

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Çakan**

**AĞIZ FLORASINDAKİ STREPTOKOKLARIN  
ADLİ BİLİMLERDE KİMLİKLENDİRME AÇISINDAN  
ARAŞTIRILMASI**

**FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MOL. BİYOLOG BUSE SABİHA BOZASLAN**

**İSTANBUL, 2016**



Bu tez projesi, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje Numarası: 20884

# TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamı gerçekleştirmeme imkan sunan

İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Müdürü

**Prof. Dr. Faruk AŞICIOĞLU'na,**

Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı

**Prof. Dr. Münevver AÇIKKOL'a,**

Yüksek lisans öğrenimim süresince tüm bilgi birikimi ve deneyimlerini paylaşarak vaktini bana ayıran ve her türlü desteği esirgemeyen, kıymetli Tez Danışmanım

**Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ÇAKAN'a,**

Yardımlarını esirgemeyen ve tecrübelerini paylaşan değerli hocam

**Doç. Dr. A. Ata ALTURFAN'a,**

Tecrübelerini bizimle paylaşan ve değerli vaktini bizlere ayıran değerli hocam

**Prof. Dr. Salih CENGİZ'e**

Bu süreçte yardımlarını esirgemeyen değerli hocam

**Yrd. Doç. Dr. Vecdet ÖZ'e**

Her zaman yanımda olan ve her türlü desteğiyle bu süreci beraber yürüttüğüm sevgili arkadaşım

**Mol. Biyolog Perihan Seda ATEŞ'e**

Beni yalnız bırakmayan ve anlayışı ile bana destek olan yakinen arkadaşım

**Arş. Gör. Dr. Melike BİLİR'e**

Tezime katkıda bulunan ve desteklerini esirgemeyen

Enstitümüzün tüm öğretim üyelerine ve çalışanlarına,

Beni hergün sabırla dinleyen ve varlığını hissettiren sevgili Annem ve manevi destekçilerim kız kardeşlerim İrem, Ayça ve Şevval'e,

Başta Enstitü Sekreteri Sn. Şaban Aykut olmak üzere tüm Enstitü, B.A.P. ve Etik Kurul çalışanlarına saygı ve minnetle teşekkür ederim.

**Buse Sabiha BOZASLAN**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR .....	I
İÇİNDEKİLER .....	II
TABLolar DİZİNİ.....	IV
ŞEKİL DİZİNİ .....	IV
GRAFİKLER DİZİNİ.....	IV
RESİMLER DİZİNİ.....	IV
KISALTMALAR.....	VI
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Ağız İçi Yapılar .....</b>	<b>5</b>
2.1.1. Dişler .....	6
2.1.2. Dil.....	6
2.1.3. Tonsiller.....	6
<b>2.2. Mikrobiyal Floralar .....</b>	<b>7</b>
2.2.1. Normal Flora.....	7
2.2.2. Kalıcı flora .....	7
2.2.3. Geçici Flora.....	7
<b>2.3. Ağız Ekolojisi .....</b>	<b>8</b>
2.3.1. Tükürük .....	9
2.3.2. Ağız Mikroflorası.....	10
<b>2.4. Streptokoklar .....</b>	<b>12</b>
2.4.1. Sınıflandırma .....	13
<b>2.5. Oral Streptokoklar .....</b>	<b>16</b>
2.5.1. <i>Streptococcus salivarius</i> .....	16
2.5.2. <i>Streptococcus mutans</i> .....	17
2.5.3. <i>Streptococcus mitior</i> .....	17
2.5.4. <i>Streptococcus anginosus</i> .....	17
2.5.5. <i>Streptococcus sanguinis</i> .....	17
2.5.6. <i>Streptococcus lactis</i> .....	18
2.5.7. <i>Streptococcus hansenii</i> .....	18

2.5.8. <i>Streptococcus morbillorum</i> .....	18
2.5.9. <i>Streptococcus parvulus</i> .....	18
2.5.10. <i>Streptococcus pleomorphus</i> .....	18
2.5.11. <i>Streptococcus faecalis</i> ( <i>Enterococcus faecalis</i> ).....	19
2.5.12. <i>Streptococcus faecium</i> ( <i>Enterococcus faecium</i> ).....	19
2.5.13. <i>Peptostreptococcus sp.</i> .....	19
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>20</b>
<b>3.1. Materyal Alımı</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2. Besiyeri Hazırlama ve Kültüre Alınma İşlemi</b> .....	<b>22</b>
3.2.1. Besiyeri Hazırlama.....	22
3.2.2. Mikroorganizmaların Ekim İşlemi.....	24
<b>3.3. Mikroorganizmaların Tayin Yöntemleri</b> .....	<b>24</b>
3.3.1. Preparat Hazırlanması.....	24
3.3.2. Boyama Yöntemi.....	25
3.3.3. Kullanılan Önemli Biyokimyasal Testler.....	26
<b>3.4. API 20 Strep Tayin Kiti</b> .....	<b>28</b>
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>29</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>39</b>
<b>6. ÖZET</b> .....	<b>44</b>
<b>7. SUMMARY</b> .....	<b>45</b>
<b>8. KAYNAKLAR</b> .....	<b>46</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>55</b>
Etik Kurul Onayı.....	55
Gönüllü Onam Formu.....	56
Gönüllü Anket Formu.....	58
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>59</b>

## TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Ağız içi flora bakterilerinin anatomik yapılarda bulunma oranları.....	11
Tablo 2: Streptokokların genişletilmiş sınıflandırması.....	15
Tablo 3:Streptokokların Ayırıcı Özellikleri.....	16
Tablo 4: Plaklarda üreme gösteren bakteri türlerinin modül materyallere göre dağılımı.....	30
Tablo 5: Gözlenen mikroorganizmaların plaklara göre dağılımı.....	34

## ŞEKİL DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Ağız içi yapılar .....	5

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 1: Üreyen mikroorganizma türlerinin modül materyallere göre dağılımı.....	35
Grafik 2: Streptokok türlerinin modül materyallere göre dağılımı .....	35
Grafik 3:Cinsiyet dağılımı.....	36
Grafik 4:Günlük diş fırçalama sayısı .....	36
Grafik 5: Sigara kullanım dağılımı.....	37
Grafik 6: Koruyucu diş tedavisi dağılımı .....	37

# RESİMLER DİZİNİ

## Sayfa No

Resim 1: Modül olarak; gönüllü kişiden ağız svabı alım işlemi .....	20
Resim 2: Modül olarak; gönüllü kişi tarafından ısırılmış elma .....	21
Resim 3: Modül olarak; gönüllü kişi tarafından kullanılmış sigara .....	21
Resim 4: Modül olarak; gönüllü kişi tarafından çiğnenmiş sakız .....	21
Resim 5: Hazırlanan besiyerlerinin görüntüsü .....	23
Resim 6: Alman örneklerin kültüre edilme işlemi .....	24
Resim 7: Gram boyama için hazırlanan preparatların görüntüsü .....	25
Resim 8: Lamda KOH testi .....	26
Resim 9: Streptokokların ayırımında kullanılan Basitrasin Testi .....	27
Resim 10: Streptokokların ayırımında kullanılan Optokin Testi .....	27
Resim 11: Örnek bir kökene ait tanımlanmış API 20 Strep Tayin Testi .....	28
Resim 12: (a) Ağız ve Elma svaplarının ekildiği plak görüntüsü (b) Sigara ve Sakız svaplarının ekildiği plak görüntüsü .....	29
Resim 13: (a) Tanımlanan <i>S.mitis</i> 'in API sribi, (b) Tanımlanan <i>S.galloyticus</i> 'un API sribi .....	36
Resim 14: (a,b). Alfa hemolitik streptokokların mikroskop görüntüsü (10x100 büyütme) .....	37
Resim 15: (a,b) Beta hemolitik streptokokların mikroskop görüntüsü (10x100 büyütmeye) .....	38
Resim 16: (a) KNS mikroskop görüntüsü (10x100 büyütmeye), (b) <i>Staphylococcus aureus</i> mikroskop görüntüsü (10x100 büyütmeye) .....	38

## KISALTMALAR

- API** : Analytical profile index
- TCK** : Türk Ceza Kanunu
- pH** : Power of Hydrogen - Hidrojenin gücü
- C°** : Santigrad derece
- DNA** : Deoksiribo nükleik asit
- PYR** : L-pironidonil arilamidaz
- SXT** : Trimetoprim-sülfametoksazol
- KNS** : Koagülaz Negatif Stafilokok



# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adli bilimlerde suç soruşturmasının en önemli bölümünü olay yeri incelenmesi ve buradan elde edilen bulgular oluşturur. Olay yerinde, olayın türüne, işleniş şekline ve sonucuna göre çeşitli deliller bulunabilir (1). Adli soruşturmanın önemli bir basamağı olan olay yeri incelemesinde; olay yerinde bulunan ve olay ile ilişkili birçok materyal delil olabilmektedir (2).

Gözle görülebilir bu delillerin yanısıra; materyaller üzerinde görünmeyen mikroorganizmalar da delil olarak değerlendirilmektedir (3). Mikroorganizmalar, olay yerinde çeşitli objeler üzerinde bulunabileceği gibi kişilere ait biyolojik kanıtlar üzerinde veya kişilerin bedenleri üzerinde bulunabilmektedir (4). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, insan bedeni yüzeyindeki bakteri topluluklarının tespitinin, adli bilimlere yeni bir bakış açısı getirebileceği gösterilmiştir. Kişiler, vücutları üzerindeki bölgelerde kendilerine özgü mikroorganizmalar taşırlar. Bu mikroorganizmalara kişilerin bulunduğu olay yerinde rastlamak mümkündür (5).

Mikroorganizmaların olay yerinde bulunabileceği biyolojik kanıtlar ise; tükürük, kan, semen gibi serolojik sıvılar olabilmektedir (6). Mikroorganizma içeriği açısından zengin ve biyolojik bir sıvı olan tükürüğün biriktiği ısırık izlerinin özellikleri tıpkı parmak izleri gibidir ve ikizlerde bile farklılık taşımaktadır (7). Isırık izleri suç kapsamında meydana geldiğinde; adli bilimcilere, fiziksel ve biyolojik kanıtlar sağlamaktadır (8). Isırık izleri olay yerinde; herhangi bir objede olabildiği gibi mağdur veya suçlu kişilerin vücutlarında bulunabilmektedir. Isırık izlerinde aynı zamanda; bir vücut sekresyonu olan tükürük birikebilmektedir (9). Tükürük içerisinde var olan mikroorganizmalar suç soruşturmasına yeni bir boyut kazandırmaktadır.

Bu açıdan adli bilimlerin çalışma alanlarından biri olan adli mikrobiyoloji, değişen toplumsal yaşam sonucu, suç işleyenleri tanımlamak ve masumları korumak amacıyla bu mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmıştır. Gelişen teknolojiyle birlikte adli mikrobiyoloji artık durağan kalmayıp suçun her alanına girmeye başlamıştır (10).

Tükürük, içerisinde çeşitli mikroorganizmaları barındıran kompleks bir vücut sıvısıdır. Ağız mikroflorası açısından bakıldığında tükürük içerisinde oransal olarak en

fazla bulunan mikroorganizma streptokok türleridir (11). Çalışmamızda; oral mikroflorada var olan streptokokları, tanımlayıp ısırılan objeler(elma, sakız, sigara vb.) deki streptokoklarla karşılaştırarak; bu mikroorganizmaların adli kimliklendirme açısından kullanılıp kullanılamayacağını tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma sonucunda olay yerinden elde edilen deliller üzerindeki ısırık izinden elde edilen, biyolojik bir delil olan tükürüğün içinde var olan mikroorganizma(bakteri) ların, kanıtlanması esasına dayanarak suç soruşturmasına yeni bir bakış açısı kazandırılması hedeflenmektedir. Aynı zamanda ağız mikroflorası içinde var olan ve popülasyonda sadece o kişiye ait mikroorganizmaların tespit edilmesi; kişilerin o popülasyonda diğer bireylere göre mikrobiyolojik açıdan fark oluşturup oluşturmayacağını araştırılması da hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

Adli bilimlerin çalışma alanlarından biri olan adli mikrobiyoloji; değişen toplumsal yaşam sonucu, suç işleyenleri tanımlamak ve masumları korumak amacıyla mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmıştır (10). Bu açıdan son yıllarda popüler olmaya başlayan İnsan Mikrobiyom Projesi (Human Microbiome Project, HMP) 2007 yılında Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health, NIH) tarafından başlatılmıştır (12). İnsan Mikrobiyom Projesi, İnsan Genom Projesi'nin deneysel bir devam projesi olarak geliştirilmiştir. Projenin amaçları arasında; insan vücudunda bulunan tüm mikroorganizmaları tanımlamak, insanlar arasındaki mikrobiyom farklılıklarını tanımlamak ve mikrobiyomların hastalıklarla ilişkilendirilip ilişkilendirilemeyeceğini araştırmak gibi hedefler bulunmaktadır (13). Projeye göre nazal, oral, deri, gastrointestinal, ürogenital bölgeler olmak üzere beş farklı mikrobiyom veri tabanı oluşturulması hedeflenmiştir. İnsan vücudunda tanımlanan mikroorganizmaların %26'sı oral ve %21'i ise deri üzerinde bulunmaktadır (14). İnsan Mikrobiyom Projesi kapsamında aynı zamanda İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi (Human Oral Microbiome, HOM) de yürütülmekte ve İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı (Human Oral Microbiome Database, HOMD) ([www.homd.org](http://www.homd.org)) oluşturulmaktadır. Bu sayede farklı kişilerdeki benzer ve değişken bölgelerde, farklı zamanlardaki bakteri topluluklarının filogenetik ağaçtaki uzaklık ölçümü analizi ve tükürük mikrobiyomu pirosekanslaması ile birleştirilerek çalışıldığı zaman; aynı kişiden bir ay süresince alınan üç örneğin görece stabil olduğu belirlenmiştir (15). Bu bilgi gelecekte tükürükten adli tanımlamada yararlanabilme olasılığını göstermektedir. Ayrıca tükürük mikrobiyom profilinin ağız ve sistemik hastalıklarla ilişkisi açısından tanı aracı olarak kullanılabilir.

