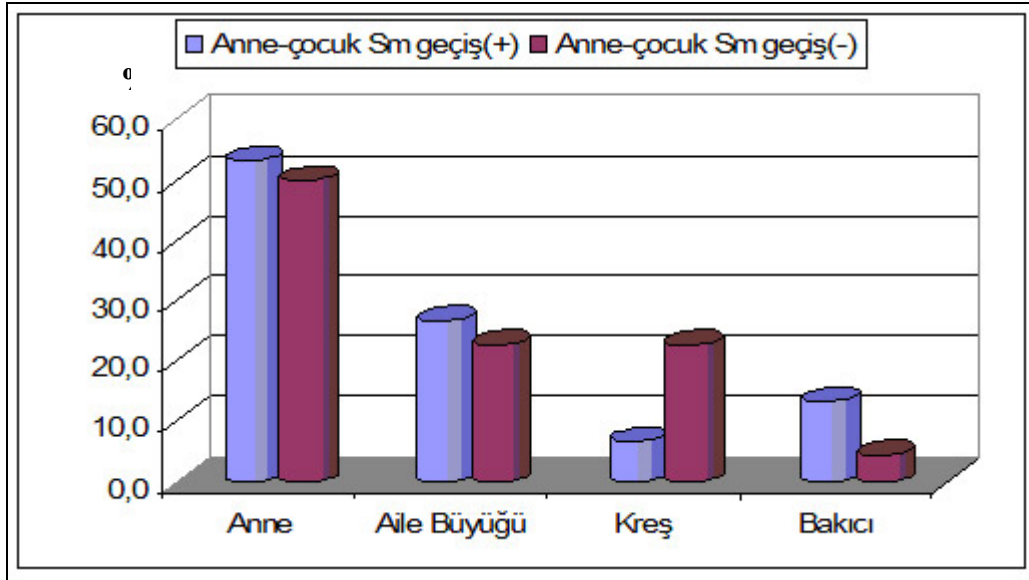
8'ine (%53.3) annesinin, 4'üne(%26,7) bir aile büyüğünün, 2'sine(%13.3) bakıcının baktığı, 1(%6.7)'e kreşte bakıldığı,

Anne çocuk *streptococcus mutans* geçiş göstermeyen gruptaki çocukların 11(%50)'ine annesinin baktığı, 5(%22.7)'e aile büyüğünün baktığı, 5(%22.7)'in kreşte, 1(%4.5)'in ise bakıcı tarafından bakıldığı tespit edilmiştir.

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen grupların bakıcılar açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır $p=0.504$ (Tablo 36, Şekil 22).

Tablo 36. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocukların bakıcılarına göre dağılımı

Çocukların Bakımı	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Anne	8	%53.3	11	%50.0	
Aile Büyüğü	4	%26.7	5	%22.7	
Kreş	1	%6.7	5	%22.7	$\chi^2:2.34$
Bakıcı	2	%13.3	1	%4.5	$p=0.504$



Şekil 22. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocukların bakıcılarına göre dağılımı

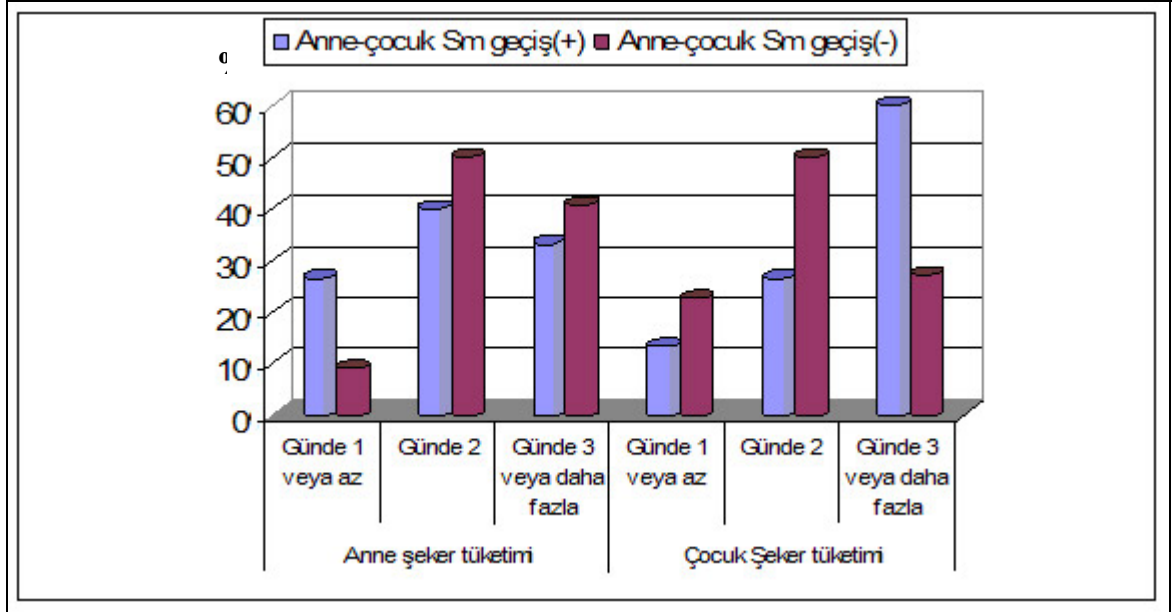
Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuğun annelerinin şeker tüketimleri incelendiğinde;

4(%26,7) annenin günde 1 veya daha az , 6(%40) annenin günde 2 kez, 5(%33.3) annenin günde 3 veya daha fazla tükettiği,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen gruptaki annelerin 2(%9.1)'si günde 1 veya daha az 11(%50)'i günde iki kez, 9(%40.9)'u da 3 veya daha fazla şeker tüketmektedir. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruptaki annelerin şeker tüketimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.363$) (Tablo 37, Şekil 23).

Tablo 37. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki annelerin şeker tüketimi ile olan ilişkisi

Anne Şeker Tüketimi	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Günde 1 veya az	4	%26.7	2	%9.1	
Günde 2	6	%40.0	11	%50.0	χ^2 :2.02
Günde 3 veya fazla	5	%33.3	9	%40.9	P=0.363



Şekil 23. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki anne ve çocukların şeker tüketimi ile olan ilişkisi

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuk günlük şeker tüketimlerine göre incelendiğinde;

2(%13.3) ocuğun günde 1 defa veya daha az, 4(%26.7) ocuğun günde 2 defa, 9(%60.0) ocuğun da günde 3 veya daha fazla tükettiği,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen grupta 5 çocuğun günde 1 veya daha az, 11 çocuğun günde 2 kez, 6 çocuğunda günde 3 veya daha fazla şeker tükettiği tespit edilmiş,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır ($p=0.137$) (Tablo 38, şekil 23).

Tablo 38. Anne ocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocukların şeker tüketimi ile olan ilişkisi

ocuk şeker Tüketimi	Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Günde 1 veya az	2	%13.3	5	%22.7	
Günde 2	4	%26.7	11	%50.0	$X^2:3.97$
Günde 3 veya fazla	9	%60.0	6	%27.3	$P=0.137$

Anne ocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren gruptaki çocuklar florid tableti kullanıp kullanmadıklarına göre dağılımları incelendiğinde;

8(%53.3) ocuğa florid tablet verildiği, 7(%46.7) ocuğa ise verilmediği,

Anne ocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen gruptaki 12(%54.5) ocuğun florid tableti kullandığı, 10(%45.5) ocuğun ise kullanmadığı tespit edilmiştir.

Anne-ocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren ve göstermeyen gruptaki çocukların florid kullanımına göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p=0.942$) (Tablo 39).

Tablo 39 Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocuklarda florid kullanımı

Florid Tablet Kullanımı	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Florid (+)	8	%53.3	12	%54.5	X ² :0.05
Florid (-)	7	%46.7	10	%45.5	P=0.942

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren gruptaki annelerinin yemeğin tadına bakarak verme alışkanlıkları değerlendirildiğinde;

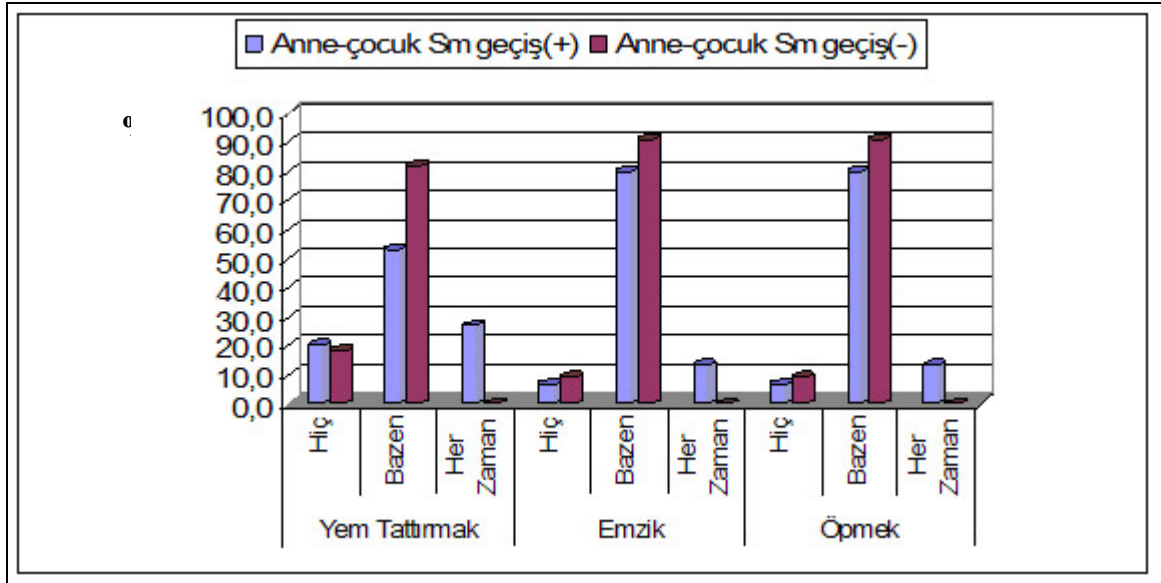
3(%20.0) annenin hiç bir zaman, 8(%53.3) annenin bazen 4(%26.7)annenin ise her zaman böyle bir alışkanlığa sahip olduklarını belirttikleri,

Anne-çocuk *Streptococcus mutans* geçişi göstermeyen gruptaki 48(%18.2) annenin hiçbir zaman, 18(%81.8)'in bazen tattığı tespit edilmiş,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren ve göstermeyen gruplar karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0.032) (Tablo 40, Şekil 24).

Tablo 40 Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocuklarda annenin yemeği tadına bakarak verme alışkanlığı

Yemeği Tatmak	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Hiç	3	%20.0	4	%18.2	
Bazen	8	%53.3	18	%81.8	χ^2 :6.91
Her Zaman	4	%26.7	0	%0.0	P=0.032



Şekil 24. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki annelerdeki davranış şekilleri

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren gruptaki annelerin emziği temizlemek veya biberon ıslısını kontrol etmek amacıyla ağızına götürme alışkanlığı incelendiğinde; emzik ve biberonu ağızına hiç götürmeyen 1(%6.7), bazen götüren 12(%80.0), her zaman bunu yapan anne sayısının da 2(%13.3) olduğu görülmüş,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş göstermeyen grupta ise annelerin 2(%9.1) sinin hiç emzik veya biberonu kontrol etmediği, 20(%90.9)'sinin bazen kontrol ettiği saptanmış,

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen grupların aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.210$) (Tablo 41, Şekil 24).

Tablo 41 Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki çocuklarda annenin emzik ve biberon kontrolü

Emzik ve biberon kontrolü	Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-çocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Hiç	1	%6.7	2	%9.1	
Bazen	12	%80.0	20	%90.9	$\chi^2:3.12$
Her Zaman	2	%13.3	0	0.0%	$p=0.210$

Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren gruptaki annelerin çocuğu ağızdan öpme alışkanlığı değerlendirildiğinde;

1 (%6.7) annenin böyle bir alışkanlığı olmadığı, 12(%80.0) annenin bazen, 2 (%13.3) annenin de her zaman bunu yaptığı,

Anne ocuk *streptococcus mutans* geçişi göstermeyen gruptaki annelerin 2(%9.1)'nin hiç pmediği, 20 (%90.9)'nin ise bazen öptüğü saptanmıştır.

Anne ocuk *streptococcus mutans* geçişi gösteren ve göstermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir (p=0.210). (Tablo 42, şekil 24).

Tablo 42. *Streptococcus mutans* geçişinin değerlendirildiği gruptaki annenin çocuğu ağızdan öpme alışkanlığı

ocuğu Ağızdan pme Alışkanlığı	Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (+) n:15		Anne-ocuk <i>Streptococcus mutans</i> Geçiş (-) n:22		
Hiç	1	%6.7	2	%9.1	
Bazen	12	%80.0	20	%90.9	$\chi^2:3.12$
Her Zaman	2	%13.3	0	%0.0	p=0.210

7.TARTIŞMA

Diş çürüğü insanların, ağız diş sağlığını ve genel sağlıklarını etkileyen, büyük bir problem oluşturan, yaygın bir enfeksiyöz hastalıktır ve günümüzde de temel bir sağlık problemi olarak hala önemini korumaktadır.

Türk Diş Hekimleri Birliğinin verilerine göre (www.tdb.org.tr); ülkemizde 6 yaş grubunda süt dişi dizisinde çürük diş oranı %83'tür. Ayrıca daimi dişlenme döneminde olan 12–13 yaş grubunda ise her 100 çocuktan 84'ünün dişlerinde çürük bulunmaktadır.