Bu proje kapsamında yapılan çalışmalara bir diğer örnek ise; insan bedeni yüzeyindeki bakteri topluluklarının tespitinin, adli bilimlere yeni bir bakış açısı getirebileceği gösterilmiştir. Kişiler, vücutları üzerindeki bölgelerde kendilerine özgü mikroorganizmalar taşırlar. Bu mikroorganizmalara kişilerin bulunduğu olay yerinde rastlamak mümkündür (5).

Kazalarda, cinayetlerde, tecavüz olaylarında ve çeşitli saldırı olaylarında, mağdurun ve suçlunun vücudunda bulunan veya herhangi bir objenin üzerinde bulunan

ısırık izleri ve olay yerinde bulunan dişler, kimliklendirme ve suç tespiti açısından oldukça önemlidir. Adli bilimler içerisindeki adli diş hekimliği; dişler, diş yapısının yanısıra ısırık izlerinin incelenmesiyle kimliklendirme çalışmalarını yürüten bir çalışma alanıdır (16).

Dişlerin etki ettikleri yüzeylerdeki değişim, bozulma ve bırakılan izler; ısırık izleri olarak tanımlanır. Adli olguların incelenmesinde ısırık izleri, olay yerinde; cinsel saldırılarda, çocuk istismarında ve kişisel savunma gibi olgularda görülebilmektedir. Adli olgularda genellikle ısırık izleri, mağdur veya failin üzerinde olması durumunda önem kazanmaktadır. Isırık izlerinin delil olarak değerlendirilmesi kapsamında Türk Ceza Kanunu (TCK) cezai yaptırımlar içermektedir. TCK'nın 86 ve 87. maddelerinde yaralanmalar, 102 ve 103. maddelerinde cinsel saldırılar, 94 ve 96. maddelerinde eziyet ve işkence, 232. madde aile bireylerine karşı kötü muamele gibi konu başlıklı kanunlarda yer alan ısırık izleri ile ilgili yaralanmalar sonucu oluşabilecek olguları tanımlar ve bu olgular sonucu uygulanacak cezai yükümlülükleri içerir (17). Bazı olgularda ısırık izleri yiyecek ve cansız materyaller üzerinde de bulunabilmektedir. Bu durumda ısırık izleri, olayı aydınlatma özelliği açısından büyük önem taşımaktadır. Isırma eylemi sırasında dişlerin materyal üzerinde bıraktığı izlerde tükürük salgısı da birikmektedir. Bu özelliği açısından tükürük olay olgusu incelemelerinde biyolojik bir delil olarak kategorize edilir (9).

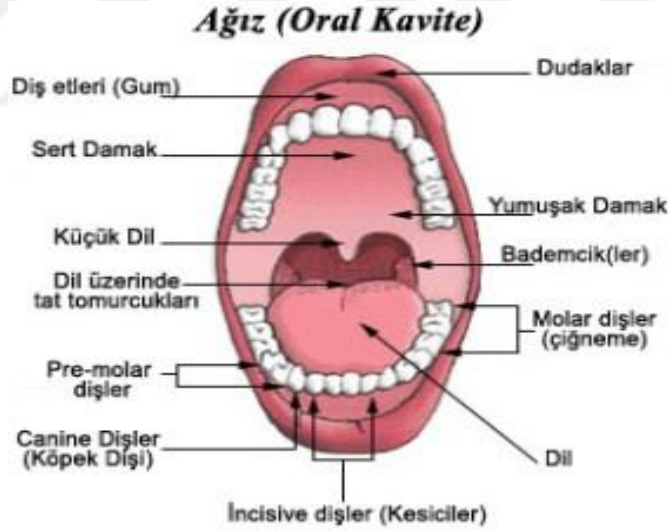
Isırık izlerinin fiziksel özelliğinin araştırılmasının yanı sıra biyolojik özellikleri de araştırılmalıdır. Isırma sürecinde ağız temasıyla bulaşan tükürük, önemli bir biyolojik kanıttır. Tükürük, çoğu kriminal olaylarda mağdurun ya da sanığın ısırık izlerinde birikmektedir. Olay yerinde ısırık izlerine; sigara izmaritleri, posta pulları, zarflar ve gıda maddeleri gibi pek çok çeşitli objeler üzerinde rastlamak mümkündür (18).

Tükürüğü objeler üzerinde tanımlamak için; phadebas kağıt (renk veren indikatör) ve amilaz testleri uygulanarak tükürüğün görünür hale gelmesi sağlanır. Böylece svap tekniğiyle objeler üzerinden alınarak; gerçeği sunan deliller haline getirilir (19). Tükürük, ağız boşluğunda salgılanan ve ortamın pH'sını kontrol eden özel bir vücut sıvısıdır (20).

İnsanların ağız boşluğu, kompleks olup çeşitli mikroorganizmaların bulunduğu bölgedir. Ağız içerisindeki diş durumuna göre, dişler çıkmadan önce; aerob ve anaerob stafilokok, Gram negatif diplokok ve difteroidler bulunurken; dişlerin çıkmasıyla, anaerob streptokok, laktobasil, fusiform basil ve bakteroidesler yer almaya başlar. Tükürük bakterilerinin asıl kaynağını dil ve dişler oluşturmaktadır (21). Tükürükte bulunan Streptokoklar, hem çürük hem de diğer hastalıkların kaynağını oluşturan önemli bir bakteridir. Streptokoklar, kanlı jelozda sınıflandırılmalarına göre; alfa, beta, gama hemolitik gruplara ayrılır. Ağız içinde ise alfa ve beta hemolitik streptokoklar, anaerob streptokok ve enterekok türleri bulunmaktadır (22).

## 2.1. AĞIZ İÇİ YAPILAR

İnsanların ağız boşluğunda temel olarak; dudak, dişler, diş etleri, dil, damak, yanaklar, tonsiller, gırtlak gibi yapılar bulunmaktadır (Şekil-1).



**Şekil 1: Ağız içi yapılar**

([www.depositphotos.com/mouth-anatomy](http://www.depositphotos.com/mouth-anatomy))

### 2.1.1. Dişler

İnsan vücudunun en sağlam yapısı olan dişler, kron ve kök olmak üzere iki kısımdan oluşur. Kron üzeri mine %97 kalsiyum tuzlarından oluşan sert yapıda mine tabakasından oluşur. İç kısımda dentin ve dişin beslenme ve gelişiminden sorumlu pulpa bulunur. Yetişkin bir insanın ağız boşluğunda; santral (kesici), lateral ve kanin dişleri ısırma işleminden; premolar ve molar dişler ise çiğneme işlemlerinden sorumlu olan dişlerdir (23). Dişler streptokok türü ve diğer bakterilerin yerleşimi için en elverişli alanlar olarak bilinir. Diş plağı, diş eti üzerindeki, diş ve protezler üzerinde bulunan mikroorganizma kümeleridir. Bu kümeler kalıcı florayı oluşturur. Dişler üzerinde bulunan ve tükürükten gelen aminoasitler ve peptidler mikroorganizmaların üremesi için ortam sağlar. Yapılan çalışmalarda üst ve alt kesici dişlerden alınan diş plağı örneklerinde var olan bakterilerin büyük çoğunluğunu streptokoklar oluşturmaktadır. Bu bakterinin yanısıra; difteroidler, peptostreptokoklar, *Veillonella sp.*, *Bacteroides sp.*, *Fusobakter sp.*, *Neisseria sp.*, *Vibrio sp.* türleri de bulunmaktadır (24).

### 2.1.2. Dil

Ağız boşluğunda bulunan, papillalardan oluşan ve tat alma duyusunu sağlayan kaslı organdır. Isırma ve çiğneme işleminde parçalanmış maddelerin yutağa taşınmasına yardımcı olur. Dil florası, tükürük florasının oluşmasını sağlayan en büyük etmendir. Genel olarak dil florası ve diş florası mikroorganizmaları tür ve cins açısından benzerlik gösterir. Dilde bulunan bakteriler ise; streptokoklar, *Veillonella sp.*, difteroidler, stafilokok, *Fusobacterium sp.* ve *Vibrio sp.* türleridir (25).

### 2.1.3. Tonsiller

Tonsiller, ıslak epitel membranlarla sıkı ilişkide olan, kapsülsüz ağız boşluğundan farenkse uzanan yapının her iki yanında bulunan lenfoid doku topluluklarıdır. Palatin, farengeal ve lingual üç tonsil grubu, oral ve nazal pasajların birleştikleri yerde, farenksi saran bir lenfoid doku halkası meydana getirirler. Ağız içi oral floranın oluşmasında, oral floranın yutağa taşınmasında önemli rol oynar. İmmün sistemin önemli bileşenlerinden olan tonsiller, mikroorganizmalar sebebiyle enfeksiyon kaynağı olabilmektedirler. Yapılan çalışmalara göre; tonsillerde var olan bakteriler arasında çoğunluk açısından ilk sırayı beta hemolitik streptokok alır. Bu bakterinin yanısıra tonsil florasında; Alfa hemolitik streptokoklar, *Staphylococcus*

*aureus*, koagülaz negatif stafilokok (KNS), Non-hemolitik streptokok, *Pseudomonas sp.*, *E. coli*, *Enterobakter sp.* gibi bakteriler de bulunabilmektedir ( 26).

## **2.2. MİKROBİYAL FLORALAR**

### **2.2.1. Normal Flora**

Vücutun çeşitli bölgelerinde yoğunlaşmış ve organizmaya zarar vermeksizin yaşamlarını devam ettiren mikroorganizma topluluğudur. Normal flora, patojen organizmalarla rekabet halinde olduklarından enfeksiyona karşı koruyucudur. Ağız mikroflorasına bakıldığında; bu mikroorganizmalar diş eti oluğunda yaşayan anaeroblar ve diş çevresinde aerob olan bakteriler gibi simbiyotik, *Staphylococcus aureus*'un ürettiği K vitamini benzeri madde ile yaşayan bakterioides gibi kommensallik, bazı streptokokların ürettikleri bakteriyosinlerin( bakterilerin ürettikleri zehirli proteinler) enterekokları inhibe ettiği gibi antagonistik, fusiform ve spiroketlerin beraber olarak bulunması gibi sinerjetik, çürük etkeni olan streptokoklar gibi parazitik şekilde olabilmektedir (27)

### **2.2.2. Kalıcı flora**

Belirli bölgelerde belirli şartlar altında yaşayan, çeşitli etkenlerle kaldırılrsa bile tekrar kendiliğinden yeniden oluşan floradır. Organizmanın savunma gücü var olduğu sürece enfeksiyon oluşturmazlar. Örneğin romatizma sonucu anormal olan kalp kapakçıkları varsa; ağız içindeki streptokoklar, kana karışıp bu bölgeye yerleşerek subakut endokardite neden olurlar. Ayrıca yapay kalp kapakları ve yapay damarları da enfekte ederler çünkü bu yapay dokuların savunma mekanizması yoktur (28,29).

### **2.2.3. Geçici Flora**

Vücutun belirli bölgelerinde bir süre kaldıktan sonra kaybolan veya yerini başka mikroorganizmalara bırakan floradır. Kalıcı flora ile buldukları sürece enfeksiyon oluşturmazlar. Fırsatçı patojenler kalıcı flora kaybolunca hastalık etkeni olmaktadır (28,29).

### 2.3. AĞIZ EKOLOJİSİ

Ağız içinin mikroorganizmaların üremesi için sağladığı koşullar, ağızın ekolojisi olarak bilinir. Ağız içi floranın oluşmasında bazı ekolojik determinantlar sağlanmalıdır. Bunlardan biri olan oksijen dudakların açık veya kapalı olmasına bağlı olarak; bakteri florasında değişimlere sebep olmaktadır. Örneğin *Bacillus* cinsi bakteriler bol oksijene ihtiyaç duydukları için ağız florasında genelde bulunmayabilirler (30). Bir diğer determinant ise; ağız içi pH değeridir. Ağız içi pH değeri 5-8,5 arası değişmektedir. Örnek olarak laktobasil, streptokok, bakteroides gibi türler düşük pH tercih ederken; spiroket ve vibrio türleri yüksek pH'da üremeyi tercih eder. Bir diğer determinant olan sıcaklık da bakterilerin florasını etkilemektedir. Ağız boşluğu bakterilerin üremeleri için gerekli olan 35-36 °C sıcaklığı sağladığı için bir çok türden bakterinin çoğalmasına elverişli bir ortamdır. Dudakların aralık olmasıyla; hava akımı ön dişlerde sıcaklığın daha düşük olmasına neden olur ve bu durum bakteri florasının etkilenmesine neden olur. Örneğin laktobasiller, düşük ısıda çoğalamadıkları için ön dişlerde bulunmayabilirler (31). Ağız içinde bulunan metalik restorasyonların (koruyucu diş tedavisi) oluşturduğu galvanik akımlar bakteri listesini etkileyen bir diğer determinanttır (32).

Ağız boşluğu, içinde yaşayan bakterilerin bu denli üreyebilecekleri bir ortam oluşması için uygun biyofiziksel koşulların yanında beslenme koşulları da sağlamaktadır. Ağız içindeki besin artıkları, tükürükten ve diş eti oluşturan gelen aminoasitler, albümin, globülin, inorganik iyonlar, glukoz ve hormonlar, çürüklerdeki dentin limfi ve kollajen, diş eti altındaki bağ dokunun yapı taşları, bakteri ölümleri, mukozadan dökülen ölü epitel hücreleri, kan hücreleri, bakterilerin ağız içindeki beslenme kaynaklarıdır (33).

Ağız içi floranın kişiler arasında farklılık göstermesini sağlayan diğer determinantlar ise ağıza yabancı cisim koyma alışkanlığı, bakteri sayısını önemli ölçüde etkileyen ağız hijyen alışkanlığı ve ağız içi mukoza hücrelerinin yaşlanarak ya da aşınarak ağız içine dökülmesi olayı olarak bilinen deskuamasyon bakteri florasında flora dalgalanmasına neden olur (33,34).



### 2.3.1. Tükürük

En baskın ekolojik determinant olan tükürüğün konak savunmasında; yıkama etkisi, dilüsyon etkisi, tampon etkisi, antibakteriyel etki, immün savunma etkisi gibi etkileri bulunmaktadır (35). Ağız içi epitel dokuda majör ve minör olmak üzere iki ayrı bezden sentezlenen bir vücut sıvısıdır. Tükürüğün büyük kısmı parotis bezinden salgılanır. Tükürük salgısı, sinyal iletim reseptörleri aracılığıyla; otonom sinir sistemi tarafından düzenlenir. İnsanlarda günlük salgı miktarı 0,5-1,5 litre arası değişmektedir. Az su tüketimi olan kişilerde tükürük salgısının azaldığı ve bakteri oranında artış olduğu gözlenmiştir (36). Tükürük pH'sı 5-8,5 arası ölçülmektedir ve bu durum ağız içini asitleşmeye karşı korumaktadır. Tükürüğün redüksiyon potansiyeli 240-400 mV iken anaerob infeksiyonu yalnız -10 ve -20 mV arası olduğundan; bu durum bakteri üremesini inhibe eder (37) Tükürük içerisinde bakterilerin tutunmasını sağlayan moleküller de içerdiğinden; bakterileri ortamdan uzaklaştırabilmektedir (38).

Tükürüğün içinde bulunan tüm antimikrobiyal maddelere inhibin adı verilir. Örneğin tükürükte var olan zidin, *Corynebacterium diptheriae*'nin ağız içinde tutunmasının engellemektedir. Bir diğer inhibin madde ise lizozimlerdir. Lizozim lökosit ve granülositten oluşan bir enzimdir. Lizozim enzimi, *Neisseria sp*, *Sarcinia sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Micrococcus sp.* bakterilerini inhibe ederken *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenicus*, *Eubacterium sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Treponema sp.* gibi bakteri floraları üzerinde etkisizdir. Lizozimlerin etki mekanizmaları, bakterilerin hücre membran yapılarını bozarak bakterilerin L forma geçmesi şeklindedir. L formdaki bir bakteri infeksiyona veya diş çürüğüne sebep olamaz (39). Bir diğer inhibin madde olan laktobasidin, laktobasillerin üremesini engeller. Laktobasidin enzimini peroksidaz, hidrojen peroksit ve tiyosiyanat yapıtaşlarından oluşmaktadır. Tiyosiyanat bileşeni, sigara ve benzeri tütün ürünlerinden gelmektedir. Bu nedenle tütün ürünleri kullanan kişilerin ağızlarında laktobasiller inhibe olmaktadır (40). Ayrıca tükürük içerisinde IgA, IgM gibi antikorlar da bulunmaktadır. Tükürüğün %99.5'i su ve %0.5'i üre, amonyak, ürik asit, glikoz, kolesterol, lipit, protein, sülfat, bikarbonat gibi moleküllerdir. Bu moleküllerden proteinler, diş yüzeyine yapışıp bakteriler için spesifik bağlanma bölgeleri içerdiğinden dolayı oral floranın oluşmasını sağlar (20). Kişilerde yaş,

beslenme, hastalıklar, ilaç kullanımı, hormonal aktivite açısından farklılıklar, tükürüğün salgılanma oranında değişim göstermesine neden olan etmenlerdir. Bu nedenle dolaylı olarak salgı miktarında oluşan farklılıklar bakteri oranında da farklılıklara neden olmaktadır. Tükürük florasının %47'sini streptokoklar oluşturur (41). Tükürük florasının ana kaynağı dildeki flora olarak değerlendirilmektedir.

### 2.3.2. Ağız Mikroflorası

Ağız boşluğu mikroflorası, bakteriler, mayalar, mantarlar, viruslar ve protozoanları içermektedir. Ağız florası bakteriler yönünden incelenirken; mikroorganizmaların ilk yerleşimi doğumla başlamaktadır. Doğumda bebeğin ağız steril olabilir ya da stafilokok, streptokok, koliform gibi türlerle sürece bağlı kontamine olabilir. Bebeğin bulunduğu ortama göre ağız florası oluşmaya başlar. Yapılan çalışmalara göre *Streptococcus salivarius* ağız ortamına yerleşen ilk bakteri türü olarak belirlenmiştir (42). Anaerob fusiformlar birinci kesici dişlerin çıkmasıyla floraya yerleşir. Peptostreptokoklar, 5 aydan sonra ağız florasındaki yerini almaya başlar. Dişler çıkmadan önce daha çok fakültatif bakteri türleri çoğunlukta iken; dişler çıktıktan sonra anaerob bakteri türleri çoğunluk gösterir. Yapılan araştırmalarda dişler çıkmadan önce ve sonra bulunan tek bakteri türü streptokoklardır. Yeni doğanlarda en önemli streptokok türü B grubu olan *Streptococcus agalactia*, bebeğin ağız florasına yerleşmesiyle neonatal menenjit hastalığına sebep olmaktadır (43).

Doğumdan 4-12 saat sonra üremeye başlayan bakteriler çocukluk döneminde dişler çıkmadan önce ve sonra olmak üzere iki kısma ayrılır. Dişler çıkmadan önce Stafilokoklar, *Neisseria sp*, *Corynebacterium sp.*, nadiren *Lactobacillus sp.* bulunurken; dişler çıktıktan sonra, anaerob spiroketler, *Bacteroides sp.*, Fusiform basiller, *Lactobasillus sp.*, *Candida sp.* ve *Actinomyces sp.* ortama hakim olurlar. Bunlar ağız içi ortamda kalıcı flora oluştururken, geçici flora olarak; *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Rickettsia sp.* gibi türlerde bulunabilir. Pnömonok ve *Klebsiella* türleri ağız içi ortama tutunamadıkları için florada bulunmaları imkansızdır (44).

Erişkinlerde ağız florası ise; Streptokoklar, Anaeroblar (*Bacteroides sp.*, *Porphyromans sp.*, *Prevotella sp.*, *Mitsuokella sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Capnocytophaga sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Selenomonas sp.*, *Leptothrichia sp.*, *Eubacterium sp.*,

*Veillonella sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Actinomyces sp.*), *Actinobacillus sp.*, Gram negatif bağırsak bakterileri, Stafilokoklar, diğer mikroorganizmalar ve *Candida albicans* bulunur (45,46).

Erişkinlerde ağız içi flora genel olarak tanımlanırsa: Gram pozitif olanlar; *Staphylococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Peptostreptococcus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Nocardia sp.*, Gram negatif olanlar; *Neisseria sp.*, *Veillonella sp.* *Bacterioides sp.* gibi bakterilerdir. Ağız içindeki bu kalıcı floraya ek olarak ağız içinde; *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Alcaligenes sp.* gibi türler geçici olarak bir süreliğine bulunabilirler (45,46).

**Tablo 1: Ağız içi flora bakterilerinin anatomik yapılarda bulunma oranları**

Diş Plağı Florası	Diş Eti florası	Dil Florası
Fakültatif streptokoklar %27	Gram + fakültatif kok %28.8	Fakültatif streptokok %38.3
Fakültatif difteroidler %23	Gram + anaerob kok %7.4	Veillonella %14.5
Anaerob difteroidler %18	Gram + fakültatif çomak %15.3	Fakültatif difteroidler %13
Peptostreptokoklar %13	Gram + anaerob çomak %20.2	Anaerob difteroidler %7.4
<i>Veillonella sp.</i> %6	Gram – fakültatif kok %0.4	Stafilokok-mikrokok %6.5
<i>Bacterioides sp.</i> %4	Gram – anaerob kok %10.7	<i>Bacterioides sp.</i> %5.3
Fusobakteriler %4	Gram – fakültatif çomak %1.2	Peptostreptokok %4.2
<i>Neisseria sp.</i> %3	Gram – anaerob çomak %16.1	<i>Neisseria sp.</i> %2.3
<i>Vibrio sp.</i> %2	Spiral %2	<i>Vibrio sp.</i> %2.1

Erişkinlerde ağız içindeki anatomik yapılar olan diş plağı, diş eti ve dil florasındaki bakterilerin bulunma yüzdeleri Tablo-1’de gösterilmektedir. Bu bakteriler ağız içindeki yerleşik halde bulunan ve kalıcı florayı oluşturan bakteri türleridir. Tablodan yola çıkarak ağız içinde diş plağı ve dil gibi yapılarda fakültatif streptokoklar diğer bakterilere göre; büyük oranda bulunmaktadır (21).

Ağız içindeki normal flora bakterileri enfeksiyon ve hastalığa da neden olabilecek patojenitededir. Diş çürüğü, periodontal hastalıklar, diş eti iltihabı ve subakut bakteri endokarditi gibi hastalıklara neden olmaktadır (47). Ağız içi patojenitede olan

bakteriler ise; *Streptococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Camphylobacter sp.*, *Actinomyces sp.*, *Eubacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Veillonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Bifidobacterium sp.* Bu patojenler haricinde florada geçici olarak; *Acetovibrio sp.*, *Acidominococcus sp.*, *Butyrivibrio sp.*, *Desulfuromonas sp.*, *Pectinatus sp.*, *Lachnospira sp.*, *Succinimonas sp.* gibi patojen gruplara da rastlanabilmektedir (48).

#### 2.4. STREPTOKOKLAR

Ağız florasında doğumdan itibaren bulunan Gram pozitif, katalaz negatif, 2µm' den küçük, yuvarlak veya oval yapılı, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob olan genelde peş peşe dizilmiş zincir şeklinde yapıları olan mikroorganizmalardır. Hücre çeperleri tipik Gram pozitifler gibi; glukozaminli peptidoglikan, muramik asit ve galaktozamin içerir. Yüzey protein antijenleri ve teikoik asit içerikleri tür ve grup değişikliklerinden sorumludur. Lipoteikoik asit yapıdaki pilileri epitel hücrelerine yapışmalarını sağlar ve pH 7,4-7,6 arası optimal üreme gösterirler. Çoğu türleri %5 CO<sub>2</sub> varlığında daha iyi üreme gösterir (özellikle *Streptococcus pneumoniae*). İnsanlarda muköz zarlarda kommensal bakteriler olarak veya deri florasında geçici olarak bulunabilirler. Normal vucüt florasında bulunabildiği gibi süt ve süt ürünlerinde de bulunabilirler (49).

Özellikle koyun kanı ile zenginleştirilmiş besiyerinde üretilirler. Çok hassas bakteriler olduklarından ısıya, antiseptik ve dezenfektanlara karşı dayanıklı değildir. Streptokokların; viridans (oral) olarak adlandırılan alfa hemolitik grupları (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus bovis*) ve piyojenik olarak adlandırılan beta hemolitik grupları (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae*) bulunmaktadır. Ayrıca; A grubu beta hemolitik streptokokların tümü penisiline duyarlı iken; Viridans (oral) gruplarının alfa hemolitik streptokokları, penisiline direnç göstermektedir (50).