İşte tüm bu ülke gerçekleri karşısında; *Streptococcus mutans*'ın anne başta olmak üzere diğer aile bireyleri ve bakıcılarından çocuğa geçişini göstererek ve bunun diş çürüğü ile olan ilişkisi bilincinin topluma verilmesi ile bu tabloyu değiştirebilecek koruyucu önlemlerin alınmasını sağlamak çalışmamızın başlıca amaçları arasında yer almaktadır.

Gelişmekte olan batı ülkelerinde son 20–25 yıldır diş çürüğü prevalansında hızlı bir düşüş görülmesine rağmen, bazı bireylerde yüksek çürük aktivitesi bulunması, bazılarında ise hiç diş çürüğünün bulunmaması nedeniyle bu konudaki çalışmalar devam etmektedir (140).

Erken çocukluk döneminde diş çürüğünün daha sık görülmesi sebebiyle, hastalık etkeni mikroorganizmaların kaynağı, aktarımı ve virulans faktörleri ile ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır (3-5,7,13,18,22,33,37,38,46,56).

İnsanlarda diş çürüğünü oluşturan en önemli bakteri *Streptococcus mutans*'tır ve hastalık oluşturan bir bakterinin tüm özelliklerine sahiptir (131). Diş çürüğü prevalansı ile *Streptococcus mutans* seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu, eliminasyonu ile hastalığın ortadan kalktığı gösterilmiştir (7,12,33,155).

Farklı topluluklarda yapılan çalışmalarda mutans streptokok düzeyleri de farklılıklar olduğunu göstermektedir. Örneğin; Amerikalı 0-4 yaş arası 53 çocuğun % 74'ünde, Hawaili 55 çocuğun %90'ında, Kanadalı 104 çocuğun %97'sinde, Japon 0-4 yaş arası 22 çocuğun %82'sinde, Çinli okul öncesi 242 çocuğun %58'inde *Streptococcus mutans*'ın varlığı belirlenmiştir.(94) Yetişkinlerde de, örneğin Suudi Arap 217 bireyin %76'sında ve Mozambikli 462 bireyin %82'sinde mevcudiyeti belirlenmiştir. *Streptococcus mutans* düzeyindeki bu farklılıkların, örnek alma bölgesi, kültür metodları, florid kullanımı, yeme alışkanlıkları, aile içi davranış farklılıkları, sakaroz kullanım oranı ve bağışıklık sistemi gibi çeşitli kompleks faktörlerden kaynaklanarak değişebileceği şeklinde değerlendirilmiştir (56).

Araştırmamızda 44 anne ve 51 çocukta alınan 95 plak örneğindeki mutans streptokok varlığının belirlenmesi için yapılan sayım sonuçlarına göre; plak örneği alınan çocukların %72.54'ünde, annelerin ise %95.45'inde *Streptococcus mutans* varlığı belirlenmiştir.

van Houte ve ark. (143), ağızlarında çürük olmayan çocukların % 59'unda ve çürük olan çocukların %96'sında *Streptococcus mutans* mevcudiyetini belirlemişlerdir. Araştırmamızda dişlerinde çürük olmayan çocukların %40'ından mutans streptokok izole edilirken dişlerinde çürük olan çocukların %93.54'ünden *Streptococcus mutans* izole edilmiştir. Bu bulgular yapılan diğer çalışmalar da uyumluluk göstermektedir (7,21,56,82,143).

Araştırmamızda ağızlarında çürük olmayan 20 çocuğun Dentocult® SM ile mutans streptokok miktarının yoğunlukla 10^4 cfu/ml den az olduğu, 12(%60) çocukta mutans streptokok miktarının 10^4 cfu/ml den fazla olduğu, 4(%20) çocukta 10^4 – 10^5 cfu/ml arasında, 4(%20) çocukta ise 10^5 – 10^6 cfu/ml olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çok çalışma, tükürükteki yüksek mutans streptokok düzeylerinin (10^5 – 10^6 cfu/ml) yeni bir çürük lezyonu oluşma ihtimali olduğunu desteklemektedir (21,22,34,36,38,44,59).

Erken safhada özellikle çocuklarda bunun izlenmesi muhtemel bir çürük lezyonu oluşmasını engellemek açısından önemlidir. Ancak tükürükteki mutans streptokokların sayısının risk oluşturduğu düzey, topluluktan topluluğa değişebilmektedir (59).

Araştırmamızda çürük seviyesi yüksek çocuklarda mutans streptokok düzeyinin de yüksek olduğu gösterilmiştir. Klock ve ark. (74), yaptıkları çalışma; ağızlarında yüksek sayıda mutans streptokok ve laktobasil bulunan çocukların bir iki yıl içerisinde ağızlarında çok fazla yeni çürük lezyonları oluşacağını göstermektedir. Bu bulgular araştırmamızın bulgularını destekler niteliktedir.

Tükürük ve plak örneklerindeki mikrobiyolojik tetkikler geleneksel yöntemlerle mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılmaktadır. Bu yöntem, örneklerin taşınması ve üretilmesi açısından çeşitli zorluklar içermektedir. Fakat son yıllarda hasta yanında ölçüme imkan kılan pratik (chairside) metodlar geliştirilerek bu zorluğun önüne geçilmiştir (68).

Bu testlerin hepsi mitis salivarius besi yerinde basitrasın ilavesi ile diğer oral streptokok türlerini inhibe ederek sadece mutans streptokok'ların üremesi esasına dayanır. Besi yeri üzerinde üreyen mutans streptokok miktarları tükürükte bulunan mutans streptokok miktarlarını yansıtır. Günümüzde mutans streptokok tayininde yaygın olarak kullanılan çeşitli kitler mevcuttur. Bunlardan bazıları Caries Screen SM: Apo Diagnostics, Toronto Canada (69), Dentocult® SM Strip mutans'dır: Orion Diagnostica Espoo Finland (7,14,21,27,68,82,85,143).

Araştırmamızda mutans streptokok değerlerinin tespitinde Dentocult® SM Strip mutans metodu kullanılmıştır.

Shi ve ark. (127), farklı hasta yanında uygulanan çürük aktivite testini karşılaştırmışlar Dentocult® SM Strip mutans'ın en duyarlı metod olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacı 3-5 yaşlarında çocukların çürük aktivitelerini değerlendirdiğinde Dentocult® SM Strip mutans'ın mutans streptokok sayımında duyarlı bir metod

olduğunu belirtmiştir Dentocult® SM Strip Mutans'ın diş ara yüzlerinden, approximal bölgelerden alınan numunelerle tükürükten daha başarılı sonuç verdiğini belirtmişlerdir.

Şimdiye kadar yapılan insan ve hayvan çalışmalarında mutans streptokokların ağız içerisindeki yayılımı için tükürükte yüksek konsantrasyonda bulunmaları gerektiği ($>10^4$ cfu/ml), mutans streptokokları içeren veya mutans streptokokları içermeyen bir ağız mikrobiyotası oluştuğunda bu florayı değiştirmenin oldukça güç olduğu bildirilmektedir (29,56,94,142).

Emanuelsson ve ark. (44), aynı ağız boşluğunun farklı bölgelerinde mutans streptokoklarının ısrarcı kolonizasyonunu inceledikleri çalışmalarında kürdanla aldıkları plak numunelerini Dentocult® SM ile kültive edilmiştir.

Lindquist ve ark. (90), yaptığı çalışmada ayrı ayrı dişlerden alınan plak örnekleri ile tükürük örneklerindeki mutans streptokok düzeyinin, enfekte diş sayısı artan bireylerin tükürüklerinde de arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte bu sayının tükürükte artması ile dil üzerinde artması arasında da bir korelasyon bulunmuştur.

Hayvanlarda da karyojenik floranın erken dönemde oluşması ileriki dönemde diş çürüğünün gelişeceğini göstermektedir (71).

Streptococcus mutans, ağız ortamında bebeklerin dişlerinin sürmesinden önce ya geçici olarak bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadır. Çünkü bu bakterilerin kolonize olması için diş yüzeyi gibi sert dokuların olması gerekmektedir (20,22,31,34).

İnsanlarda süt dişlenme döneminde karyojenik mikroorganizmaların mevcudiyeti ve miktarı bu kritik dönemdeki çürük oluşumu ile daimi dişlenme döneminde çürük insidansının ilişkisi içinde olduğunu göstermektedir (8,156).

Annelerin bebeklerine oral mikroorganizmaları bulaştırmada primer kaynak olduğu düşüncesi ilk kez 1960 yılında Keyes 'in laboratuvar hayvanları üzerinde yaptığı çalışmalar sonucu ortaya atılmıştır (71). Daha sonraki araştırmalarda ve moleküler genetik tekniklerdeki son yeniliklerle birlikte epidemiyolojik işaretleyici olarak plazmid DNA'yı kullanmak suretiyle anne ve çocuklardaki suşların benzerliği gösterilmiştir (18,21,37,82).

Araştırmamızda bireylerden alınan plak örnekleri vortekslenip seyreltme işlemleri yapılmış ve TYCSB (Trypticase-yeast-cysteine-sucrose-bacitracin) seçici agar da %5CO₂ içeren etüvde 37°Cde inkube edilmiştir. Yapılan araştırmalarda tükürük veya plak örneği kullanılması arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (94,148).

Streptococcus mutans'ın izolasyonunda en çok kullanılan iki seçici besiyeri MSB (Mitis Salivarius-Bacitracin Agar) ve TYCSB agardır (59,125,134,135) Bu iki besiyeri ile ilgili yapılan karşılaştırma çalışmalarında bazı araştırmacılar MSB agar içerisindeki trypan mavisinin bir çok *Streptococcus mutans* suşunu inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (56).

Wade ve ark. (150), TYCSB ağarın MSB agara oranla daha fazla *Streptococcus mutans* eldesini sağladığını belirtmektedir. Buna karşılık, plak ve tükürük örneklerinden mutans streptokokların izolasyonunda, MSB agar ve TYCSB ağar arasında önemli bir istatistiksel fark olmadığı çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (14,134).

Araştırmamızda 95 mikrobiyal dental plak örneğinin TYCSB ağara yapılan ekimleri sonucunda Dentocult® SM ölçümlerine paralel 37 muhtemel mutans streptokok izolasyonu yapılmıştır. *Streptococcus mutans* 'ın izolasyonunda TYCSB agar seçici besiyeri olarak kullanılmıştır.

Mutans streptokoklarının geçişini sınıflamak için kullanılan metotlar günümüze kadar kronolojik sırasına göre; Serotipik Sınıflandırma, Bakteriyosin Tiplendirmesi, Plazmid Tiplendirmesi ve Kromozomal DNA Parmak İzi Çıkarılması ile Restriksiyon Endonükleaz Analizi, AP-PCR (Arbitrarily Primed- Polimerase Chain Reaction) gibi

bir çok metod denenmiştir. İlk üç method sadece az sayıda türü tanımlayabilmekte olduğu ve geçişi gösterebilmek için yeterli hassasiyete sahip olmadığı gösterilmiştir (9,17,151).

Bu genotipleme metodlarına göre AP-PCR (Arbitrarily Primed-Polimerase Chain Reaction) daha kolay ve hızlıdır. Bu metodun en büyük avantajı, hedef bakteri türünün DNA dizisi ile ilgili ön bilgi gerektirmez. Ayrıca çalışmalar AP-PCR'ın mutans streptokok klonlarının ayırt edilmesinde ayrı bir yeteneği olduğunu göstermektedir (121,122).

Genomik DNA izolasyonunun uygulandığı çalışmamızda Manz ve ark.(99)'ın uyguladığı DNA izolasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile genomik DNA izolasyon işleminde lizozim enzimi kullanılarak hücre çeperinin daha iyi parçalanması ve safsızlıkların giderildiği ilave basamakların olması nedeniyle elde edilen DNA'nın PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) işlemleri başarılı olmuş ve AP-PCR (Arbitrarily Primed-Polimerase Chain Reaction işlemlerinde de bu DNA'lar kullanılmıştır. Gram pozitif bakteriler gram negatiflere göre daha kalın bir peptidoglikan tabakası içermektedir. Peptidoglikan tabakası içinde bulunan N-asetil glukoz amin (NAG) ve N-asetil muramik asit (NAM) amino şekerleri kendi aralarında çapraz bağlar ile birbirlerine bağlanmıştır (95) ve peptidoglikan tabakası gram pozitif bir bakterinin hücre çeperinin %90'nını oluşturmaktadır. Bu sağlam yapı içerisindeki çapraz bağlar lizozim enzimi ile hidrolize olmaktadır. Bu da genomik DNA izolasyonunda hücre çeperinin parçalanması işlemi sırasında lizozimi uygun bir reaktif haline getirmektedir (99). Bu enzimin kullanıldığı DNA izolasyon metodu çalışmamızda yeterli sonuçlar vermiştir.

Emanuelsson ve ark. (44), aynı ağız boşluğunun farklı bölgelerinde mutans streptokoklarının ısrarcı kolonizasyonunu inceledikleri çalışmalarında kürdanla aldıkları plak numunelerini Dentocult® SM ile kültive etmiş ve daha sonra burada elde ettiği kolonilerden türlerin PCR ile tanımlanmasından sonra RAPD (Random amplified polymorphic DNA) analizi ile genotipleme yapmıştır

Araştırmamızda annelerinden çocuklara *Streptococcus mutans*'ın geçişini izlemek için AP-PCR tekniği kullanılmıştır. Bu amaçla 96 izolata ve referans suş olarak kullanılan *Streptococcus mutans* NCTC 10449'a ait genomik DNA'lar OPA5 primeri kullanılarak PCR ile amplifiye edilmişlerdir.