Streptokoklar, vücudun diğer dokularında var olan mikroorganizmalar gibi patojenite özelliği taşıyabilmekte ve çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. En çok bilinen *Streptococcus pyogenes*; üst solunum yolları ve deri enfeksiyonlarının ilk odağıdır. Farenjit ve impetigonun etkenidir. Deride; bakteriyemi, sepsis, sellülit gibi

doku lezyonlarına sebep olmaktadır. *Streptococcus agalactiae* ise; yeni doğanlarda sepsis, pnömoni ve menenjit etkenidir. *Streptococcus dysgalactiae*; üst solunum yolları enfeksiyonu, yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriemi, endokardit sebebi olmaktadır (51). *Streptococcus anginosus*; orofarengeal, ürogenital, gastrointestinal sistemde bulunur. Beyin ve karaciğerde apse oluşumundan sorumludur (52). *Streptococcus pneumoniae*, Solunum yoluyla bulaşabilen, pnömoni etkeni patojendir. Menenjit, orta kulak iltihabı, sinüzit, endokardit sebebi de olabilmektedir. *Streptococcus mitis*; ağız boşluğu, gastrointestinal ve genital yolun düzenli florasıdır. Endokardit kapak enfeksiyonlarında bulunabilir (53). *Streptococcus salivarius*; bakteriyemi, endokardit, iyatrojenik menenjit etkeni olabilmektedir (54). *Streptococcus mutans*; diş çürüklerinin ilk etmenidir ve bulaşıcıdır (55). *Streptococcus bovis*; bakteriyemi, endokardit, sepsis olgularında rastlanır (56).

#### 2.4.1. Sınıflandırma

Streptokokların adlandırılması oldukça karmaşık olduğundan bilim insanları bu karmaşıklığa çözüm üretmek için streptokokları taksonomik gruplara ayırmıştır (50).

##### a. Hemolitik Özelliklerine Göre Sınıflandırma

**Alfa hemolitik streptokoklar:** Kanlı agarda üretildiklerinde eritrositleri tam olarak hemoliz edemediklerinden yeşilimsi bir zon oluştururlar. Bu türlere, viridans da denmektedir. Lancefield'in serolojik gruplarına girmezler. *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus salivarius* türü ağızda çoğunlukla bulunur. Her iki tür apselerde, ülseratif stomatitde, kök kanalları ve çürük lezyonlarında bulunur. Kana karışan alfa hemolitik streptokoklar kalp kapakçığına yerleşerek subakut endokardite neden olmaktadır (57).

**Beta hemolitik streptokoklar:** Kanlı agarda üretildikleri zaman kolonilerin etrafındaki eritrositlerin tam olarak hemoliz olmasıyla şeffaf zonlar oluşturan gruptur. Lancefield'in serolojik gruplarından A grubudur. Beta hemolitik streptokoklar insanlarda anjin, kızıl, akut romatizma etkeni olabilmektedir. Beta hemolitik streptokoklar hem ağız boşluğunda hem de boğazda bulunabilmekte ve enfeksiyonlara neden olabilmektedir (58).

**Gama hemolitik streptokoklar:** Kanlı agarda hemoliz yapmayan streptokoldür (58,59).

## **b.Antijenik Yapılarına Göre Sınıflandırma**

Lancefield tarafından yapılan sınıflandırmadır. Hücre duvarındaki C polisakkaritlerin serolojik farklılıklarına dayanır. A,B,C,D...V'ye kadar gruplara ayrılmıştır. İnsanlarda A,B,C,D ve G gruplarındaki bakteriler bulunur (60).

- **A grubu streptokok:** *Streptococcus pyogenes*'i kapsar. Beta hemolitik ve üst solunum yolları patojenidir. Oral patojen değildir. Bakterinin M proteini konak dokuya tutunmayı sağlar (60,61).
- **B grubu streptokok:** *Streptococcus agalactiae*'dir. Yeni doğanların ağız florasında ilk 4 ay bulunduktan sonra ağız florasından ayrılır (60,61).
- **C grubu streptokok:** *Streptococcus mitior*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus morbillorum*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus anginosus* gibi türleri kapsar. Alfa hemolitik ve kısa zincirlidirler ve endodontik patojenlerdir (60,61).
- **D grubu streptokok:** *Streptococcus avium*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus gallinarum* gibi bağırsakta yaşayan enterik bakterilerdir. Grubun ortak özelliği, safraya karşı tolerans göstermeleridir. Endodontik patojenlerdir (60,61).

## **c.Sherman Sınıflandırması**

Biyokimyasal yapılarına, üreme özelliğine, hemoliz özelliğine, ve antijenik yapısına göre; Piyojen, Viridans, Laktik, Enterekoklar şeklinde sınıflandırılmıştır (62).

**Piyojenik Streptokoklar:** *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus iniae* türleridir.

**Oral(Viridans) streptokoklar:** *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans* türleridir.

**Enterekoklar:** *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus avium*, *Streptococcus gallinarum* türleridir.

**Laktik streptokoklar:** *Streptococcus lactis*, *Streptococcus raffinolactis* türleridir.

#### d.Genişletilmiş Sınıflandırma (Jones)

Tüm sınıflandırılma türleri birleştirilerek oluşturulan sınıflandırmadır (63). Tablo-2’de ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

**Tablo 2: Streptokokların genişletilmiş sınıflandırması**

Piyojenik Streptokoklar	<i>Streptococcus pyogenes(A)</i> , <i>Streptococcus agalactiae(B)</i> , <i>Streptococcus equi(C)</i> , <i>Streptococcus triae</i> , <i>Streptococcus sp. (C)</i> , <i>Streptococcus sp. (G)</i> , <i>Streptococcus sp. (L,N,P,U,V)</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Oral Streptokoklar	<i>Streptococcus salivarius(K)</i> , <i>Streptococcus saguis(H)</i> , <i>Streptococcus mitior</i> , <i>Streptococcus milleri</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Streptococcus intermedius</i> , <i>Streptococcus mutans</i>
Enterekoklar	<i>Streptococcus faecalis(D)</i> , <i>Streptococcus faecium(D)</i> , <i>Streptococcus avium</i> , <i>Streptococcus gallinarum</i>
Laktik Streptokoklar	<i>Streptococcus lactis</i> , <i>Streptococcus raffinolactis</i>
Anaerob Streptokoklar	<i>Streptococcus morbillorum</i> , <i>Streptococcus hansenii</i> , <i>Streptococcus pleomorphus</i> , <i>Streptococcus parvulus</i>
Diğer Streptokoklar	<i>Streptococcus uberis</i> , <i>Streptococcus bovis(D)</i> , <i>Streptococcus equinus(D)</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus alactolyticus</i> , <i>Streptococcus cecorum</i>

#### 2.4.2. Streptokokların Ayırıcı Özellikleri

Streptokok türlerinin birbirlerinden ayırmak ve hangi tür olduğunu doğrulamak için ayırt edici özelliklerinden faydalanılarak; çeşitli testler geliştirilmiştir (64). Beta hemolitik streptokok türlerini ayırt etmek için bacitracin ve SXT (trimetoprim-sülfametoksazol) antibiyotik diskleri kullanılır. A grubu streptokoklar, genellikle bacitracin’e duyarlı, SXT’ye dirençli olmaktadır. *Streptococcus agalactiae*, bacitracin ve SXT’ye dirençlidir. Optokin testinde ise; bir antibiyotik disk olarak uygulanan optokin, *Streptococcus pneumoniae* üremesini inhibe ederken; alfa hemolitik

streptokokların üremesini engellemez. Enterekoklar için eksülin hidrolizleme ayırt edici bir özelliktir. Ayrıca safrada ve %65'lik NaCl ortamında üreyebilmeleri, enterekokları diğer streptokok türlerinden ayırt etmektedir. PYR (L-pirolidonil arilamidaz) testi ise; A grubu streptokoklar ve enterekoklar için ayırt edicidir (64,65). Streptokoklar için uygulanan ayırt edici testler, Tablo-3'te ayrıntılı bir şekilde gösterilmektedir.

**Tablo 3:Streptokokların Ayırıcı Özellikleri**

Streptokok Türü	Hemoliz	Duyarlı Olma			Hidrolizlenme			Üreme	
		Bacitracin	SXT	Optokin	Hipurat	PRY	Eskulin	%40 Safra	%65 NaCl
<i>S.pyogenes</i> A grubu	Beta	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>S.agalactiae</i> B grubu	Beta	-	-	-	+	-	-	-	+
D grubu enterekok	Alfa, Beta, Gama	-	-	-	-	+	+	+	+
D grubu non enterekok	Alfa, Gama	-	+	-	-	-	+	+	-
Viridans Streptokok	Alfa, Gama	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>S.pneumoniae</i>	Alfa	±		+	-	-	-	-	-
A,B,D dışı Beta hemolitik Streptokok	Beta	-	+	-	-	-	-	-	-

## 2.5. ORAL STREPTOKOKLAR

Ağız içerisinde doğumdan itibaren ilk yerleşen mikroorganizmalar streptokoklardır. Bu streptokoklar viridans (oral) streptokoklar olarak adlandırılır.

### 2.5.1. *Streptococcus salivarius*

Ortamdaki üreyi amonyağa parçalayabilir ayrıca amonyağı da bir azot kaynağı olarak kullanabilir. Çoğu şekeri kullanarak asitlere dönüştürebilir, böylece, ürediği ortamın pH'sını 4'e kadar düşürebilir. Oksijenin varlığında da üreyebilir. Bakteriyemi



ve enfektif endokardite sebep olabilir. Dil üzerinde, salyada ve dışkıda bol miktarda bulunur. Yenidoğanlarda en fazla izole edilen streptokok türüdür (54,66).

### **2.5.2. *Streptococcus mutans***

Fakültatif koklardır, zincir yapmaya meyilli değildir. Anaerobik ortamda (%5 CO<sub>2</sub> varlığında) daha iyi ürerler. Karbonhidratları asitlere dönüştürerek enerji elde ederler. Üredikleri ortamda pH 4.0-4.3'e kadar düşer. Sukrozdan ekstraselüler polisakkarit sentezi yapabilirler. Dişin sert dokularına rahatça tutunabildiklerinden; çürük yapıcı özelliği oldukça yüksektir. Mutacin adı verilen bir bakteriyosin salgılayarak florada bulunan çoğu bakteriyi ortadan kaldırırlar. Genellikle halojen antiseptiklere ve penisilin türevi antibiyotiklere duyarlıdır. Ağız, diş plağı ve dışkı florasında bulunur, endokardit sebebi olabilmektedir (55,67).

### **2.5.3. *Streptococcus mitior***

Mikroskopta kısmen dağınık dizilen, en çok 100 üyeli zincirler yapabilen fakültatif koklardır. Hücre duvarlarında L-lizin, nöraminidaz ve ribitol teikoik asit bulunur, bunlar antijeniktir. Sukrozdan ekstraselüler glukan sentezleyebilir. Salya, diş plağı, lağım suları ve dışkıdan izole edilebilir. *S. mitior*, bakteriyel endokarditin ilk odağıdır (53,68).

### **2.5.4. *Streptococcus anginosus***

Kısa kok zincirleridir ve silindirik ya da oval hücreleri vardır. Üredikleri ortamda mutlaka %10 CO<sub>2</sub> bulunması gerekmektedir (kapnofilik). Tespit edilen suşlarının %56'sı nonhemolitik, %19'u alfa hemolitik, %25'i beta hemolitik olarak bulunmuştur. Sukrozdan ekstraselüler polisakkarit yapamazlar. %40 safraya, %4 NaCl'e dirençlidir. *S. anginosus*, ağız ve enfekte kök kanalı florasında fırsatçı patojen olarak bulunur. Diş, beyin, karaciğer absesinden, apandisit, farenjit, vajinit, tonsillit, diş plağı, çürük tabanı ve dışkıdan izole edilebilmektedir (52,69).

### **2.5.5. *Streptococcus sanguinis***

1-2 µm uzunluğunda çomaklar şeklinde yapı gösterebilmektedirler. Sukrozdan ekstraselüler polisakkarit sentezleyebilirler. Karbonhidratları parçalayarak asit

oluştururlar ve üredikleri ortamın pH'sını 4.6-5.2'ye kadar düşebilir. Diş plağı, diş çürüğü, apikal lezyon, dışkı ve lağım sularında bulunabilir. Kalp kapağı enfeksiyonlarından izole edilmektedir (70).

#### **2.5.6. *Streptococcus lactis***

Mikroaerofiliktir ve CO<sub>2</sub> üretebilirler. N grubu bir streptokok olmasına rağmen , hücre duvarında, A grubu streptokokların antijenik yapısı olan M proteini bulunmaktadır. Nisin adı verilen bir bakteriyosin salgılayarak floradaki diğer Gram pozitif bakterileri baskılar. Karbonhidratları özellikle de laktozu kullanarak ortamın pH'sını 4.0-4.5'e kadar düşürür. Laktik streptokok sınıfına girerler. Süt içen bebeklerin ağız florasında, çürük tabanlarında, dondurulmuş süt ürünlerinde bulunabilmektedir (71).