Tüm izolatların amplifikasyonundan önce AP-PCR optimizasyonu yapılmıştır. Mg^{+2} , primer ve DNA konsantrasyonu, termal döngü koşulları ve kullanılan taq polimerazın tipi ve konsantrasyonu gibi etmenler PCR sonuçlarını etkilemektedir. Özellikle farklı polimeraz enzimlerinin optimum amplifikasyon için gerek duyduğu Mg^{+2} konsantrasyonu farklı olmakta ve çalışma öncesi bunun belirlenmesi gerekmektedir (11).

Araştırmamızda izolatların genomik DNA'ları amplifiye edilmeden önce Mg^{2+} konsantrasyonu optimize edilmiştir. Bunun için sırasıyla 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 ve 4.5mM'lık Mg konsantrasyonları denenmiş ve optimum amplifikasyonun 4,0mM'lık Mg^{2+} konsantrasyonunda gerçekleştiği belirlenmiştir.

Araştırmamızda annelerden çocuklara geçişi araştırmak için kullanmış olduğumuz OPA 5 primeri Saarela ve ark.(122), yapmış oldukları AP-PCR ile mutans streptokokların tiplendirilmesi çalışması sonuçlarına göre seçilmiştir. Bu araştırmacılar mutans streptokokların tiplendirilmesi için (*Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*) AP-PCR'ın ayırteci potansiyelini 10 farklı OPA primerini kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonunda OPA5 ve OPA 13 primerlerinin MS izolatlarınm ayırt edilmesinde en uygun primerler olduğunu belirlemişlerdir. Sonuçta da ribotiplendirme çalışmaları ile uygunluk gösteren AP-PCR'ın, MS klonları arasındaki farkı ayırt etmede uygun bir metot olduğunu tesbit etmişlerdir. Ayrıca hızlı bir PCR protokolünün, çok fazla mutans streptokok izolatu ile yapılan epidemiyolojik çalışmalarda uygun bir metot olduğunu da vurgulamışlardır.

Aile içi veya anne çocuk geçişinin incelendiği çalışmalarda bir grup Amerikan ailede anne ve çocuğun %71 nin aynı genotipi taşıdığı (87), İsviçreli bir grup ailede anne çocuğun %23 nün aynı genotipe sahip oldukları ve babadan hiç genotip alınmadığı gösterilmiştir(116)

Kozai ve ark. (79) tarafından yapılan bir çalışmada ise çocukların babalarıyla %31.4 aynı genotipi taşıdıklarını göstermeleri; anne, baba ve çocuk ilişkilerindeki kültürel farklılıklardan kaynaklanabilir.

Araştırmamızda anne çocuk geçişi, 44 aileye ait bireylerden izole edilen *Streptococcus mutans* AP-PCR ürünlerinin DNA parmak izlerinin aynı olup olmamasına göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme görsel olarak yapılmıştır. Toplam 37 anne-çocuk ikilisi arasından 15(%40.54)'inde benzerlik bulunmuştur. Bu bakteriyi, anne-çocuk ikilisinde çocukların 15'inin annesinden, aldığı ortaya çıkmaktadır.

Araştırmamızda anneden çocuklara geçiş inceleneceği için sadece çocuklarında mutans streptokok izolasyonu yapılan anneler daha sonraki değerlendirmelere alınmış ve 95 izolat içerisinde 37 izolat anne çocuk geçiş açısından değerlendirilmiştir

Mutans streptokokları ile kolonize olan ve çocuğunu beslerken ve yetiştirirken en sıkı teması kuran annenin çocuğuna *Streptococcus mutans* geçisine sebep olan en önemli kaynak olduğu düşünülmektedir. Yüksek miktarda *Streptococcus mutans* kolonizasyonuna sahip kardeşler, aile büyükleri ve çocuğa bakan diğer kişiler gibi diğer potansiyel kaynakları da unutmamak gerekir.

Bir çok çalışmada anne ve çocuk mutans streptokok değerleri arasında bir korelasyon gösterilmektedir. Bu çalışmalara topluca bakıldığında annenin yalnızca çocuğu için bulaştırıcı kaynak olmadığı; aynı zamanda mutans streptokok seviyesinin çocuğundaki kolonizasyonun sebebi olduğu gösterilmektedir (34,41,54,81,87,123).

Streptococcus mutans'ın çocuklara geçişinde ağızlarında yüksek oranda bu bakteriyi içeren diğer bireyler ile yakın temasın etkili olduğu gösterilmektedir (136,142).

Berkowitz ve ark. (21)'ın yaptığı bir çalışmada, ağızlarında 10^5 cfu/ml düzeyinde mutans streptokok bulunan annelerin çocuklarında bu bakteriye rastlanma olasılığının arttığı gösterilmiştir

Buna benzer olarak Thorild ve ark.(141), yaptıkları çalışmada anne-çocuk ikilisinin ağızlarındaki mutans streptokok sayıları arasında pozitif bir korrelasyon olduğunu göstermişlerdir. Yine anne-çocuk ikilisi üzerinde yapılan bir diğer araştırmada ise annelerin, dişeti hastalıklarına sebep olan organizmaları çocuklarına geçiren enfeksiyonun kaynağı oldukları belirtilmiştir (123).

Bizim çalışmamızda da ağızlarından mutans streptokok izole edilen çocukların annelerinin % 8.6'sında mutans streptokok izole edilemezken, % 22.4'ünde 10^4 cfu/ml , % 28.6'inde 10^5 cfu/ml, % 25.8'inde 10^5 - 10^6 cfu/ml ve %14.6 inde 10^6 cfu/ml düzeyinde mutans streptokoku izole edilmiştir. Burada mutans streptokok'ın 10^5 ve özellikle 10^6 cfu/ml tükürük düzeyi bu ebeveynleri muhtemel birer enfeksiyon kaynağı yapmaktadır. Araştırmamızda da ağızlarında mutans streptokok bulunan çocukların %24'ünün annesinin ağzında 10^6 cfu/ml düzeyinde mutans streptokok bulunmuştur.

Buna karşılık ağızlarından mutans streptokok izole edilmeyen çocukların, annelerinin %7.4'ünde 10^6 cfu/ml düzeyinde mutans streptokok varlığı belirlenmiştir. Nitekim, ağızlarından mutans streptokok izole edilmeyen çocukların annelerinin % 24.5 inde bu bakteri izole edilemezken, aynı oranda annede 10^4 , %17.6 inde 10^5 , %49'inde 10^5 - 10^6 ve %8.9 unda 10^6 cfu/ml düzeyinde tespit edilmiştir.

Grönroos ve ark. (54), 19 anne ve çocuğundan aldıkları tükürük ve mikrobiyal dental plak örneklerinden izole ettikleri mutans streptokokların mutasin aktivitelerini 14 indikatör suş üzerinde incelemişler ve *Streptococcus mutans* izolatlarının *Streptococcus sobrinus* izolatlarından daha fazla inhibitör etkisi olduğunu belirlemişlerdir. İzolatlar üzerinde yapılan ribotiplendirme çalışmalarından sonra aynı ribotipi veren suşların mutasin aktivite profillerinin de aynı olduğunu belirlemişlerdir. 6 çocuktan mutans streptokokları izole edilmezken 20 anne-çocuk ikilisinden 9'unun benzer ribotip ve bakteriyosin (mutasin) tipi gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca benzerlik olan izolatların mutasin aktivitelerinin, olmayanlardan yüksek olduğu da belirlemişlerdir.

Daha önceki çalışmalarda biberon çürüklü çocuklarda sağlıklı çocuklara göre *Streptococcus mutans*'ların çok daha fazla genetik çeşitliliğinin olduğu gösterilmiştir. Fakat *Streptococcus mutans*'ın çürük aktivitesi ve genetik yatkınlığı arasındaki pozitif ilişki hala tartışmalıdır (9,108).

Alaluusua ve ark.(6) sukroz tüketimi yüksek olan aktif çürüklü çocuklar ve çürüksüz çocukları karşılaştırdıkları çalışmalarında; mutans streptokokların çok yüksek ribotip farklılıklar taşıdığını belirtmişlerdir

Kreulen ve ark. (83), çürük aktivitesi ve genotip çeşitliliği arasında negatif ilişki bulmuştur.

Son zamanlarda yapılan genç erişkin çalışmalarında Redmo ve ark. (44) geçmişte çürük deneyimi olan deneklerde maksimum 7 genotip bulunmuştur. Bizim araştırmamızda AP PCR yöntemiyle 6 genotip bulunmuştur.

Çocukların farklı yaşlarda mutans streptokokların'ın 1 den 5' e kadar farklı genotiplerini barındırdıkları gözlenmiştir (6,34,44,54,79,103).

Çocukların ağız boşluğundaki dört farklı örnek alma bölgesindeki (tükürük, dil dorsumu, alveolar ridge mukozası, mikrobiyal dental plak mutans streptokokların genotip farklılıklarının homojen olduğu gösterilmiş, fakat mikrobiyal dental plaktan izole edilen mutans streptokok suşlarının ve genotiplerinin daha fazla olduğu görülmüştür (73).

Ersin ve ark. (48), bir grup Türk ailesindeki *Streptococcus mutans* geçişini 8 anne, 8 baba ve 2-3 yaşları arasında 8 çocuğu inceledikleri çalışmalarında *Streptococcus mutans* genotiplerinin tümünün anne, baba ve çocukta geçişinin gerçekleştiğini, tüm anne ve babaların aynı genotipi paylaşmasının da eşler arasındaki horizontal geçişi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kocabaş ve ark.(76), Türk çocuklarında *streptococcus mutans*'ın kolonizasyonu ve vertical geçişini değerlendirdikleri çalışmalarında 25 çocuktan 6(%24)'sının annesiyle, 12 çocuktan 2(%16.6)'sinin babalarıyla aynı genotipleri taşıdıklarını göstermişler, ve hiç bir anne ve babanın aralarında aynı genotipi paylaşmadığını belirtmişlerdir.

Mattos ve ark. (103) yaptıkları bir çalışmada; aile ilişkisi olmayan, Brezilya da aynı kreş'e giden 24 çocuktan alınan numunelerin AP-PCR ile genotiplemesi yapılmış ve %29'unun 2 veya daha fazla genotip taşıdığı ve benzer *Streptococcus mutans* genotipi kolonizasyonuna sahip olduğunu ve horizontal geçişin olasılığını bildirmişlerdir.

Redmo ve ark. (116) yaptıkları bir çalışmada çocuklardan izole ettikleri mutans streptokokların, ebeveynlerinininki ile aynı genotipe sahip olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmalarında bir kız çocuğunun annesi ile bir erkek çocuğunun babası ile aynı genotipe sahip mutans streptokok içerdiğini belirlerken bir çocuğunda ebeveynleri ile aynı olmayan bir mutans streptokoka sahip olduğunu belirlemişlerdir. İzolatların birbiriyle aynı olup olmadığını belirlemek için ise REA metodunu kullanarak DNA parmak izini değerlendirmişlerdir.

Mutans streptokoklarının ilk geçiş ve kolonizasyon zamanında yapılan çalışmalarda tespit edilen genotiplerin stabilitesi hakkında çok az sayıda kaynak bulunmaktadır.(7) Daha önceki çalışmalar erken dönemde rastlanan genotiplerin ilerleyen yıllarda tespit edilememesine rağmen mutans streptokok suşlarının ağızdaki erken kolonizasyonunun uzun yıllar stabil kaldığını belirtmişlerdir (6,44,129).

Klein ve ark. (73), çocuklarda toplam 52 farklı genotip tanımladıklarını fakat anneler bunlardan en fazla 16 tanesini geçirebildiğini söylemiştir. Buna rağmen en stabil ve ısrarcı olan genotiplerin anneden alınanlar olduğu belirtilmiştir.

Daha önceki bazı çalışmalarda *Streptococcus mutans*'ın genetik çeşitliliği sağlıklı ve biberon çürüğü olan çocuklarda gösterilmiştir (8,83).

Kreulen ve ark. (83) aynı aile içerisindeki biri biberon çürüklü biri çürüksüz kardeşleri kapsayan 7 ailede yaptıkları çalışmada, çürük aktivitesi ve genotip çeşitliliği arasında ters ilişki olduğunu bildiren Alaluusua ve ark. (8) farklı olarak aktif çürüklü çocuklarda, çürüksüz çocuklara göre daha fazla genotip çeşitliliği görülmüştür.

Çok sayıda genotipin ve yoğun kolonizasyonun nedeni fermente edilebilir karbonhidratların sık tüketilmesinin sonucu olabileceği ve çürük riskinin artması için potansiyel bir tehlike olabileceğini bildirmişlerdir (6).

Bu seçici kolonizasyonla ilgili bir açıklamada anneye ait genotiplerin başarılı kolonizasyonuna karşı gösterilen doku cevabı kolonizasyon yapma olasılığı az olan diğer genotiplerin kolonizasyonu ile karışmaktadır. Mutans streptokoklarının tükürükle geçişi sırasındaki kontağı bakteriyel antijenlere sıklıkla maruz kalır ve tükürük IgA antikorlarının mutans streptokoka karşı aktivasyon mekanizması, sukroza bağımlı olan ve olmayan ataşmanların diş yüzeyindeki birikimlerine ve metabolik aktiviteleri engellemeyi içerir (120).