#### **2.5.7. *Streptococcus hansenii***

Zorunlu anaerob ve hareketsiz olup kısa zincirler yapar. Oksijene çok duyarlı olduğundan anaerobik yöntem ile üretilemez. Bazı şekerleri kullanamazlar, öteki streptokoklara göre daha zayıf asit yaparlar (pH 4.9-5.2). Dışkı ve kapalı organ apselerinden izole edilmektedir (72).

#### **2.5.8. *Streptococcus morbillorum***

Hareketsiz ve çok kısa zincirler yapabilen zorunlu anaerob koklar olup her hücresi farklı boyutlarda üreyebilir. Karbonhidratları kullanırlar ve bilinen asit ve alkoller dışında süksinik asit oluştururlar. Bu asit, kök kanalı florasındaki *Porphyromonas sp.* ve *Prevotella sp.* genusunun azot kaynağıdır. Bu bakteriler ile böylece kommensal birliktelik oluşturur .

#### **2.5.9. *Streptococcus parvulus***

Zorunlu anaerobtur ve kısa zincirler oluşturmaktadır. Oksijene aşırı duyarlıdır bu nedenle anaerobik kavanozda üremez. Pek çok karbonhidratı kullanabilir ve pH'ı 4'e kadar düşürebilir. DNAaz, lipaz, lestinaz gibi enzim aktiviteleri yoktur ( 73).

#### **2.5.10. *Streptococcus pleomorphus***

Zorunlu anaerob, şekilsiz kok çiftleri veya kısa zincirleri şeklindedir yani pleomorfiktir. Bütün streptokoklar gibi Gram pozitifdir, fakat Gram negatif boyanmaya

daha yatkınlardır. Oksijene çok duyarlıdır. Çok az karbonhidratı kullanabilir, buna rağmen pH'ı 4.4-5.0'e kadar düşürebilir. Kapalı organ apselerinden, insan ve tavuk dışkısından izole edilebilmektedir (74).

#### **2.5.11. *Streptococcus faecalis* (*Enterococcus faecalis*)**

Fakültatif ve D grubu streptokoklardır, zincir yapmayabilirler. Karbonhidratları asitlere dönüştürürler ve ortamın pH'sını 4.1-4.6'ya kadar düşürebilirler. Asıl kaynakları, dışkı ve ağızdır. Subakut endokardit ve üriner sistem infeksiyonuna da sebep olabilmektedir (75,76).

#### **2.5.12. *Streptococcus faecium* (*Enterococcus faecium*)**

Hareketsiz, oval, kısa zincirler yapabilen D grubu streptokoklardır. Karbonhidratları asitlere dönüştürebilmektedir. Üredikleri ortamda pH,4.0-4.4' e kadar düşer. Antijenik yapıları *Streptococcus faecalis*' e benzemektedir. Asıl kaynakları, dışkı ve ağızdır. Ayrıca; besin zehirlenmesi sebebi olabilirler, dış plağından, hayvan ve böceklerin gastrointestinal kanalından izole edilebilmektedir (75,76).

#### **2.5.13. *Peptostreptococcus* sp.**

Gram pozitif ve zorunlu anaerob olup oldukça uzun kok zincirlerine sahiptir. Çoğu karbonhidratları kullanamaz ve asit üretmezler. Bu durumda enerjilerini proteinlerden elde edebilmektedir. Enfekte kök kanalında bulunan en baskın bakterilerdir. *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus asaccharolyticus*, *Peptostreptococcus indolicus*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Peptostreptococcus productus*, *Peptostreptococcus tetradius* türleri oral mikroflorada bulunabilen türleridir (77).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırma programı, hedefler ve ihtiyaç duyulan malzemeler belirlenerek gereken resmi izinler alınmıştır (Ek-1). Çalışmamızın laboratuvar uygulamalarına 2014 yılı Aralık ayında başlanmış, deneyler 2015 yılı Aralık ayında tamamlanmıştır.

#### 3.1. MATERYAL ALIMI

Çalışmamızın örnekleri, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü çalışanları ve öğrencileri arasından gönüllü 50 kişiden toplanmıştır. Tüm gönüllüler bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalayarak çalışmamıza dahil olmuştur (Ek-2). Her bir gönüllüden ilk önce ağız içlerinden svaplar alındı. Daha sonra; bu kişilerden modül yiyecek örneği olarak elma ısırıkları, modül çiğneme materyali olarak sakız çiğnemeleri ve modül obje olarak sigara izmaritini ağızlarında belli bir süre (~ 3-4 dk) tutmaları istendi. Deneyde kullandığımız elmaların sert, sigaranın filtreli ve sakızların şekersiz ve yumuşak olmasına özen gösterildi. Kişilerin ısırıkları elma üzerindeki ısırık izlerinden, çiğnedikleri sakız üzerinden ve ağızlarında tuttıkları sigara izmaritinden ayrı ayrı svaplar alındı. Alınan svaplar herhangi bir kontaminasyonu önlemek amacıyla steril kaplar içerisine alındı ve soğuk zincir korunarak laboratuvar ortamına nakledildi. Tüm örnekler, ait oldukları kişilerin ismi, örneklerin alındığı tarih ve kod numaraları yazılıp etiketleme işlemi yapıldı. Alınan tüm örnekler sırasıyla mikrobiyolojik analizler uygulandı.



**Resim 1: Modül olarak; gönüllü kişiden ağız svabı alım işlemi**



**Resim 2: Modül olarak; gönüllü kişi tarafından ısırılmış elma**



**Resim 3: Modül olarak; gönüllü kişi tarafından kullanılmış sigara**



**Resim 4: Modül olarak; gönüllü kişi tarafından çiğnenmiş sakız**

## 3.2. BESİYERİ HAZIRLAMA VE KÜLTÜRE ALINMA İŞLEMİ

### 3.2.1. Besiyeri Hazırlama

Alınan svap örneklerinin bakteriyolojik kültüre alınma işlemi için; genel olarak gram pozitif bakteriler için kullanılan zenginleştirici ve hemoliz açısından ayırt edici koyun kanlı agar besiyeri ve gram negatif bakteriler için seçici olan Endo Agar besiyeri ve Çikolata Agar besiyeri hazırlandı.

*Koyun Kanlı Agar Besiyeri;* ticari olarak hazır satılan triptik soy agar toz besiyeri 1 lt için 40,0 g/L olacak şekilde hassas terazide tartıldı. Balon joje içerisine alınan toz besiyeri üzerine distile su ile 1lt olacak şekilde tamamlandı. Daha sonra toz besiyerinin çalkalanarak distile su içinde çözülmesi sağlandı. Balon joje üzerine besiyeri çeşidi, tarihi, hacmi yazılarak etiketleme işlemi yapıldı. Balon jolenin ağzı pamuk tıkaç ile kapatılarak sterilizasyon işlemi için otoklava alındı. Otoklav cihazında 121 °C'de, 1 atm basınçta 20 dakika sterilizasyon işlemi yapıldı. Otoklavdan alınan besiyerleri 45-50 °C'ye kadar soğuması için beklendi. İstenilen sıcaklığa gelen besiyerine 45-50 cc/L konsantrasyonda steril bir şekilde koyun kanı eklenerek karıştırıldı.

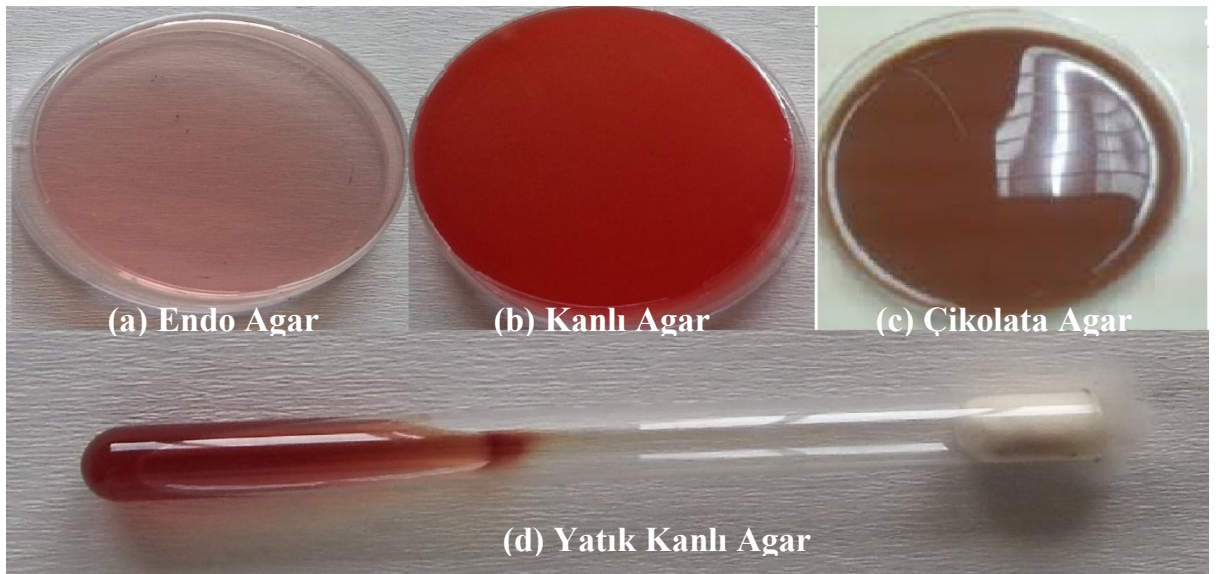
Hazır hale gelen besiyeri, bunzen alevi yanında petrilere 12,5 ml olacak şekilde döküldü. Soğumaya bırakılan petrilere buzdolabına +4 °C'ye alınarak mikrobiyolojik ekimler için hazır hale getirildi. Kanlı Agar besiyerleri bakterilerin üretilmesinde genel üretici bir besiyeri olması ve bakterilerin hemolitik özelliklerinin gözlenmesine imkan sağladığı için tercih edilmiştir.

*Çikolata Agar Besiyeri;* Öncelikle hassas terazide ticari olarak hazır satılan triptik soy agar toz besiyeri 1 lt için 40,0 g/L olacak şekilde tartıldı. Balon joje içerisine alınan triptik soy agar üzerine distile su ile 1lt olacak şekilde tamamlandı. Daha sonra toz besiyerinin çalkalanarak distile su içerisinde çözülmesi sağlandı. Balon joje üzerine besiyeri çeşidi, tarihi, hacmi yazılarak etiketleme işlemi yapıldı. Balon jolenin ağzı pamuk tıkaç ile kapatılarak sterilizasyon işlemi için otoklava alındı. Otoklav cihazında 121 °C'de, 1 atm basınçta 20 dakika sterilizasyon işlemi yapıldı. Otoklavdan alınan besiyerleri 45-50 °C'ye kadar soğuması için beklendi. İstenilen sıcaklığa gelen besiyerine 45-50 cc/L konsantrasyonda steril bir şekilde koyun kanı eklenerek bunzen alevi üzerinde koyu çikolata rengini alıncaya dek sürekli olarak karıştırıldı. Hazır hale

gelen besiyeri, bunzen alevi yanında petrilere 12,5 ml olacak şekilde döküldü. Soğumaya bırakılan petrilere buzdolabına +4 °C'ye alınarak mikrobiyolojik ekimler için hazır hale getirildi. Çikolata agar besiyerleri, bakterilerin hemolitik özelliklerinin gözlenmesine imkan sağladığı için tercih edilmiştir.

*Yatık Kanlı Besiyeri*; hazırlanmış olan kanlı besiyerinin steril tüplere alınarak yatık bir şekilde donması sağlandı. +4 °C'ye alınarak saklandı. Streptokok şüphesi taşıyan bakteriler bu besiyerlerine pasajlar alınarak ileri tanı işlemleri için saklandı.

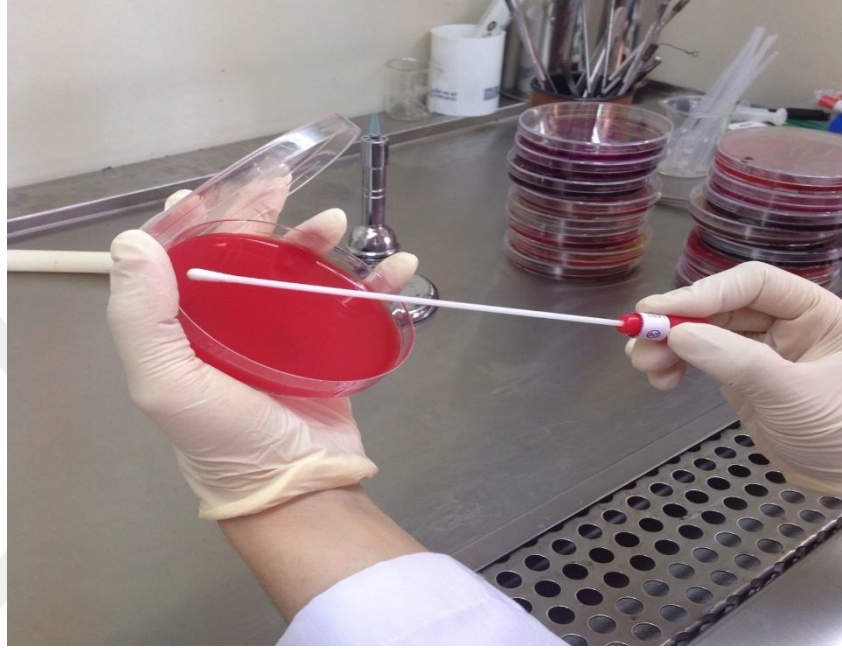
*Endo Agar Besiyeri*; ticari olarak hazır satılan Endo Agar toz besiyeri 1 lt için 39.0 g/L olacak şekilde hassas terazide tartıldı. Balon joje içerisine alınan toz besiyeri üzerine distile su ile 1lt olacak şekilde tamamlandı. Daha sonra toz besiyerinin çalkalanarak distile su içinde çözülmesi sağlandı. Balon joje üzerine besiyeri çeşidi, tarihi, hacmi yazılarak etiketleme işlemi yapıldı. Balon jolenin ağzı pamuk tıkaç ile kapatılarak sterilizasyon işlemi için otoklava alındı. Otoklav cihazında 121 °C'da 1atm basıçta 20 dakika sterilizasyon işlemi yapıldı. Otoklavdan alınan besiyerleri 45-50 °C'ye kadar soğuması için beklendi. Hazır hale gelen besiyeri, bunzen alevi yanında petrilere 15-20 ml olacak şekilde döküldü. Soğumaya bırakılan petrilere buzdolabına +4 °C'ye ve kutular içerisine alınarak ışıktan korunması sağlanıp mikrobiyolojik ekimler için hazır hale getirildi. Endo besiyerleri örneklerimizdeki negatif bakterilerin tespiti için kullanılmıştır.