Alaluusua ve ark. (6) aynı ailenin fertleri arasında izole edilen mutans streptokok suşları arasında çok yüksek benzerlik olduğunu tespit edip hem vertikal hem horizontal geçişi göstermiş ve erken elde edilen suşların genç erişkinliğe kadar kalan ısrarcı mutans streptokok kolonizasyonunu bildirmişlerdir. Ayrıca izole edilen suşların genetik parmak izleri ve benzer GTF'ye (glukosiltransferaz) sahip oldukları gösterilmiştir.

Birçok çalışma annelerin çocuklarına mutans streptokokların geçişi için esas kaynak olduğunu ve annenin kötü ağız hijyeni ve beslenme alışkanlıklarının anneden çocuğa geçiş olasılığını artırdığını bildirmektedir. Üstelik bazı bilgiler erişkinden çocuğa tükürük transferine neden olabilecek eşyaların ve yiyeceklerin paylaşılması, emzirme, annenin yanında uyuma gibi yakın temas durumları gibi çocuk yetiştirme alışkanlıklarının enfeksiyon ve kolonizasyon ile ilişkili olduğunu göstermektedir. (19,54,103) Yüksek risk gruplarındaki hamilelerden düşük risk grubundakilere göre daha çok *Streptococcus mutans* izole etmişlerdir. Bu da hamilelerin ağız hijyeninin sağlanmasının önemini göstermektedir. Eğer anneler hamileliklerinde kendi çürük

risklerini azaltarak, beslenmelerine daha çok dikkat edip, profesyonel diş fırçalama eğitimi alıp, iyi ağız hijyeni sağlayıp, karyojenik bakterinin geçişini önleyebilir veya geciktirebilirler (34).

Çocuğun ağız boşluğunda 6 aydan 18 ay'a kadar birçok değişiklikler olmaktadır. Süt dişlerinin büyük bir çoğunluğunun sürmesi ve diğer lokal büyüme ve gelişme faktörleri gerçekleşir. Çocuk biraz daha büyüdüğünde bir süre için süt dentisyonda bir stabilizasyon görülür ve beslenme davranış şekilleri yerleşir (34,108). Caufield ve ark. (34) 19–31 aylar arasında gerçekleşen bir enfektivite penceresi tanımı yapmış ve bunun geçiş şekilleri ile ilişkili önemine dikkat çekmişlerdir.

Straetemans ve ark. (133) da mutans streptokokları ile enfektivite penceresi diye adlandırılan dönemden sonra da enfekte olunabileceğini ve bu geç enfeksiyona maruz kalmanın çocuğun süt ve daimi dişlenme dönemindeki çürük eğilimini azaltacağını bildirmişlerdir. Daimi dişlenme dönemine geçişin başlaması ile ikinci bir enfektivite penceresi tanımlanmıştır. Geç mutans streptokok kolonizasyonuna maruz kalan çocukların annelerinin yüksek mutans streptokok değerlerine sahip olmadıklarını göstermişlerdir (34).

Annenin tükürüğü ise bakteri transferinde temel araçtır. Annelerin çocuklarıyla daha sıkı tükürük teması; ağız ortamındaki bakterilerin çocuklara vertikal olarak geçişine sebep olur. Bazı güncel çalışmalar anneden başka diğer aile bireyleri gibi kaynakların da olabileceğini bildirmişlerdir (19,37,54,108).

Caufield ve ark. (34), çürüklü ve mutans streptokok bulunmayan çocukların bakıcılarla birlikte annelerini incelemiş ve ilginç olarak mutans streptokok bulunmayan çocukların 1 ve 2 yaşlarında anneleri dışında biri tarafından bakıldığını göstermişlerdir.

Çalışmalarında çocukların mutans streptokok suşlarını diğer bakıcılardan değil, yoğunlukla annelerinden aldığını göstermişlerdir. Bu da çocuğun immün sisteminin anne kaynaklı suşlardan kolonize olmasının belirlenmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

van Loveren ve ark. (147) ise mutans streptokokların enfeksiyon penceresi olarak tanımlanan ortalama 26 aylık dönemi enfekte olmadan atlatmış 5 yaşından büyük çocukların (5-11) ağızlarındaki bakterinin kaynağının aile bireylerinden biri olup olmadığını araştırmışlardır

Streptococcus mutans'ın ilk bulaşmasında genellikle ebeveynler ve bakıcılar gibi çocuklarla yakın temas içinde olan kişilerin ana rolü oynamalarının yanı sıra kreşler veya yuvalarda da ortak paylaşılan bir yiyeceğin, oyuncağın veya kaşığın kullanılması ile mutans streptokokları dahil bir çok enfeksiyonun yayılması için uygun ortamlardır (136,142).

Anneyle yakın ilişki dönemini (0-4 yaş) geçirmiş çocuklarda enfeksiyon kaynağının aile geçişini izlemek için 12 aileye ait bireylerden tükürük örneklerini almışlar ve izolatların bakteriyosin aktivite profillerini karşılaştırmışlardır. Sonuçta 5 yaşından sonra mutans streptokoklarla enfekte olan çocuklardaki bakterilerin, aile bireylerindeki ile benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir (133).

Araştırmamızda örnek alınan 51 çocuktan 26'sı (%50.98) annesi, 15'i (%29.41) aile büyüğü, 7'si (%13.72)'ü kreş, 3'üde(%5.88) bakıcı tarafından bakılmaktadır. Çocuğun nasıl bakıldığına göre *Streptococcus mutans* izole edilme oranı ise; aile büyüğü tarafından bakılan çocuklarda % 50 annesi tarafından bakılan çocuklarda % 74 bakıcı tarafından bakılan çocuklarda %20ve kreş tarafından bakılan çocuklarda % 52 olarak belirlenmiştir. Görüldüğü üzere annesi tarafından bakılan çocuklarda bu bakterinin izolasyon oranı daha yüksektir. Bunu aile büyüğü ve kreş ile bakım izlemektedir. Anne, ve aile büyüğü (örneği anneanne) ile ilgili değerlerin yakın ilişkisi nedeniyle yüksek olması muhtemel gözükmemektedir. Doğumdan sonra kreşe devam eden çocukların aile dışı yollarla mutans streptokok enfeksiyonuna maruz kalma ihtimali vardır (103).

Tedjosasongko ve ark (136), kreşlerdeki çocuklarda mutans streptokokların geçişini gösterdikleri çalışmalarında; 14 ailede, 19 çocuk, aileleri ve kreşteki bakıcılarından aldıkları örnekler ile materyallerini oluşturmuşlar. Çalışmanın sonunda çocuklar ve

anneleri arasında %33.3, çocuklar ve babaları arasında %8.3, çocuklar ve diğer kişiler arasında %58.4 homoloji belirlemişlerdir. Ancak çocuklar ile kreşteki bakıcıları arasında bir homoloji bulunamamıştır. Çocuklar arasında 6 çocukta benzer homoloji gözlenmiştir. Araştırmacılar babaların ve diğer kaynaklarında geçiş kaynağı olabileceğini vurgulamışlardır. Bu geçişte kontamine olmuş kaşık, paylaşılan bir dondurma veya diş fırçasının aracı olabileceğini de belirten araştırmacılar çocuklar ile yaklaşık 10 saat geçiren kreşlerdeki bakıcılardan böyle bir geçişin olmamasını onların kontaminasyona izin vermeyecek şekilde bir ilişki kurmalarına bağlamışlardır. Ayrıca çocukların bir kısmının aynı *Streptococcus mutans* klonuna sahip oldukları belirlenmesine rağmen, hiçbir çocuğun kreşteki bakıcıları ile aynı *Streptococcus mutans* klonuna sahip olmaması, bakıcıların bulaşmaya neden olacak düzeyde çocuklarla yakın ilişkiye girmemesine bağlı olarak yorumlanmıştır.

Ayrıca Li ve ark. (86) tükürüklerinde yüksek mutans streptokok ($>10^4$ cfu/ml), miktarına sahip 34 anne ve bebeğini bebeklerdeki mutans streptokok kolonizasyonunun oluşumu yönünden üçer aylık aralıklarla bebekler üç yaşlarına gelene dek takip etmiş ve ayrıca annelerden varsa bakıcı anemnezi de almıştır. Ve bu çalışmada anne ve bebeklerinden saptanan mutans streptokoklarının, kromozomal DNA izolasyonu ve DNA parmak izi yöntemi ile aynı olup olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada dikkat çeken, 1-2 yaşlarında bakıcıları tarafından bakılan çocukların ağızlarında anneleri tarafından bakılanlara göre daha az mutans streptokok kolonizasyonu tespit edilmiştir. Ayrıca çocuk ile mutans streptokokların temel kaynağı yani anne arasındaki temas saatlerinin azaltılması ile mutans streptokok geçişinin azalacağını belirtmektedirler.

Straetemans ve ark.(133) 5 yaşından sonraki mutans streptokok geçişini inceledikleri çalışmalarında 11 yaş grubu çocukların haftada tükettikleri şekerli gıda miktarı ile çürük ve mutans streptokok miktarı arasında bir ilişki bulamazken, 2 yaş grubundaki çocuklarda belirgin bir farklılık görmüşlerdir.

Mohan ve ark.(105) yaptığı bir çalışmada 6-24 aylık çocuklardaki mutans streptokok düzeyinin artan yaşla ve diş sayısı ile beraber arttığı ayrıca süt yerine şekerli içecekler alan çocuklarda da daha fazla kolonizasyon olduğu belirlenmiştir .

Mutans streptokok düzeyleri ve fermente edilebilir karbonhidratlardan zengin bir beslenme şeklinin mutans streptokoklarının ilk geçişine etkisi gözden kaçırılmaz.(34) Araştırmamızda Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuğun annelerinin ve çocukların şeker tüketimlerini incelediğimizde *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruptaki annelerin(p=0.363) ve çocukların (p=0.137) şeker tüketimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Li ve ark. (88), 2-3 yaş grubu 48 çocukta mutans streptokok geçişini etkileyen faktörleri tespit amacıyla yaptıkları çalışmada, 6-9 aydan daha uzun süre anne sütüyle beslenen çocuklarda çürük görülme sıklığının beş kat arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca, çocuklarını dokuz aydan daha uzun süre anne sütüyle besleyen annelerin çocuklarıyla benzer mutans streptokok genotipine sahip oldukları görülmüştür.

Matee ve ark. (102), 1-2,5 yaş arası anne sütüyle beslenen 51 çocukta mutans streptokok ve laktobasil prevalansını inceledikleri çalışmada anne sütüyle uzun süre beslenmenin küçük çocuklarda dişler üzerinde mutans streptokok ve laktobasil kolonizasyonunu ve buna bağlı olarak çürük oluşum hızını arttırdığını saptamıştır

Bizim araştırmamızda anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin görüldüğü grupta annelerin emzirme süreleri ortalamaları 8.53 ± 3.04 ay, *Streptococcus mutans* geçişi görülmeyen grupta ise 8.68 ± 3.47 ay olduğu, *Streptococcus mutans* geçiş gösteren ve göstermeyen gruplardaki annelerin emzirme süreleri ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı bulunmuştur (p=0.894).

Mutans streptokokların erken yaşlardaki kolonizasyonları, daha sonraki yaşlardakine veya ağızlarında mutans streptokok bulunmayanlara göre, çürük riskini büyük oranda arttırdığı ve erken yaşlarda ağızlarında mutans streptokok kolonize olanlar arasında çürük vakalarının daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Erken yaşlarda ağız florası henüz tam olarak oluşmadığı için *Streptococcus mutans*'ın bu dönemde çocukların ağızında kolonize olması daha olasıdır. Bu çocuklar, muhtemelen ağızlarında yüksek

oranda mutans streptokok taşıyan bireyler veya çocuklar ile temas sonucu enfekte olmaktadır. Çocukların ağızında *Streptococcus mutans*'a rastlanma yaş ortalamasının 26 ay olduğu belirlenmiştir (34,136).

Streptococcus mutans geçişi araştırılırken çürüklü ve mutans streptokoka rastlanmayan çocuklarda, doğum ağırlığı, anne gebelik süresi ve antibiyotik kullanımı gibi potansiyel etkileri olabilecek faktörler de düşünülmelidir (2,21).

Caufield ve ark (34), bu potansiyel faktörlerle mutans streptokok geçişi arasında bir ilişki bulamazken bebeklikte antibiyotik kullanım sıklığının mutans streptokoklarının geçişini ve dolayısıyla çürük beklentisini azaltacağını öne sürmüşlerdir.

Mutans streptokokları kolonizasyonunu etkilemesi olası bir diğer faktörde immün sistem olmakla birlikte çocuklardaki başlangıç mutans streptokokları kolonizasyonunda immün sistemin rolü bilinmemektedir. Annelerden transplasental olarak aktarılan antikorların, bebekleri 1 yaş civarına kadar birçok hastalıktan koruduğu ancak bu antikorların endojen mikrofloranın, örneğin mutans streptokoklarının alımı üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Bununla birlikte; mutans streptokoklarının ağız boşluğundaki kolonizasyonuna kolostrium içerisindeki immüno globulinlerin rolünün de olup olmadığı şu an için bilinmemektedir (87).

Bir çok mikrobiyolojik ve epidemiyolojik çalışmada, anne ile çocukları arasında hem mutans streptokokları hem de çürük skorlarında benzerlikler gösterilmiş ve tükürüklerinde yüksek MS bulunan anneler ile bebekleri arasında sık tükürük teması olduğunda bebeğin erken dönemde enfeksiyon riskinin arttığı gözlenmiştir (2,41,82).

Öte yandan da anne ile bebeği arasındaki bu yakın ilişki bebeğin erken dönemde bu bakterilerle karşı karşıya gelmesinin bebekteki koruyucu immün yanıtı da indükleyebileceği gerçeği ile komplike bir hal almaktadır (140).

Eğer birçok çalışmada belirtildiği gibi ilk geçiş sadece anne ile ilişkili ise mutans streptokoklarının kaynağı ilk edinimden sonra anneden diğer aile bireylerine kadar değişebilir (35,108).

Son yıllarda, diş çürüğü oluşumunda koruyucu rol alabileceği düşünülen immün mekanizmalar, çürüğe karşı immünizasyon sistemleri geliştirebilmek amacıyla ayrıntılı bir şekilde araştırılmaktadır (140).

Gleeson ve ark. (52)'a göre anne sütü içerisindeki antikorların kolonizasyon modeli üzerindeki etkisi tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte mukozal immüniteyi etkilediği düşünülmektedir.

Li ve ark. (86), annelerden transplasental olarak aktarılan antikorların bebekleri 1 yaş civarına kadar bir çok hastalıktan koruduklarını bildirmekte fakat mutans streptokokların alımı üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Mutans streptokokların ağız boşluğundaki kolonizasyonunda kolostrum içerisindeki immunoglobulinlerin rolünün olup olmadığı da tam olarak açıklanamamaktadır (23,87).

Yine Caufield ve ark. (37), tarafından ortaya atılan hipoteze göre eğer anneden pasif olarak kazanılan immunoglobulinler, çocukta hangi endojen bakterilerin kolonize olacağını belirlemekte ise, bu durumda babanın suşları 'kendinden olmayan' olarak algılanıp kabul edilmekte ve kolonize olması engellenebilmektedir. Bu durumda mekanizmanın, anne ve çocuğu arasındaki yakınlık sonucunda babanın endojen bakterilerini kendinden olmayan olarak algılayacak bir immunolojik tanıma gelişmesi şeklinde olduğu düşünülmektedir. Bu immunolojik algı bebeğe plasenta veya anne sütünden aktarılmıştır.

Aaltonen ve ark. (5) annesi ile sık tükürük temasında olan çocuklarla olmayanlara göre daha az mutans streptokok kolonizasyonu ve daha az çürük geliştiğini saptamışlardır. Çocuğun dişlerinin sürmesinden önce annesinin çürük oluşturunca florasına maruz kalması ile çocuğun immün mekanizmalarını uyarması ve bu patojenlere karşı direncinin artacağını savunmuşlardır.

Yeni sürmüş dişler ağız ortamında tam olarak mineralize olmadıkları için diş çürüğüne daha yatkındırlar. Bir kez mutans streptokok içeren veya içermeyen bir oral flora elde

edildiği takdirde bunu değiştirmek güç olmaktadır. Çünkü bu karyojenik mikroorganizmaların yerine dişler daha stabil olan ve çürük yapıcı olmayan mikroorganizmalarca kolonize olmakta ve bu durumda mutans streptokokların daha ileri dönemdeki kolonizasyonu güçleşmektedir. Bu yüzden temel hedef mutans streptokok'u erken geçişinin önlenmesidir. Çünkü çocuklar daha ileriki dönemde enfekte olsalar bile enfeksiyona karşı korunabilecektir (23).

Fluoridlerin mutans streptokokların kolonizasyonunu etkileyip etkileyemediği tam olarak bilinmemekte, fakat şekerli gıdaların sıklıkla tüketiminin bu bakterilerin ağız boşluğunda yerleşimi ve çoğalmasını açıkça desteklediği görülmektedir. Mikrobiyal dental plak florasının oluşumu hakkındaki mevcut bilgiler erken çocukluk döneminin oldukça önemli bir dönem olduğunu ortaya koymaktadır (34).

Süt dişlenme döneminde mutans streptokoklarının kolonizasyonu yüksek seviyelerde olduğu takdirde çocukta karyojenik bir flora meydana gelmekte ve bu durumun ileri yaşlarda değişiminin pek mümkün olmadığı bildirilmektedir (140).

Mutans streptokokları ile erken yaşta kolonize olan çocuklarda ileriki yaşlarında diş çürüğü gelişme riski çok daha fazla olacaktır. Dolayısıyla bu gözlemler, erken dönemde mutans streptokokları enfeksiyonunun önlenmesi ve mikrobiyolojik olarak risk altındaki çocukların ne kadar önemli olduğu gerçeğini ortaya koymakta ve vurgulamaktadır. Bu yüzden süt dişlerinde mutans streptokokları enfeksiyonunun klinik olarak pratik ve güvenilir yaklaşımlarla önlenmesi bireyde hem süt hem de daimi dişlenme döneminde çürük gelişimini önemli ölçüde azaltacaktır (140).

Streptococcus mutans prevelansı ile süt dişlerindeki çürük arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sonucunda, süt dişlerindeki mutans streptokokları kolonizasyonunu geciktirmek ya da tamamıyla engellemekle çocuklarda diş çürüğü oluşumunun etkili bir şekilde azalacağı kanısına varılmıştır. (1,81,139) Ayrıca süt dişlerinin mutans streptokokları ile kolonize olmaması daimi dişlenme döneminde de çürük gelişiminin azalmasını sağlamış olacaktır (56,101).

Uzun süreli çalışmaların bir çoğunda çocukların mutans streptokokları ile enfekte olma sürelerinin 3–4 yılı bulabileceğini belirtmişlerdir (8,73,101,116).

Diş çürükleri, insanlar arasında erken yaşlardan itibaren görülen en yaygın bakteriyel enfeksiyondur. Bugüne kadar yapılan çalışmalar ise bu enfeksiyonda en önemli rolü oynayan bakterinin *Streptococcus mutans* olduğunu göstermektedir. Diş çürüklerinin oluşması sadece bu bakterinin varlığı ile gerçekleşmemektedir. Bireyin beslenme alışkanlıkları, şeker kullanım miktar ve sıklığı, ağız hijyen alışkanlıkları, ağız mikrobiyal florası ve immun sistemi gibi faktörler bu bakterinin varlığı ile çürük oluşumunu engellemekte veya kolaylaştırmaktadır. Araştırmalar mutans streptokokları ile erken yaşlarda enfekte olan bireylerde çürük insidansının arttığını göstermektedir. Bunun gerekçesi olarakta 19-31. aylarda süt azı dişlerinin çıkması ile üzerinde herhangi bir mikrobiyal dental plağın olmadığı, geniş tutunma yüzeylerinin oluşması olarak gösterilmektedir. Ağız boşluğu dışında uzun süre yaşayamayan mutans streptokokları erken yaşlarda bu çocuklara, yakın ilişki kurduğu ve ağızlarında yüksek oranda bu bakteriyi taşıyan bireylerden geçmektedir. Araştırmamızda bulgulara ve daha önce yapılan benzer denemelerin sonuçlarına göre AP-PCR metodunun *Streptococcus mutans* klonlarının ayırt edilmesinde ve dolayısı ile geçişin izlenmesinde oldukça uygun olduğu ve bir çok izolatin bir arada değerlendirileceği epidemiyolojik araştırmalarda kullanılabileceği de görülmektedir.

Çocukların diş çürükleri risklerinin önceden, hayatlarının erken safhalarında bilinmesi ve önlenmesi oldukça önemlidir.

Araştırmamıza katılan annelerden çocuklarına *Streptococcus mutans* geçtiğini göstermektedir. Ayrıca geçişin, ağızlarında yüksek sayıda *Streptococcus mutans* bulunan ebeveynlerde yoğunlaşması, onların yeterli düzeyde *Streptococcus mutans* sayısına eriştikten sonra bir rezervuar gibi rol oynadıklarını göstermektedir.

Ebeveynler; gerek ağız ve diş sağlığı eğitimleri ile gerekse koruyucu önlemlerle hem kendi dişlerinde olası bir çürük lezyonunun önüne geçebilirler, hem de çocukları için bir enfeksiyon kaynağı olmaktan çıkabilirler. Bireylere ağız ve diş sağlığı konusunda gerekli eğitimlerin verilmesi ile ileriki yaşlarda sorun oluşturacak diş çürüklerinden korunmada önemli bir aşama kaydedilebilir.

Sonuç olarak; Anneden çocuğa *Streptococcus mutans* geçişinin incelendiği araştırmamızda; diğer genotipleme metodlarına göre daha kolay ve hızlı olan AP-PCR (Arbitrarily Primed-Polimerase Chain Reaction)'ın ayırtedici potansiyelinden yararlanılarak anne çocuk geçişi gösterilmiştir. AP-PCR metodunun *Streptococcus mutans* klonlarının ayırt edilmesinde ve dolayısı ile geçişin izlenmesinde oldukça uygun olduğu ve birçok izolatın bir arada değerlendirileceği epidemiyolojik araştırmalarda kullanılabileceği görülmüştür. Çürük gelişme riski, *Streptococcus mutans* ile erken yaşta enfekte olan çocuklarda artacağından; anneden çocuğa geçişin önlenmesinde, hamilelik dönemiyle birlikte annenin ağız diş sağlığın düzenlenmesi, gerekli koruyucu önlemlerin alınması, restoratif tedavilerinin yapılararak tükürükteki mutans streptokok miktarını düşürülmesi ile çocuktaki Mutans streptokok kolonizasyonunun ertelenmesi sağlanacaktır.

Günümüzde gerek tıp alanında gerekse dişhekimliğinde giderek önem kazanan ve çeşitlilik gösteren genetik çalışmalarla; yeni yöntemler ve uygulama kolaylığı sağlayan metodlar geliştirilmektedir.

Bugün kullanılan genetik inceleme yöntemlerinin geliştirilmesi ve kullanılabilirliğinin artırılması ile erken çocukluk döneminde *Streptococcus mutans*'ın anne çocuk geçişinin ve geçişte etkili olabilecek tüm davranış faktörlerinin incelenmesi daha da kolaylaşacaktır. Bu araştırmaların sayılarının artması hem farklı çalışma gruplarının birbirleri ile karşılaştırılmasını sağlayacak hem de planlanacak yeni çalışmalara kaynak teşkil edecektir.

7.1 SONUÇLAR

Anne-çocuk *Streptococcus mutans* geçişinin AP-PCR metoduyla değerlendirildiği, 44 anne ve yaşları 11- 43 ay arası değişen 51 çocuğun katıldığı çalışmamızda;

1. Mutans streptokok izole edilen 37 çocuktan 15 çocuğun anneleriyle aynı *Streptococcus mutans* klonunu taşıdığı ve dolayısıyla anneden *Streptococcus mutans* geçişinin gerçekleştiği görülmüştür.
2. Anne çocuk *Streptococcus mutans* geçişi gösteren 15 çocuk ve annesinin DNA amplifikasyonunda toplam 195 amplikon, 6 farklı genotip gözlenmiştir.
3. *Streptococcus mutans* geçişi gösteren çocukların annelerinin, geçiş göstermeyen çocukların annelerine göre daha fazla mutans streptokok miktarına sahip oldukları ve potansiyel bir rezervuar gibi rol oynadıkları görülmüştür. (p=0.001)
4. *Streptococcus mutans* geçişi gösteren çocukların annelerinin, geçiş göstermeyen çocukların annelerine göre daha yüksek DMF-T değerlerine sahip oldukları saptanmıştır. (p=0.0001)
5. *Streptococcus mutans* geçişi gösteren çocukların geçiş göstermeyenlere göre df-t değerlerinin yüksek olduğu bulunmuştur. (p=0.006)
6. *Streptococcus mutans* geçişi gösteren çocukların annelerinin, geçiş göstermeyen çocukların annelerine göre daha kötü ağız hijyenine sahip oldukları görülmüştür. (p=0.002)
7. *Streptococcus mutans* geçişi gösteren çocukların annelerinin, geçiş göstermeyen çocukların annelerine göre yemeği tadarken verme alışkanlığının, dolayısıyla temaslarının biraz daha fazla olduğu gözlenmiştir. (p=0.032)

8.EKLER

EK 1. Bilgilendirilmiş onam ve Hasta Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Araştırma projesinin adı:

Prot no:

Streptococcus mutans' ın anne-çocuk geçişinin AP-PCR metoduyla saptanması ve diş çürüğü ile ilişkisi.

Araştırmanın yürütüleceği kuruluş:

Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü Sağlam Çocuk Kliniği

Düzen Laboratuvarları

Sorumlu Araştırmacılar:

Doç. Dr. Betül KARGÜL

Dt. Sertaç PEKER

Araştırmayı hazırlayan kuruluş:

Bu araştırma Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı'nda görevli olan Doç. Dr. Betül KARGÜL ve Dt. Sertaç PEKER tarafından hazırlanmıştır.

Amaç:

Diş çürüğünün tedavisi diş hekimliği uygulamalarının temelini oluşturur. Diş çürüğü diş yüzeyi üzerinde oluşan diş plağındaki mutans streptokokları adı verilen bakteriler, şeker ve şekerli gıdalar arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan bir enfeksiyon yani bulaşıcı bir hastalıktır. Yemeklerle alınan şekerler bu bakterilerin gücünü artırır. Mutans

streptokoklarının kaynağı insan ağızıdır. Bunların bulaşması ağızda yüksek düzeyde mutans streptokokları olan anneden bebeğe süt azılarının çıktığı yani iki yaş civarında tükürük aracılığıyla gerçekleşir. Enfektivite penceresi yani bulaşma penceresi olarak adlandırılan bu dönem bulaşma olmadan atlanırsa çürüksüz bir yaşam söz konusu olabilir. Bu yüzden diş çürüğü bulaşabilir ve önlenabilir bir enfeksiyon hastalığıdır. Ülkemizde anneden çocuğa mutans streptokoklarının geçişi ile ilgili yapılmış çalışma sayısı çok azdır.