**Resim 5: Hazırlanan besiyerlerinin görüntüsü**

### 3.2.2. Mikroorganizmaların Ekim İşlemi

Gönüllü kişilerden alınan svap örnekleri, bunzen alevi yanında olacak şekilde hazırlanan kanlı ve endo besiyerlerine azaltma yöntemi uygulanarak ekildi. Petri kapakları ateşten geçirilerek kapatıldı. Ekim yapılan besiyerlerine etiketleme işlemi yapılarak; hangi örnekten alındığı belirtildi. Ekim yapılan besiyerleri, 37 °C’de 24-48 saat etüve alındı (Resim 6).



**Resim 6: Alınan örneklerin kültüre edilme işlemi**

## 3.3. MİKROORGANİZMALARIN TAYİN YÖNTEMLERİ

### 3.3.1. Preparat Hazırlanması

İnkübasyon sonrası ekim işlemi yapılan petri plaklarının kültür değerlendirmesinde sırasıyla; makroskobik açıdan değerlendirme işlemimde besiyerleri renk, koku, hemoliz şekil bakımından değerlendirilerek, fotoğraflama işlemi yapıldı. Mikroskobik açıdan değerlendirme işleminde ise; kültür preparatlarındaki belirlenmek istenen koloniler işaretlenerek; Gram boyama için hazır hale getirildi. Preparatların hazırlanması için gerekli olan lam %50’lik etil alkolle steril hale getirildi. Lam üzerine 1 damla serum fizyolojik steril enjektör ile damlatıldı. Bunzen bekinde kor haline getirilen iğne öze önce besiyerinin kenarında soğutuldu, daha sonra işaretlenen tek ve



saf koloniye öze ucu değdirilerek koloniden bir parça alındı. Alınan parça, serum fizyolojik ile karışması sağlanacak şekilde; lam üzerine 1-2 cm'lik bir alana yayıldı. Hazırlanan örnek havada kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar tespit işlemi için örneğin sürüldüğü kısım üstte kalacak şekilde; üç kez bek alevinden geçirildi.

### 3.3.2. Boyama Yöntemi

Mikroorganizmaların boyanması için genelde kristal viyole, safranin, metilen mavisi gibi bazik boyalar kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların yapısında bulunan polisakkaritler, nükleik asitler ve proteinler negatif yüklü olup pozitif yüklü olan bazik boyalar; bu moleküllere bağlanırlar ve görünür hale gelmesini sağlarlar. Asidik boyalar ise genelde zemin boyaması için kullanılırlar.

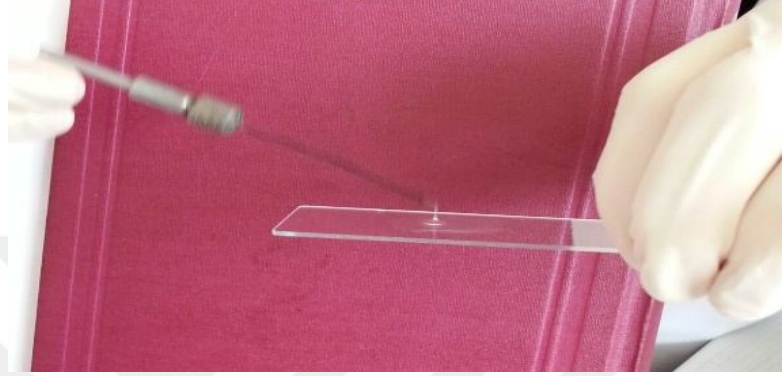
Hazırlanan preparatlar, fiksasyondan sonra Gram boyama prosedürüne tabi tutuldu. Boyama kabına alınan lamlar üzerine kristal viyole döküldü ve 2 dakika beklendi. Boyanın akması için hafifçe sudan geçirildi. Lam üzerine lugol damlatılarak 2 dakika beklendi. Bu aşamadan sonra fazla boyanın akması için %96'lık etanol döküldü. Tekrar sudan geçirilen preparatlara son olarak sulu fuksin damlatılarak; 30 saniye beklendikten sonra sudan geçirildi. Boyanmış preparatlar, kurutma kağıdında kurutuldu. 100x büyütmede immersiyon yağı damlatılarak; ışık mikroskopunda mikrororganizmaların morfolojileri Gram pozitif ve Gram negatif olmaları açısından incelendi (Resim 7).



**Resim 7: Gram boyama için hazırlanan preparatların görüntüsü**

### 3.3.3. Kullanılan Önemli Biyokimyasal Testler

*KOH Testi:* Gram boyamada pozitif veya negatif ayrımı yapılamayan kolonilere uygulandı. Lam üzerine %3'lük 1 damla KOH damlatıldı. Kor haline getirilen öze besiyeri kenarında soğutulduktan sonra istenilen koloniden alınıp lam üzerine yayıldı. İp gibi uzayan sümüksü bir yapı oluştuysa Gram negatif, oluşmadıysa Gram pozitif olarak değerlendirildi (Resim 8).



**Resim 8: Lamda KOH testi**

*Katalaz Testi:* Mikroorganizmalarda bulunan katalaz enzimi, hidrojen peroksiti su ve hidrojene ayırır. Tepkime sırasında gaz çıkışı oluşmasına dayanan bir testtir. Bütün stafilokoklar katalaz enzimi üretirken; streptokok türleri katalaz enzimi üretemez. Bu durumda streptokoklar katalaz negatif olarak değerlendirilir. Besiyerinde üretilmiş streptokok olma şüphesi taşıyan kolonilerden öze yardımıyla alınıp steril bir lamın üzerine yayıldı. Üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak karışması sağlandı. Gaz kabarcıkları 20 saniye içinde oluşmadığı için katalaz negatif olarak değerlendirildi.

*Koagülaz Testi:* Örneklerde var olan stafilokokların *Staphylococcus aureus* türü olup olmadığını belirlemek için kullanılan testtir. *S. aureus*'ta bulunan koagülaz enzimi kan serumu ile kompleks oluşturarak plazmayı pıhtılaştırır ve kümelenmeye neden olur. Steril bir lamın bir ucuna bir damla serum fizyolojik diğer ucuna kan plazması damlatıldı. Her iki damlanın bulunduğu alana şüpheli koloniler öze yardımıyla alınarak yayıldı. Plazma kısmında kümelenme olması halinde *S. aureus* olarak değerlendirildi.

*Basitrasin Testi:* Besiyerindeki şüpheli streptokok kolonisi seçilerek buyyona alındı. Buyyon karıştırılarak bakteriyel bir süspansiyon elde edildi. Elde edilen süspansiyon yatık koyun kanlı besiyerine alınarak bakterilerin üremesi sağlandı. 37 °C'de 24 saat etüvde bekleyen besiyerinin içerisinden öze ile bir miktar alınıp koyun

kanlı agar besiyerinin tüm yüzeyine ekimi yapıldı. Ticari olarak satılan basitrasin diski besiyerinin ortasına yerleştirildi ve 37 °C'de 24 saat etüve alındı. Son olarak; disk çevresindeki zon çapı değerlendirildi (Resim 9).



**Resim 9: Streptokokların ayırımında kullanılan Basitrasin Testi**

*Optokin Testi:* Besiyerinde streptokok şüphesi taşıyan koloni seçilerek buyyona alındı. Buyyon içindeki koloni öze yardımıyla karıştırılarak bakteriyel bir süspansiyon elde edildi. Elde edilen süspansiyon yatık koyun kanlı besiyerine alınarak bakterilerin üremesi sağlandı. 37 °C'de 24 saat etüvde bekleyen besiyerinin içerisinden öze ile bir miktar alınıp koyun kanlı petri besiyerinin tüm yüzeyine yoğun bir şekilde ekimi yapıldı. Ticari olarak satılan optokin diski kolonilerin ortasına yerleştirildi ve 37 °C'de 24 saat etüve alındı. Son olarak; disk çevresindeki zon çapı değerlendirildi (Resim 10).

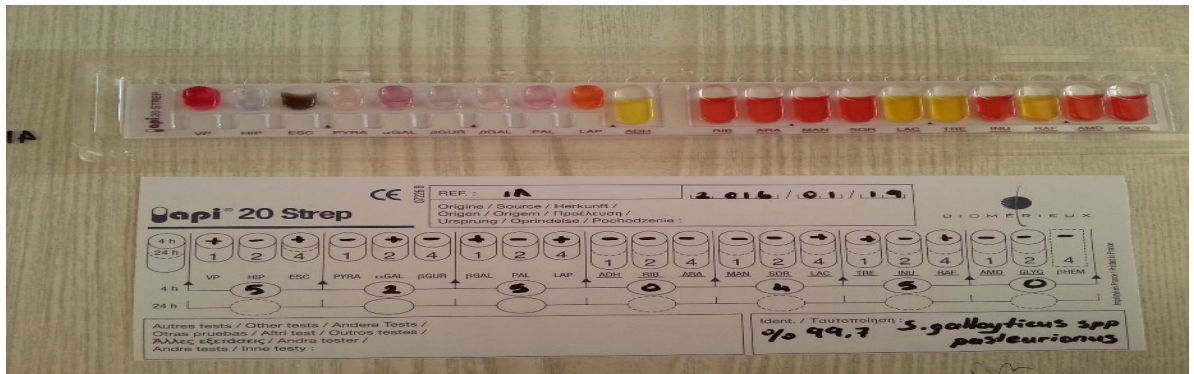


**Resim 10: Streptokokların ayırımında kullanılan Optokin Testi**

### 3.4. API 20 STREP TAYİN KİTİ

API 20 Strep tayin şeridi, biyokimyasal şekerlerin enzimatik aktivitesi ya da fermentasyonunun belirlenmesi için substratlar içeren mikrotüplerden oluşmaktadır. Bu aktivitelerin oluşup oluşmaması durumlarında; kit içeriğindeki veritabanından yararlanılarak mikroorganizmaların tayini yapılabilmektedir. Hemoliz tipi belirlenen streptokokları izole etmek için besiyerinden seçilen koloni öze yardımı ile 0.3 ml steril su içinde süspansiyon edildi. Hazırlanan süspansiyon temiz koyun kanlı besiyeri plağına eküvyon çubuk ile yayıldı. Plak 24 saat ( $\pm 2$  saat)  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de anaerobik şartlarda inkübe edildi. API Suspension Medium (2 ml) ampülü açıldı ve eküvyon kullanarak, tüm kültürü daha önce hazırlanmış olan kanlı agar petrisinden bakteriler toplandı. 4 McFarland 'dan daha bulanık bir yoğun süspansiyon hazırlandı.

Stribin ilk yarısına (VP den ADH 'ye kadar testleri), bu süspansiyon dağıtıldı, VP den LAP 'a kadar testler için: her küpüle yaklaşık 100  $\mu\text{l}$  ve ADH testi için tüm küpül olacak şekilde dolduruldu. Stripin ikinci yarısına (RIB den GLYG 'ye kadar testleri), API GP Medium'u içerisine süspansiyonun geri kalanı aktarıldı ve iyice karıştırıldı. Bu yeni süspansiyon, belirtilen altı çizili testlerdeki küpülleri (ADH'den GLYG'ye) hafif konveks bir yapı oluşturmak üzere mineral yağ ile dolduruldu. Strip üzerine kapağı yerleştirildi. Aerobik şartlarda ilk okuma için 4 – 4.5 saat süreyle  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  'de inkübe edildi. 4 saat İnkübasyondan sonra; scribe reaktifleri ilave edildi. VP küpülüne 1 damla VP 1 ve VP 2 eklendi. HIP küpülüne 2 damla NIN eklendi. PYRA,  $\alpha\text{GAL}$ ,  $\beta\text{GUR}$ ,  $\beta\text{GAL}$ , PAL ve LAP küpüllerine 1 damla ZYM A ve ZYM B reaktifleri eklendi. 10 dakika beklendikten sonra, reaksiyonlar okuma tablosuna göre okundu. Tüm reaksiyonları sonuç şemasına ve veri tabanına kaydedildi (Resim 11).