Bu çalışmada amaç anneden çocuğa geçen mutans streptokokları miktarını, tipini ve genetik özelliklerini tespit etmek ve bu sonuçların ışığında 2 yaş civarında gerçekleşen bulaşmanın engellenmesi için gerekli önlemlerin alınması ve uyarıların yapılmasını sağlamaktır.

Bu araştırma, insan üzerindeki araştırmalarda, insan haklarını ve sağlığını korumak amacı ile Dünya Tıp Birliğince ilan edilmiş olan Helsinki Deklerasyonunun son şekline uygun hazırlanmış ve Marmara Üniversitesi Etik Komitesinin onayını almıştır.

Bu araştırmaya katılmak için niçin seçildiniz:

Çocuğunuzun mutans streptokoklarının geçme işleminin tamamlanması gerektiği düşünülen 3 yaş grubuna ait olması sebebiyle çocuğunuz ve sizin bu çalışmaya katılması uygun görülmüştür.

Araştırmada kullanılacak yöntem:

Araştırmada aşağıdaki basamaklar sırasıyla izlenecektir.

- 1) Sizin ve çocuğunuzun temel olarak beslenme alışkanlıklarınızın incelendiği bir anket formunu cevaplamanız istenecektir.
- 2) Sizin ve çocuğunuzun ağız diş sağlığı muayene edilip, çürük durumlarınız kaydedilecektir.
- 3) Sizden ve çocuğunuzdan çürük yapan bakterilerin, miktarının ve bahsedilen özelliklerinin tespiti için ufak bir kaba bir miktar tükürük ve azı dişi bölgelerinizden steril bir kürdanla diş plağı alınacaktır.

Araştırmaya katılmakla meydana gelebilecek yan etkiler ve olumsuzluklar:

Araştırmada hiçbir yan etki ve olumsuzluk beklenmemektedir.

Araştırma sürecinde dikkat edilmesi gereken konular:

Araştırma sürecinde ayrıca dikkat etmeniz gereken bir konu yoktur.

Araştırmadan beklenen faydalar:

Bu araştırmadan beklenen fayda; Diş rğnn temel nedeni olan bakterilerin anneden çocuğa geçiş miktarını, tipini ve genetik özelliklerini tespit etmek ve bu sonuçların ışığında 2 yaş civarında gerçekleşen bulaşmanın engellenmesi için gerekli önlemlerin alınması ve uyarıların yapılmasını sağlamaktır.

Gizlilik

Araştırmaya katılan bireylerin isimleri gizli tutulacak ve kendi rızası olmadan açıklanmayacaktır.

HASTA ONAM FORMU

ONAM FORMU

Proje adı:

Streptococcus mutans 'ın anne-çocuk geçişinin AP-PCR metoduyla saptanması ve diş çürüğü ile ilişkisi.

Araştırmaya ait hasta / kişi numarası: _____

Üniversite hastanesi protokol numarası: _____

Araştırmacı adı: _____

Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı .Araştırma Projesi Bilgilendirme yazısını okudum ve anladım. Sorularıma Dt. Sertaç PEKER tarafından beni tatmin eden cevaplar verildi. Adı geçen projeye kendi rızam ile hiçbir baskı altında kalmadan katılmayı kabul ediyorum. İstedğim anda çalışmadan çıkabileceğim ve bunun normal tedavi sürecini etkilemeyeceğini, çalışmadan kendi isteğimle çıkmam halinde tıbbi ve hukuki haklarımın saklı olduğunu biliyorum.

Hasta kişi

Tarih

İmza

Velayet yada vesayet altında
Bulunanlar için veli veya vasi

Tarih

İmza

Onam ve Açıklama yapan

Tarih

İmza Tanık

EK2:Hasta anket formu

Hasta Anket Formu:

Annenin Ad Soyadı:

Telefon:

Doğum Tarihi:

Protokol No:

Çocuğun Ad Soyadı:

Doğum Tarihi:

Cinsiyeti:

Anne Eğitim Durumu ve Mesleği:

Baba Eğitim Durumu ve Mesleği:

Geçirmiş olduğunuz sistemik bir hastalığınız var mı? : Evet () Hayır ()

Çocuğunuzun geçirmiş olduğu sistemik bir hastalık var mı? : Evet () Hayır ()

Düzenli kullandığınız bir ilaç var mı? : Evet () Hayır ()

Çocuğunuzun düzenli kullandığı bir ilaç var mı? : Evet () Hayır ()

Son 2 ay içerisinde antibiyotik kullandınız mı?: Evet () Hayır ()

Çocuğunuz son 2 ay içerisinde antibiyotik kullandı mı?: Evet () Hayır ()

Çocuğun doğumu? : Zamanında () Erken () 9 aydan geç ()

Çocuğun doğumu? : Normal () Sezeryan ()

Çocuk bir yaşına gelene kadar kim ilgilendi? :Ebeveynler () Aile Büyüğü () Kreş ()

Bakıcı()

Çocukla 1–2 yaşları arasında kim ilgilendi? : Ebeveynler () Aile Büyüğü() Kreş ()

Bakıcı()

Çocukla 2–3 yaşları arasında kim ilgilendi? : Ebeveynler () Aile Büyüğü () Kreş ()

Bakıcı()

Dişlerini fırçalıyor mu? Evet () Hayır ()

Evetse dişlerini ne zaman fırçalamaya başladı?

Günde kaç kere dişlerini fırçalıyor()

Siz (anne)günde kaç kere dişlerinizi fırçalarsınız? ()

Çocuk kaç yaşına kadar anne sütüyle beslendi?yaş.....aylık

Biberon kullandı mı? Evet () Hayır ()

Evet ise kaç yaşına kadar biberon kullandı?yaş.....aylık

Günde kaç kere ve hangi zamanlarda biberonla besleniyor/ besleniyordu?

Gündüz () Gece () Gece ve gündüz ()

Hiç emzik kullanıyor mu/ kullandı mı? Evet () Hayır ()

Evet ise ne kadar süre kullandı?

Günlük şeker veya şekerli yiyecek tüketimi fazla mı? Günde 1 veya az () Günde 2()

Günde 3 veya fazla()

Sizin (Annenin) şeker veya şekerli yiyecek tüketimi fazla mı? Günde 1 veya az ()

Günde 2()Günde 3 veya fazla()

Çocuğunuza Fluorid Tableti veriyor musunuz?? Evet() Hayır()

Çocuğunuza yemeği verirken ağzınıza götürüp tadını sıcaklığını vs. kontrol eder misiniz? Hiç ()Bazen ()Her Zaman()

Çocuğunuza Emzik veya biberon verirken ağzınıza götürüp tadını sıcaklığını vs. kontrol eder misiniz ? Hiç ()Bazen ()Her Zaman()

Çocuğunuzu ağızdan öper misiniz? Hiç ()Bazen ()Her Zaman()

EK3:Hasta muayene formu**Dental Muayene Formu**Ad-
Soyad _____

Tarih _____ 20 _____

Numara. _____

Telefon _____

Yaş _____ Erkek [] Kadın [] Dr _____

Adres _____

				55	54	53	52	51		61	62	63	64	65			
	18	17	16	15	14	13	12	11		21	22	23	24	25	26	27	28
o																	
m																	
b																	
d																	
l																	
o																	
m																	
b																	
d																	
l																	
	48	47	46	45	44	43	42	41		31	32	33	34	35	36	37	38
				85	84	83	82	81		71	72	73	74	75			

Daimi	Süt Dentisyon
0 Sağlıklı	A
1 Çürük	B
2 dolgu&çürük	C
3 dolgu&çürük yok	D
4 çürüğe bağlı kayıp	E
5 diğer nenen kayıp	-
6 Sealant	-
7 köprü kron	G
8 sürmemiş	-
9 yok	-

DMFT: D _____ M _____ F _____ = _____

dft: d _____ f _____ = _____

• Dentocult Strip mutans: _____ (kart a göre)

Diğer:

Ağız Hijyeni: ()

EK. 4.Çalışmaya Katılan tüm çocukların, cinsiyet, yaş, df-t, anne DMF-T ve anne çocuk mutans streptokok miktarları

AİLE NO	BİREY	CİNS	Ç.YAŞ(AY)	df-t/DMFT	MS (cfu/ml)
1	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	24	5	10^5-10^6
2	Anne			8	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	30	5	10^5-10^6
3	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk		32	0	10^4-10^5
4	Anne			8	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	34	8	10^5-10^6
5	Anne			4	10^5-10^6
	Çocuk		33	2	10^4-10^5
	Çocuk2	Erkek	16	0	$<10^4$
6	Anne			9	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	24	2	10^4-10^5
7	Anne			11	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	27	8	$>10^6$
8	Anne			2	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	26	0	10^5-10^6
9	Anne			2	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	23	0	10^5-10^6
10	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Kız	36	1	10^5-10^6
11	Anne			9	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	33	16	$>10^6$
12	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	28	1	10^4-10^5
13	Anne			3	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	26	0	10^5-10^6
14	Anne			1	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	36	4	10^5-10^6
	Çocuk2	Kız	20	0	10^5-10^6
15	Anne			4	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	11	0	$<10^4$
16	Anne			0	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	19	0	10^4-10^5

AİLE NO	BİREY	CİNS	Ç.YAŞ(AY)	dft/DMFT	MS (cfu/ml)
17	Anne			7	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	16	0	10^4-10^5
18	Anne			6	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	37	1	10^5-10^6
19	Anne			7	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	29	3	10^5-10^6
20	Anne			2	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	25	1	10^4-10^5
21	Anne			2	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	37	2	10^5-10^6
22	Anne			8	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	26	12	$>10^6$
23	Anne			6	10^5-10^6
	Çocuk	Erkek	28	2	10^5-10^6
24	Anne			4	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	16	2	10^4-10^5
25	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	32	0	$<10^4$
26	Anne			8	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	24	6	$>10^6$
	Çocuk2	Kız	39	10	$>10^6$
27	Anne			2	$<10^4$
	Çocuk	Erkek	27	4	10^5-10^6
28	Anne			6	3
	Çocuk	Erkek	25	3	10^5-10^6
29	Anne			12	$>10^6$
	Çocuk	Kız	23	4	10^5-10^6
	Çocuk2		36	8	$>10^6$
30	Anne			3	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	25	2	10^4-10^5
31	Anne			3	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	37	4	10^5-10^6
32	Anne			4	10^5-10^6
	Çocuk	Kız	40	3	10^5-10^6
	Çocuk2	Kız	24	1	10^5-10^6
33	Anne			2	$<10^4$
	Çocuk	Erkek	43	1	$<10^4$

AİLE NO	BİREY	CİNS	Ç.YAŞ(AY)	dft/DMFT	MS (cfu/ml)
34	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Erkek	34	0	$<10^4$
35	Anne			1	10^4-10^5
	Çocuk	Erkek	14	0	$<10^4$
36	Anne			1	$<10^4$
	Çocuk	Kız	20	4	$<10^4$
37	Anne			5	10^4-10^5
	Çocuk	Erkek	27	0	$<10^4$
38	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Kız	19	0	$<10^4$
	Çocuk2	Erkek	39	6	10^5-10^6
39	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	20	0	$<10^4$
40	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	21	0	$<10^4$
41	Anne			3	10^4-10^5
	Çocuk	Erkek	27	0	$<10^4$
42	Anne			6	$>10^6$
	Çocuk	Erkek	19	0	$<10^4$
	Çocuk2	Erkek	37	3	10^5-10^6
43	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Kız	21	0	$<10^4$
44	Anne			2	10^4-10^5
	Çocuk	Erkek	26	0	$<10^4$

Streptococcus mutans miktarı

0= $<10^4$ cfu/ml

1= 10^4-10^5 cfu/ml

2= 10^5-10^6 cfu/ml

3= $>10^6$ cfu/ml

Not: Kırmızı ;*Streptococcus mutans* geçişi gösteren anne-çocuk, Mavi; Mutans streptokok izole edilip geçiş göstermeyen çocuk, Siyah ; mutans streptokok izole edilmeyen anne-çocuk

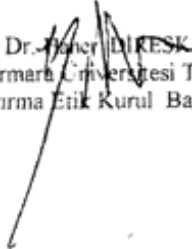
EK. 4 ETİK KURUL ONAY FORMU

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU

Sayı : B.30.2.MAR.0.01.00.02/AEK- 165
Konu:

Sayın : Doç. Dr.Berül KARGÜL

MAR-YÇ-2004- 0058 protokol nolu "Streptococcus Mutan's anne çocuk geçişinin AP-PCR metoduyla saptanması ve diş çürüğü ile ilişkisi " isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır

Prof. Dr.  DİRESKENELİ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Etik Kurul Başkanı

9.KAYNAKLAR

1. Aaltonen A.S., Tenovuo J., Lehtonen O.P.: Increased dental caries activity in preschool children with low baseline levels of serum IgG antibody against the bacterial species *Streptococcus mutans*. Arch.Oral.Biol., 32:55-60,1987.
2. Aaltonen A.S., Tenovuo J., Lehtonen O.P., Saksala R.: Serum antibodies against oral *Streptococcus mutans* in young children in relation to dental caries and maternal close contacts. Arch.Oral Biol., 30:331-335,1985.
3. Aaltonen A.S., Tenovuo J., Lehtonen O.P.: Antibodies to the oral bacterium *Streptococcus mutans* and the development of caries in children in relation to maternal dental treatment during pregnancy. Arch.Oral. Biol., 32: 55-60,1988.
4. Aaltonen A.S., Tenovuo J., Lehtonen O.P.: Maternal caries incidence and salivary close-contacts with children affect antibody levels to *Streptococcus mutans* in children. Oral.Microbiol. Immunol., 5: 12-18, 1990.
5. Aaltonen A.S., Tenovuo J.: Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children: a cohort study. Ped. Dent., 16: 11-16, 1994.
6. Alaluusua S., Alaluusua S.J., Karjalainen J. et.al.: The demonstration by ribotyping of the stability of oral *Streptococcus mutans* infection over 5 to years in children. Arch.Oral Biol., 39:467-471,1994.
7. Alaluusua S., Kleemola E., Nyström M.: Caries in the primary teeth and salivary *Streptococcus mutans* and lactobacilli levels as indicators of caries in permanent teeth. Pediatric Dentistry., 9: 126-130,1987.

8. Alaluusua S., Kujala K., Grönroos L.: Salivary caries related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three year longitudinal study. *Oral Microbiol.*, 5: 77-81, 1990.
9. Allaker R.P., Seddon S.V., Tredvin C., Lynch E.: Detection of *Streptococcus mutans* by PCR amplification of the spaP gene in teeth rendered caries free. *J. Dent.*, 26:443-445, 1998.
10. Arbeit R.D., Laboratory procedures for the epidemiological analysis of microorganisms. In: Manual of clinical microbiology. Murray PR., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C. Tenover F.C. Tenover F.C. Tenover F.C. eds. 7th ed. ASM Press: Washington D.C. pp.116-137, 1999.
11. Ausubel F.M., Brent R. and Kingston R.E.: Short protocols in molecular biology. John Wiley and Sons, 3rd ed., N.Y., 1997.
12. Balakrishnan M., Simmonds S.R., Tagg J.R.: Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust. Dent. J.*, 45:235-245, 2000.
13. Beighton D., Russell R.B., Whaley R.A.: A simple biochemical scheme for the differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Caries Res.*, 25:174-178, 1991.
14. Beighton D.: A simplified procedure for estimating the level of *Streptococcus mutans* in the mouth. *Br. Dent. J.*, 160:329-330, 1986.
15. Bej A.K., Mahbubani M.H., Atlas R.M.: Amplification of nucleic acids by polymerase chain reaction and other methods and their application. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 26: 301-304, 1991.
16. Bender G.H., Sutton S.V., Marquis R.E.: Acid tolerance proton permeabilities and membrane ATPases of oral streptococci. *Infect. Immun.*, 53:331-338, 1986.

17. Bentley R.W., Leigh J.A.: Development of PCR-based hybridization protocol for identification of streptococcal species. J.Clin.Microbiol., 33:1296-1301,1995.
18. Berkowitz R.J., Hordan H.V.: Similarity of bacteriocins of *Streptococcus mutans* from mother and infant. Arch.Oral Biol., 20:725-730, 1975.
- 19.Berkowitz R.J., Jones P.: Mouth to mouth transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* between mother and child. Arch. Oral Biol., 30:377-379,1985.
20. Berkowitz R.J., Jorden H.V., White G.: The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouth of infants. Arch. Oral. Biol., 20:171-174,1975
21. Berkowitz R.J., Turner J., Green P.: Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection of infants. Arch.Oral. Biol., 26:147-149,1981.
22. Berkowitz R.J., Turner J., Green P.: Primary oral infection of infants with *Streptococcus mutans*. Arch. Oral. Biol., 25:221-224, 1980.
23. Beyar İ.: *Streptococcus mutans* ile enfekte edilen ratlarda enfektivite penceresi ve transplasental immunité açısından diş çürüğünün değerdendirilmesi . Doktora Tezi , Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enst. Pedodonti A.D. Ankara, 2000.
24. Birkhed D., Tanzer J.M.: Glycogen synthesis pathway in *Streptococcus mutans* strain NCTC10449S and its glycogen synthesis-defective mutant 805. Arch.Oral.Biol., 24:67-73,1994.
25. Boyar R.M., Bowden G.H.: The microflora associated with the progression of incipient carious lesions in teeth of children living in a water fluoridated area. Caries. Res., 19: 298-306,1985.

26. Brathall D., Carlsson P.: Clinical Microbiology of Saliva. Ed in: Tenovuo J.D., Human Saliva: Clinical chemistry and microbiology. Chapter 7, Vol.II, 203-236 CRC Pres Inc., Florida., 1989.
27. Brathall D.: Demonstration of five serological groups of streptococcal strains resembling *Streptococcus mutans*. Odontol.Rev., 21:143-152,1970.
28. Burne R.A.: Oral streptococci, products of their environment. J.Dent.Res., 77:445-452,1998.
29. Burt B.A., Loesche W.J., Eklund S.A., Earnest R.W.: Stability of *Streptococcus mutans* and its relationship to caries in a child population over 2 years. Caries Res., 17:532-542,1983.
30. Carlsson J., Grahnen H., Jonsson G., Wikner S.: Early establishment of *Streptococcus salivarius* in the mouth of infants. J. Dent. Res., 49:1143-1148,1970.
31. Carlsson J., Grahnen H., Jonsson G.: Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. Caries Res., 9: 333-339,1975.
32. Carlsson J., Grahnen H., Jonsson G.: Prevalance of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures. Arch.Oral Biol., 14:243-249,1969.
33. Carlsson P.: On the epidemiology of mutans streptococci. Thesis, Malmö:University of Lund,1988.
34. Caufield P.W., Cutter G.R., Dasanayake A.P.: Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. J.Dent.Res., 72:37-45,1993.

35. Caufield P.W., Walker T.M.: Genetic diversity within *Streptococcus mutans* evident from chromosomal DNA restriction fragment polymorphism. J. Clin. Microbiol., 27: 274-278,1989.
36. Caufield P.W., Warnemuehler Y., Hansen J.B.: Familial clustering of the *Streptococcus mutans* cryptic plasmid strain in a dental clinic population. Infect. Immun., 38: 785-787, 1982.
37. Caufield P.W.: Dental caries- a transmissible and infectious disease revisited. Ped. Dent., 8:491-498,1997.
38. Clarke J.K.: On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Brit.J.Exp.Pathol., 5:141-147,1924.
39. Coykendall A.L.: Genetic heterogenicity in *Streptococcus mutans*. J.Bacteriol., 106:192-196, 1971.
40. Crowley P.J., Brody L.J., Michalek S.M.: Virulance of a spaP mutant of *Streptococcus mutans* in a gnotobiotic rat model. Infect. Immun., 67:1201-1206,1999.
41. Dasanayake A.P., Caufield P.W., Cutter G.R., Stiles P.W.: Transmission of mutans streptococci to infants following short term application of an iodine-NaF solutions to mothers' dentition. Community Dent. Oral. Epidemiol., 21:136-142,1993.
42. de Soet J.J., Graaf J.: Microbiology of carious lesions. Dental update., 25:319-324,1998.
43. de Soet J.J., Nyvad B., Killian M.: Strain related acid production by oral streptococci. Caries Res., 34:486-490,2000.

44. Emanuelsson IR, Thornqvist E. Genotyping shows different strains of mutans streptococci between father and child and within parental pairs in Swedish families. *Oral Microbiol Immunol.* Oct;13(5):271-7,1998.
45. Emilson C.G., Krasse B.: Support for and implications of the specific plaque hypothesis. *Scand. J. Dent. Res.*, 93:96-104, 1985.
46. Emilson C.G.: Prevalance of *Streptococcus mutans* with different morphologies in human plaque and saliva. *Scand. J. Dent. Res.*, 91:26-32, 1983.
47. Erlich H. A., PCR technology. *Molecular Biology and Biotechnology*. Ed Robert Mayers, VCH Publishers USA, 641-48, 1990
48. Ersin NK, Kocabas EH, Alpoz AR, Uzel A Transmission of *Streptococcus mutans* in a group of Turkish families. *Oral Microbiol Immunol.*, Dec: 19(6):408-10, 2004.
49. Galaviz L.A.A., Medina D.C.A., Garcia I.C.E.: Detection of potentially cariogenic strains of *Streptococcus mutans* using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 27:47-52, 2002.
50. Gibbons R.J., van Houte J.: On the formation of dental plaques. *J. Periodontol.*, 44:347-360, 1973.
51. Gilmour M.N., Whittom T.S., Kilian M., Sealander R.K.: Genetic relationship among the oral streptococci. *J. Bacteriol.*, 169:5247-5257, 1987.
52. Gleeson M., Cripps A.W., Clancy R.L., Husband A.J., Hensley M.J., and Leeder S.R.: Ontogeny of the secretory immune system in man. *Aust. N.Z.J. Med.*, 12:255-258, 1985.
53. Gold O.G., Jordan H.V., van Houte J.: A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral. Biol.*, 18:1357-1364, 1973.

54. Grönroos L., Saarela M., Mattö J., Taner-Salo U.: Mutacin production by *Streptococcus mutans* may promote transmission of bacteria from mother to child. *Infect. and Immun.*, 66(6): 2595-2600, 1998.
55. Grönroos L.: Quantitative and qualitative characterization of mutans streptococci in saliva and in the dentition. University of Helsinki, Dept of pedodontics and orthodontics, Helsinki. Academic Dissertation, 2000.
56. Hamada S., Slade H.D.: Biology, immunology and cariology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Rev.*, 44:331-384, 1980.
57. Hames-Kocabas EE, Ucar F, Kocatas Ersin N, Uzel A, Alpoz AR. Colonization and vertical transmission of *Streptococcus mutans* in Turkish children. *Microbiol Res.* May 28 2006
58. Hamilton I.R., Buckley N.D.: Adaptation by *Streptococcus mutans* to acid tolerance. *Oral Microbiol. Immunol.*, 6: 65-71, 1991.
59. Hardie J.M. and Whaley R.A., *The Genus Streptococcus – Oral*, Ed by Balows A. et al. *The Prokaryotes*, Second Ed. Vol. II, 4216p., Springer-Verlag, NY., 1992.
60. Hardie J.M., *Genus Streptococcus* (Ed. In) Sneath P.H.A. et al., *Bergey's manual of systematic bacteriology vol: II*, p1599, Williams & Wilkins, Baltimore, USA. 1986.
61. Hardie J.M.: Oral microbiology: current concept in the microbiology of dental caries and periodontal disease. *Br. Dent. J.*, 172:271-278, 1992.
62. Hardie J.M.: Oral streptococci, *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2.ed Sneath, P.H., Mair N.S., Sharpe M.E., Williams & Wilkins, Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, pp:1054-1063, 1986.

63. Hillman J.D., Dzuback A.L., Andrews S.W.: Colonization of the human oral cavity by a *Streptococcus mutans* mutant producing increased bacteriocin. J. Dent. Res., 66:1092-1094,1987.
64. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. eds.Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Williams & Wilkins: Baltimore,Maryland 1994; 20,527-558.
- 65.Howe C., Gene Cloning and manipulation. Cambridge University Pres.,1997
66. Innis M.A., Myombo K.B., Gelford D.H., Brow M.A.D.:DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction amplified DNA. Proc.Natl.Acd.Sci,USA., 85:9436-9440. 2000
67. Jacques N.: Molecular biological techniques and their use to study streptococci in dental caries. Aust.Dent. J., 43:87-98,1998.
68. Jensen B., Bratthall D.: A new method for the estimation of mutans streptococci in human saliva. J. Dent. Res., 68: 468-471, 1989.
69. Jordan H. V., Laraway R., Snirch R., Marmel M.: A simplified diagnostic system for cultural detection and enumeration of streptococcus mutans. J. Dent. Res., 66: 57-61, 1987.
70. Kelstrup J., Richmond S., West C., Gibbons R.J.: Fingerprinting human and oral streptococci by bacteriocin production and sensivity. Arch. Oral Biol., 15:1109-1116,1970.
71. Keyes P.H.: The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. Arch.Oral Biol., 1:304-320,1960.

72. Kidd E.A.M., Joyston-Bechal S.: Essentials of dental caries. The disease and its management. 2.ed.New York: Oxford University Pres, p.123-124, 1998.
73. Klein MI, Florio FM, Pereira AC, Hofling JF, Goncalves RB. Longitudinal study of transmission, diversity, and stability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes in Brazilian nursery children. J Clin Microbiol., Oct;42(10):4620-6, 2004.
74. Klock B., Krasse B.: Effect of caries preventive measures in children with high numbers of *S. mutans* and lactobacilli. Scand. J. Res., 86:221-230, 1978.
75. Klug, W.S., Cummings M.R.: Genetik Kavramlar, Çev.Ed.Prof.Dr. Cihan Öner, Palme yayıncılık, s.474-480 Ankara, 2002.
76. Kocabas E.H. Streptococcus mutans'ın Aile bireylerinden izolasyonui identifikasyonu, ve aile içi geçişinin Moleküler Biyolojik yöntemlerle saptanması . Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimler Enst. Biyoloji A.D. İzmir, 2003
77. Kononen E., Asikainen S., Saaerela M., Karjaiainen J., Jousimies-Somer H.: The oral gram-negative anaerobic microflora in young children.: longitudinal changes from edentulous to dentate mouth. Oral Microbiol. Immunol., 9:136-141,1994.
78. Koray F.: Diş Çürükleri. İstanbul:Dünya Tıp Kitapevi, 1981, 7-34.
79. Kozai K., Wang D.S., Sandham H.J., Philips H.I.: Changes in strains of mutans streptococci induced by treatment with chlorhexidine varnish. J.Dent. Res., 70: 1252-1257,1991.
80. Köhler B., Andreen I., Jonsson B.: The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalance at four years of age. Oral Microbiol.Immunol., 3:14-17,1988.