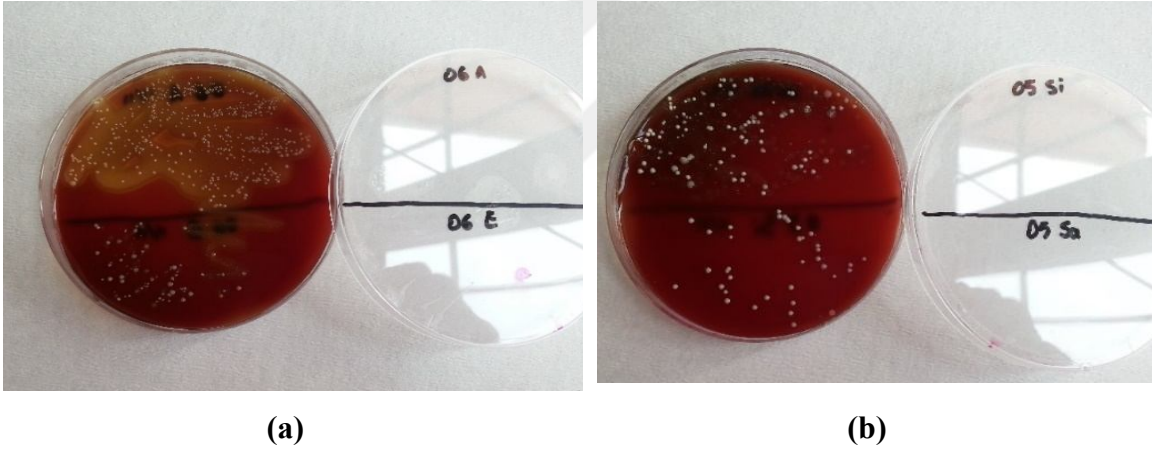


Resim 11: Örnek bir kökene ait tanımlanmış API 20 Strep Tayin Testi

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza; yaşları 20-63 olan %52'si erkek %48'i kadınlardan oluşan 50 farklı kişi katılmıştır. Gönüllü olan bu kişilerden; ağız, elma, sigara, sakız modül materyalleri olmak üzere 4 farklı svap örneği alındı. Toplamda 200 svap örneği 3 ayrı besiyeri plağına ekildi. Tüm besiyerlerinde oluşan mikroorganizmalara ait yaklaşık 270 adet preparat olmak üzere Gram boyaması yapıldı. Boyanan tüm preparatlar mikroskop altında incelendi.

Plaklardaki mikroorganizmalara; özellikle streptokokların ayırımında kullanılan hemoliz, katalaz, koagülaz basitrasin, optokin gibi bazı önemli biyokimyasal testler uygulandı. Ayrıca streptokok şüphesi taşıyan bakterilere API 20 Strep Tayin Testi ile tanımlama işlemi yapıldı. İncelenen preparatlar ve biyokimyasal testler sayesinde tanımlanan mikroorganizmalar, Tablo-4 'te ayrı ayrı gösterilmiştir.



**Resim 12: (a) Ağız ve Elma svaplarının ekildiği plak görüntüsü (b) Sigara ve Sakız svaplarının ekildiği plak görüntüsü**

**Tablo 4: Plaklarda üreme gösteren bakteri türlerinin modül materyallere göre dağılımı**

Örnek No	Ağız Modülü	Elma Modülü	Sakız Modülü	Sigara Modülü
1	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS (Koagülaz negatif stafilokok), <i>Micrococcus sp.</i>	KNS (koagülaz negatif stafilokok)	$\alpha$ hemolitik streptokok	—
2	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS
3	KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i>	KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Micrococcus sp.</i>	<i>Micrococcus sp.</i>
4	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Micrococcus sp.</i> , KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS, <i>Candida sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Bacillus sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Streptococcus pneumoniae</i>
5	$\beta$ hemolitik streptokok, KNS	$\beta$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Sarcinia sp.</i>
6	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i> , <i>Candida sp.</i>	<i>Sarcinia sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Sarcinia sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok
7	<i>Candida sp.</i> <i>Sarcinia sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Streptococcus pneumoniae</i> , KNS	KNS $\alpha$ hemolitik streptokok <i>Micrococcus sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
8	$\beta$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Neisseria sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Neisseria sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS, <i>Peptostreptococcus sp.</i>	—
9	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i> , <i>Sarcinia sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Micrococcus sp.</i>	—
10	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i> KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i> , KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok
11	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Micrococcus sp.</i>	KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	<i>S.epidermidis</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok
12	<i>Staphylococcus lentus</i> $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok	KNS, $\beta$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok

13	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Streptococcus pneumoniae</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i>	—
14	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>E.coli</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	<i>S. pneumoniae</i> <i>Micrococcus sp.</i>	—
15	$\beta$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\beta$ hemolitik streptokok	KNS
16	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	—
17	<i>Streptococcus pneumoniae</i> $\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Streptococcus pneumoniae</i>	—
18	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus aureus</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus aureus</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Sarcinia sp.</i>
19	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\beta$ hemolitik streptokok KNS	<i>Staphylococcus aureus</i> $\alpha$ hemolitik streptokok
20	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria sp.</i>	—	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>
21	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS, <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Sarcinia sp.</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Sarcinia sp.</i>	<i>Sarcinia sp.</i> $\alpha$ hemolitik streptokok	KNS
22	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS, <i>E.coli</i>	—	<i>E.coli</i> , <i>Sarcinia sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Staphylococcus aureus</i>
23	$\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	<i>Staphylococcus aureus</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	—
24	<i>Neisseria sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	<i>Bacillus subtilis</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i>
25	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Sarcinia sp.</i>	KNS	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Neisseria sp.</i>
26	$\alpha$ hemolitik streptokok $\beta$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok

27	- $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS, <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok, Neisseria sp.	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>
28	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok
29	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok
30	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	—
31	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	KNS
32	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Streptococcus pneumoniae</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS
33	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	KNS	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok, KNS
34	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	<i>Micrococcus sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok KNS
35	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	<i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i>
36	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS	<i>Neisseria sp.</i> , $\beta$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus aureus</i>
37	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok
38	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Fusiform sp.</i> , <i>Neisseria sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , KNS	<i>Candida sp.</i> , <i>Neisseria sp.</i> , $\alpha$ hemolitik streptokok	KNS $\beta$ hemolitik streptokok
39	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Candida sp.</i> , KNS	KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Candida sp.</i> , KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Candida sp.</i> , KNS
40	<i>Neisseria sp.</i> , KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok	KNS, <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i> , KNS	KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok
41	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>E.coli</i> , <i>Neisseria sp.</i> , KNS	<i>E.coli</i> , KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	KNS



42	$\beta$ hemolitik streptokok KNS, <i>Micrococcus sp.</i>	KNS $\beta$ hemolitik streptokok	<i>Micrococcus sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>	$\beta$ hemolitik streptokok
43	$\beta$ hemolitik streptokok $\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	—	$\beta$ hemolitik streptokok <i>Candida sp.</i>	—
44	<i>Neisseria sp.</i> , $\beta$ hemolitik streptokok <i>Enterococcus sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , KNS	Gram pozitif diplokok <i>Micrococcus sp.</i> $\beta$ hemolitik streptokok	$\beta$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	KNS
45	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> KNS	—	<i>Neisseria sp.</i> $\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Staphylococcus aureus</i>
46	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	—
47	KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Bacillus sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Bacillus sp.</i>	<i>Sarcinia sp.</i>
48	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i> , KNS	$\alpha$ hemolitik streptokok	$\alpha$ hemolitik streptokok <i>Neisseria sp.</i>	$\beta$ hemolitik streptokok
49	KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok	—	KNS, $\alpha$ hemolitik streptokok	<i>Micrococcus sp.</i>
50	$\alpha$ hemolitik streptokok, <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok KNS, <i>Neisseria sp.</i>	$\alpha$ hemolitik streptokok

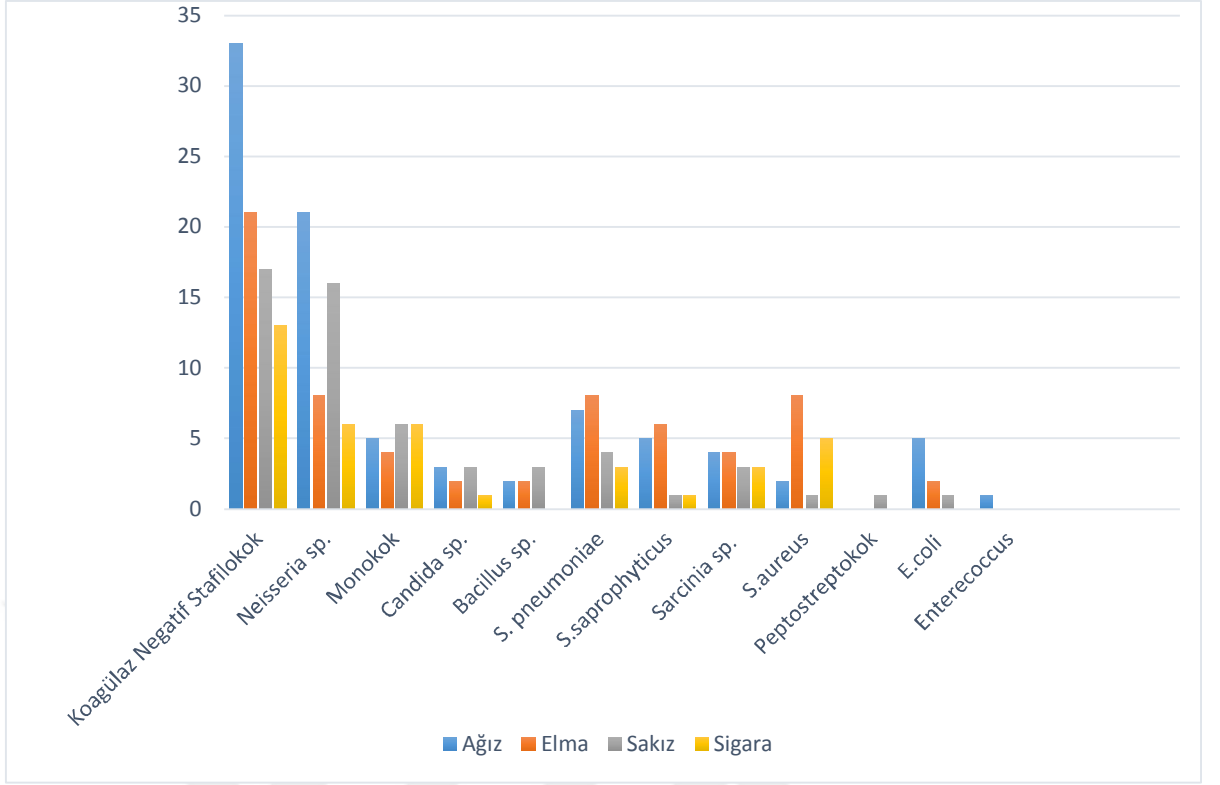
Tüm plaklarda üreme gösteren mikroorganizmaların türleri ve 50 farklı örnekten alınan 4 farklı materyale göre sayısal dağılımı ve bu mikroorganizmaların, kaç adet plakta gözlenmiş olduğu ve toplam plak sayısına göre yüzde oranları Tablo 5’de gösterilmiştir. Tablo verilerine göre; tüm örneklerden alınan svapların ekildiği besiyerlerinde, en fazla üreme gösteren mikroorganizma türü alfa hemolitik streptokoklar olmuştur.