81. Köhler B., Andreen I., Jonsson B.: The effect of caries preventive measures in mother's dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. Arch. Oral Biol., 29:879-883, 1984.
82. Köhler B., Brathall D., Intrafamilial levels of *Streptococcus mutans* and some aspects of the bacterial transmission. Scand. J. Dent. Res., 86:35-42, 1978.
83. 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.
84. Kuramitsu H.K.: Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. Crit.Rev. Oral Biol. and Med., 4: 159-176, 1993.
85. Lehner T., Murray J.J., Winter G.B.: Antibodies to *Streptococcus mutans* and immunoglobulin levels in children with dental caries. Arch.Oral Biol., 23:1061-1069, 1978.
86. Li Y., Caufield P.W.: Arbitrarily primed polymerase chain reaction fingerprinting for the genotypic identification of mutans streptococci from humans. Oral Microbiol. Immunol., 13: 17-22, 1998.
87. Li Y., Caufield P.W.: The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. J.Dent. Res., 74:681-685, 1995.
88. Li Y., Caufield P.W., Redmo E.I., Thorngvist E.: Differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* via genotypic and phenotypic profiles from three different populations. Oral Microbiol.Immunol., 16:16-23, 2001.
89. Li Y., Navia J.M., Caufield P.W.: Colonization by mutans streptococci in the mouths of 3 and four year old Chinese children with or without enamel hypoplasia. Arch. Oral Biol., 39:1057-1062, 1994.

90. Lindquist B., Emilson C.G.: Distrubance and prevalance of mutans streptococci in human dentition. J.Dent. Res., 69: 1160-1166,1990.
91. Lindquist B., Emilson C.G.: Dental location of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinusin* humans harboring both species. Caries Res., 25:146-152,1991.
92. Listgarten M.A.: The structure of dental plaque. Periodontol. 2000., 5:52-65,1994.
93. Loesche W.J.: Dental caries is treatable infection. Illinois: Charles C Thomas Publisher, 1982.
94. Loesche W.J.: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol.Rev., 50:353-380,1986.
95. Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. Eds. Prentice Hall: Englewood Cliffs, N.J. pp. 323-333,1997.
96. Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J.: Plasmids. In: Brock Biology of microorganisms. 1974.
97. Martinko J.M.,Parker J.,eds. 10th edt., 1019p, Prentice Hall, NJ, USA., 2003
98. Maiden M.F.J., Lai C.H., Taner A.:Characteristics of oral gram-positive bacteria. In: Contemporary Oral Microbiology and immunology. Slots J., Taubman M.A.,eds.Mosby: St. Louis, M.I. ; p342-347,1992.
99. Manz W., AmannR. Szewzyk U.: In Situ identification of *Leionellacae* using 16S rRNA targeted oligonucleotide probes and confocal laser scanning microscopy. Microbiology.,141:29-39, 1995.

100. Marsh P.D., Martin, M.V., Oral Microbiology-4.Ed., Bodmin, Cornwall: MPG Books Maslow J., Mulligan M.E.: epidemiological typing systems. Infect. Control Hosp. Epid., 17:595-604, 1996.
101. Masuda N., Tsutsumi N., Sobue S., Hamada S.: Longitudinal survey of the distribution of various serotypes of *Streptococcus mutans* in infants. J.Clin. Microbiol., 10:497-502, 1979.
102. Matee M.I., Mikx F.H.M., Frenken J.N., et.al: Selection of a micromethod and its use in the estimation of salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* counts in relation to dental caries in Tanzania. Caries Res., 19:497-506, 1985.
103. Mattos-Graner R.O., Li Y., Caufield P.W., Duncan M., Smith D.J.: Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. J.Clin. Microb., 39:2313-2316, 2001.
104. Miller W.D.: The microorganisms of the human mouth. S.S White Dental Mfg.Co., Philadelphia, PA, 1890.
105. Mohan A., Morse D.E., O'Sullivan D.M., Tinanoff N.: The relationship between bottle usage /content, age, and number of teeth with mutans streptococci colonization in 6-24 month old children. Comm.Dent.Oral.Epidemiol., 26:12-20, 1998.
106. Mullis K.B. Sci. Am.262, 56-65, 1990
107. Nakayama K.: Nucleotide sequence of *Streptococcus mutans* superoxide dismutase gene and isolation of insertion mutants. J Bacteriol., 174:4928—34, 1992.
108. Napimoga MH., Hofling JF., Klein MI., Kamiya RU., Goncalves RB.: Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. J Oral Sci. Jun; 47(2):59-64, 2005
109. Newbrun E.: Cariology- 3.Ed., Quintessence Publishing Co.Inc., Chicago, 2000.

110. Newton C. R. Graham A., "PCR" Bios Scientific Publishers Limited, Oxford U.K.
111. Olive D.M., Bean P.: Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. J.Clin.Microbiol., 37:1661-1669,1999.
112. Orland F.J., Blayney J.R., Harrison, R.W.: Experimental caries germ-free rats inoculated with enterococci. J Am. Dent. Assoc., 50:259-272,1955.
113. Perch B., Kjerns E., Ravan T.: Biochemical and serological properties of *Streptococcus mutans* from various human and animal sources. Acta Pathol. Microbiol. Scand. B., 82:357-370, 1974.
114. Petti S.: Salivary distribution of *Streptococcus mutans* in school children from Rome. Eur.J.Epid., 13:113-115, 1997.
115. Pucci M.J., Tew J.G.: Human serum antibody response against *Streptococcus mutans* antigens. Infect.Immun., 51:600-606, 1986.
116. Redmo Emanuelsson I., Thornqvist E.: Distribution of mutans streptococci in families: a longitudinal study. Acta Odontol.Scand., 59:93-98, 2001.
117. Rooters F.J., van der Hoeven J.S., et.al.: Lactobacilli, mutans streptococci and dental caries: a longitudinal study in 2 year old children up to the age of years. Caries Res., 29:272-279, 1995.
118. Rosan B.,Lamont R.J.: Dental plaque formation. Microbes and infection., 2:1599-1607,2000.
119. Rudney J.D.: Saliva and dental plaque. Adv. Dent. Res., 14: 29-39,2000.
120. Russell R.R.B.: The application of molecular biological genetics to the microbiology of dental caries. Caries Res., 28:68-82,1994.

121. Saarela M., Alaluusua S., Takei T., Asikainen S.: Genetic diversity within isolates of mutans streptococci recognized by an rRNA gene probe. J. Clin. Microbiol., 31:584-587, 1993.
122. Saarela M., Alaluusua S., Takei T., Asikainen S.: Typing of mutans streptococci by arbitrarily primed polymerase chain reaction. Arch. Oral Biol., 41:821-846, 1996.
123. Salvador S.L., Grisi M.F.M., Romanelli R.G., Netto C.R.S., Schork N.M., Bretz W.A.: Similarities of periodontal clinical and microbiological parameters in mother-child pairs. Braz. Dent. J., 8(2):99-104, 1997.
124. Sambrook J., Fritsch E.F. and Maniatis T.: Molecular cloning. A laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor. NY., 1989.
125. Schaeken M.J.M., van der Hoeven J.S., Franken H.C.M.: Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. J. Dent. Res., 65:906-908, 1986.
126. Schleifer K.L., Klipper R., Krous J., Gehring F.: Relatedness and classification of *Streptococcus mutans* and mutans-like streptococci. J. Dent. Res., 63:1047-1050, 1984.
127. Shi S., Deng Q., Hayashi Y., Yakushiji M., Machida Y., Liang Q.: A follow up study On three caries activity tests. J. Clin. Pediatr. Dent., 27, Number 4, 2003.
128. Smith D.J., Anderson J.M., King W.F., Van Houte J., Taubman M.A.: Oral streptococcal colonization in infants. Oral Microbiol. Immunol., 8:1-4, 1993.
129. Smith D.J., King W.F., Wu C.D., Shen B.I., Taubman M.A.: Structural and antigenic characteristics of *Streptococcus sobrinus* glucan binding proteins. Infect. Immun., 66:5565-5569, 1998.

130. Smith D.J., Taubman M.A.: Development of salivary IgA antibody to oral streptococcal antigens associated with virulence. *Adv. Exp.Med. Biol.*, 371B:1141-1143, 1995.
131. Socransky S.: Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. *J. Clin.Periodont.*, 5: 16-21, 1976.
132. Southern E.M.: Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98: 503-507, 1975.
133. Straetemans M.M., van Loveren C., de Soet J.J., de Graaff J., ten Cate J.M.: Colonization with mutans streptococci and lactobacilli and the caries experience of children after the age of five. *J. Dent. Res.*, 77: 1851-5, Oct., 1998.
134. Svanberg M., Krasse B.: Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media. *Caries Res.*, 24:36-38,1990.
135. Tanzer J.M., Börjesson A.C., askowski L.: Glucose-sucrose-potassium-tellurite-bacitracin agar, an alternative to mitis salivarius-bacitracin agar for enumeration of *Streptococcus mutans*. *J.Clin.Microbiol.*, 20:653-659,1984.
136. Tedjosasongkoo U., Kozai K.: Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. *J. Dent.Child.*, 21:284-288, 2002.
137. Temizkan G., Arda N.: Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler. İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve genetik mühendisliği araştırma ve uygulama merkezi yayınları no:1, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 57-63,1999.
- 138.Temizkan G., Arda N. 101-120 Moleküler BiyolojideKullanılan Yöntemler. Nobel Tıp Kitabevi, 2004

139. Tenovuo J., Lehtonen O.P., Aaltonen A.S.: Serum and salivary antibodies against *Streptococcus mutans* in young children with and without detectable oral *Streptococcus mutans*. Caries Res., 21: 289-296, 1987.
140. Tenovuo J.: The microbiology and immunology of dental caries in children. Rev. Medical. Microbiol., 2: 76-82, 1991.
141. Thorild I., Lindau-Jonson B., Twetman S.: Prevalance of salivary *Streptococcus mutans* in mothers and in their preschool children. Int.J.Ped.Dent., 12:2-7,2002.
142. van Houte J., Jordan H.V., Ebersole J.L.: Infectivity and natural transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* in monkeys (*Macaca fascicularis*) at different ages. Arch. Oral Biol., 30: 345-351,1985.
143. van Houte J., Yanover L., Brecher S.: Relationship of levels of the bacterium *Streptococcus mutans* in saliva of children and their parents. Arch.Oral.Biol., 26:381-386, 1981.
144. van Houte J.: Bacterial specifity in the etiology of dental caries. Int. Dent. J., 30:305-326,1980.
145. van Houte J.: Microbiological predictors of caries risk. Adv. Dent. Res., 7(2): 87-96,1993.
146. van Houte J.: Role of microorganisms in caries etiology. J.Dent. Res., 73: 672-681,1994.
147. van Loveren C., Buijs J.F., ten Cate J.M.: Similarity of bacteriocin activity profiles of mutans streptococci within the family when the children acquire the strains after the age of 5. Caries Res., 34:481-485,2000.

148. van Palenstein-Heldermann W.H., Ijsseldijk M.: A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. Arch. Oral. Biol., 28:599-603,1983.
149. Vickermann M.M., Jones G.W.: Sucrose-dependent accumulation of oral streptococci and their adhesion –defective mutants on saliva-coated hydroxyapatite. Oral Microbiol. Immunol., 10:175-182,1995.
150. Wade W.G., Aldred M.J., Walker D.M.: An improved medium for isolation of *Streptococcus mutans*. J.Med. Microbiol., 22:319-323, 1986.
151. Welsh J., McClelland M.: Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res., 18:7213-7218,1990.
152. Whaley R.A., Beighton D.: Current classification of the oral streptococci. Oral Microbiol.Immunol., 13:195-216,1998.
153. WHO: Oral health surveys, Basic methods,ed 4. Geneva,World Health Organization,1987.
154. Young M.K.: Molecular and genetic analyses of *Actinomyces spp.* Crit.Rev. Oral Biol. Med.,10:120-138,1999.
155. Zickert I., Emilson C.G., Krasse B.: Effect of caries preventive measures in children highly infected with the bacterium *Streptococcus mutans*. Arch. Oral. Biol., 27:861-868, 1982.
156. Zickert I., Emilson C.G., Krasse B.: Microbial conditions and caries increment after discontinuation of controlled antimicrobial measures in Swedish teenagers. Comm.Dent. Oral.Epidemiol., 15:241-244, 1987.

10.ÖZGEÇMİŞ

20.2.1974 de İstanbul'da doğdum. İlkokulu Sarıyer Pertevniyal İlkokulu'nda okudum. Ortaokuldan lise sonuncu sınıfa kadar Şişli Terakki Lisesinde, lise son sınıfıda Yeni Levent Lisesinde okuyarak lise hayatımı tamamladım. 1993 yılında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine girip 1999 senesinde mezun oldum. 2000 yılında aynı Üniversitenin Pedodonti Anabilim Dalında doktora başlayıp halen bu kürsüde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Dt.Oya Öztan Peker ile evliyim.