**Tablo 5: Gözlenen mikroorganizmaların plaklara göre dağılımı**

Mikroorganizma Türü	Ağız Modülü		Elma Modülü		Sakız Modülü		Sigara Modülü	
	Plak Sayısı	Oran	Plak Sayısı	Oran	Plak Sayısı	Oran	Plak Sayısı	Oran
Alfa hemolitik streptokok	45 plak	%90	30 plak	%60	40 plak	%80	24 plak	%48
Beta hemolitik streptokok	7 plak	%14	4 plak	%8	5 plak	%10	4 plak	%8
KNS	33 plak	%66	21 plak	%42	17 plak	%34	13 plak	%26
<i>Neisseria sp.</i>	21 plak	%42	8 plak	%16	16 plak	%32	6 plak	%12
<i>Micrococcus sp.</i>	5 plak	%10	4 plak	%8	6 plak	%12	4 plak	%8
<i>Candida sp.</i>	3 plak	%6	2 plak	%4	3 plak	%6	1 plak	%2
<i>Bacillus sp.</i>	2 plak	%4	2 plak	%4	3 plak	%6		-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7 plak	%14	8 plak	%16	4 plak	%8	3 plak	%6
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5 plak %10	%10	6 plak	%12	1 plak	%2	1 plak	%2
<i>Sarcinia sp.</i>	4 plak	%8	4 plak	%8	3 plak	%6	3 plak	%6
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 plak	%4	8 plak	%16	1 plak	%2	5 plak	%10
Peptostreptococcus		-		-	1 plak	%2		-
<i>E.coli</i>	5 plak	%10	2 plak	%4	1 plak	%2		-
Enterococcus sp.	1 plak	%2		-		-		-
Toplam Plak	50 plak		50 plak		50 plak		50 plak	

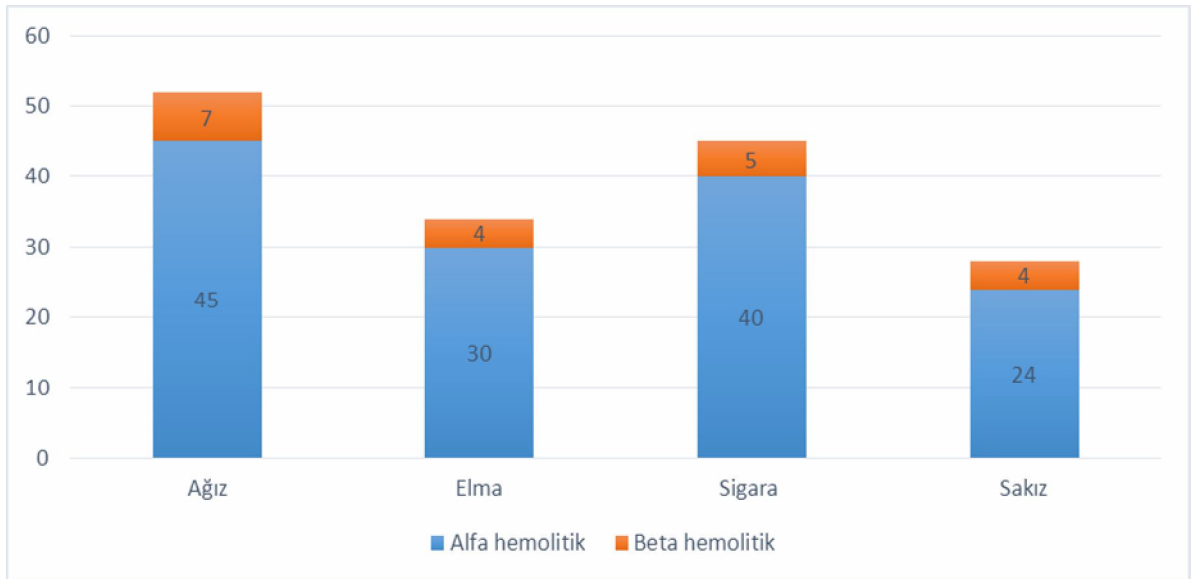
Toplamda 50 kişiden alınan 50 modül plakta gözlenen mikroorganizma türleri ve oransal olarak yüzdeleri tabloda verilmiştir. Tablo verilerine göre çalışmamızda 50 kişiden, 4 farklı materyal üzerinden alınan svap örneklerinin besiyeri plaklarına ekilmesiyle ortaya çıkan veriler grafik haline getirilmiştir (Grafik 1).

Grafik 1’de tüm materyallerin plaklarında üreyen mikroorganizma türleri ve sayısı diyagram olarak gösterilmiştir.



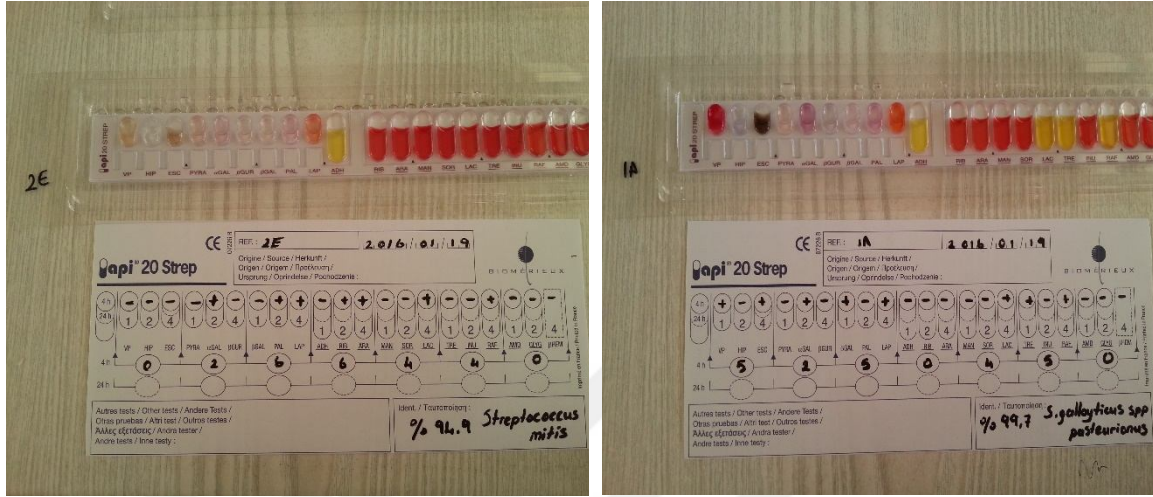
**Grafik 1: Üreyen mikroorganizma türlerinin modül materyallere göre dağılımı**

Grafik 2’de ise; materyallere göre üreme gösteren streptokokların alfa ve beta hemolitik türleri ve 50 kişiden alınan materyallerde bulunma sıklığının dağılımı gösterilmiştir.



**Grafik 2: Streptokok türlerinin modül materyallere göre dağılımı**

Plaklarda üreme gösteren streptokok türlerini tanımlamak ve fenotipik tanımlamayı doğrulamak için örneklere; ileri tanımlama biyokimyasal şeker testi olarak bilinen API 20 Strep testi uygulanmıştır. Örnek olarak seçilen bazı türlerin elde edilen sonuçları Resim 13 (a.b)' de gösterilmektedir.

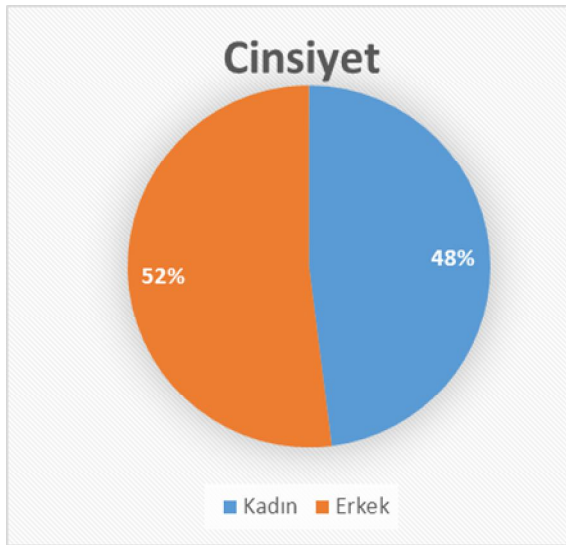


(a)

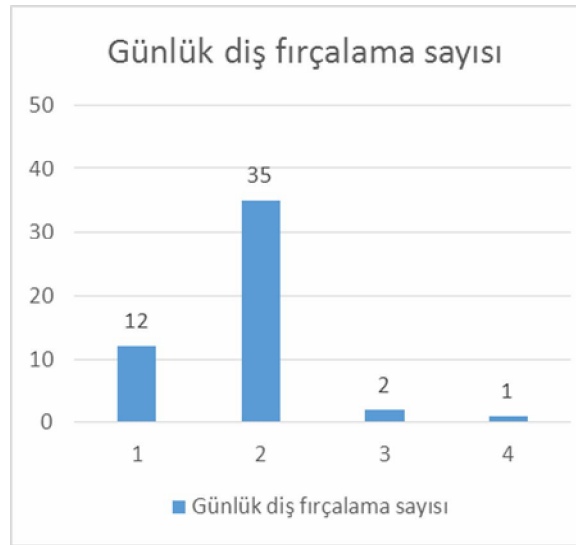
(b)

**Resim 13: (a) Tanımlanan *S.mitis*'in API stribi, (b) Tanımlanan *S.galloyticus*'un API stribi**

50 gönüllü kişiden örnek toplama sırasında; verilen onam formlarındaki anketlere göre beyan edilen özellikler grafik haline getirilmiştir. Grafik 3'de kişilerin cinsiyet dağılımı gösterilmiştir. Grafik 4'te ise günlük diş fırçalama sayılarının kişilere göre dağılımı gösterilmiştir.

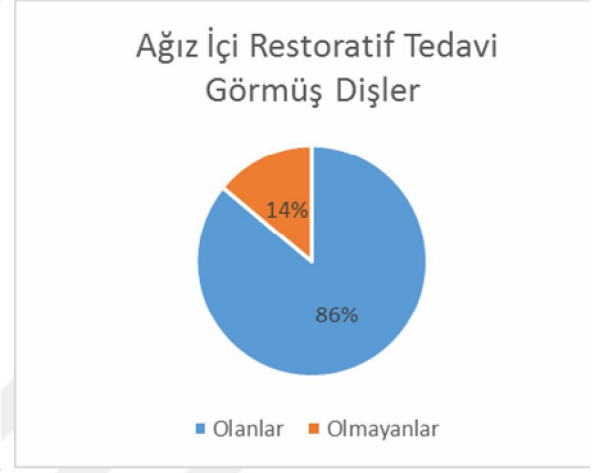
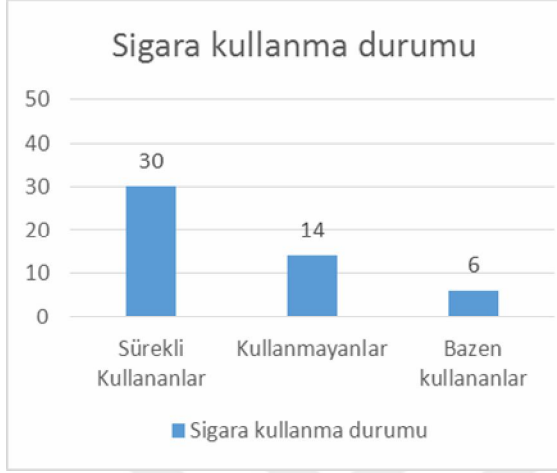


**Grafik 3:Cinsiyet dağılımı**



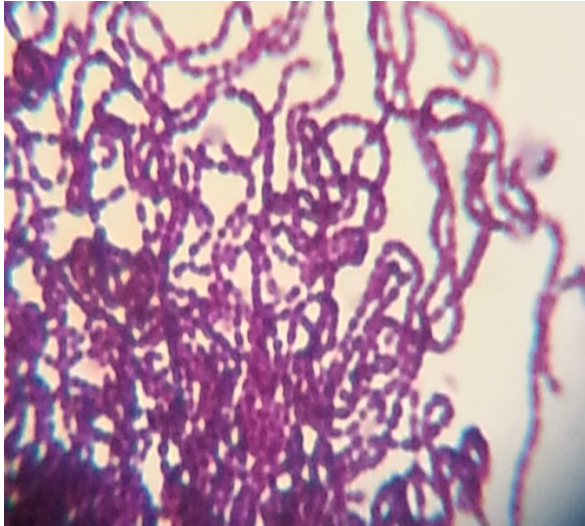
**Grafik 4:Günlük diş fırçalama sayısı**

Grafik 5’de ise 50 kişinin sigara kullanım durumları ve Grafik 6’da kişilerin dişlerinde herhangi bir dolgu, protez, implant, kanal veya köprü gibi koruyucu diş tedavisi varlığının dağılımı gösterilmektedir.



**Grafik 5: Sigara kullanım dağılımı**

**Grafik 6: Koruyucu diş tedavisi dağılımı**



(a)



(b)

**Resim 14: (a,b). Alfa hemolitik streptokokların mikroskop görüntüsü (10x100 büyütme)**

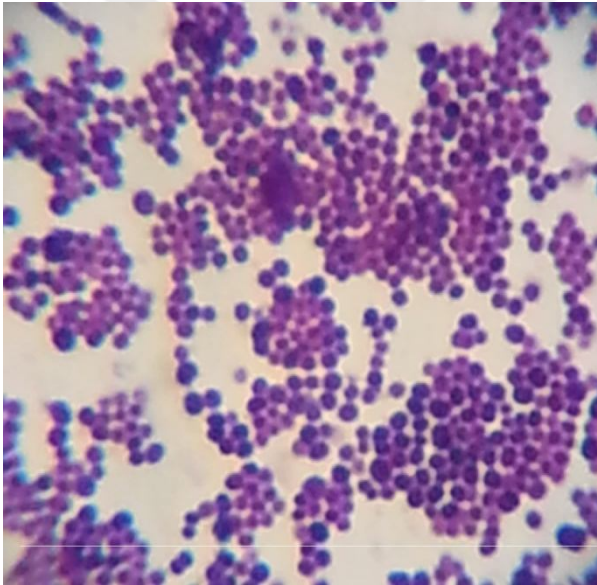


(a)

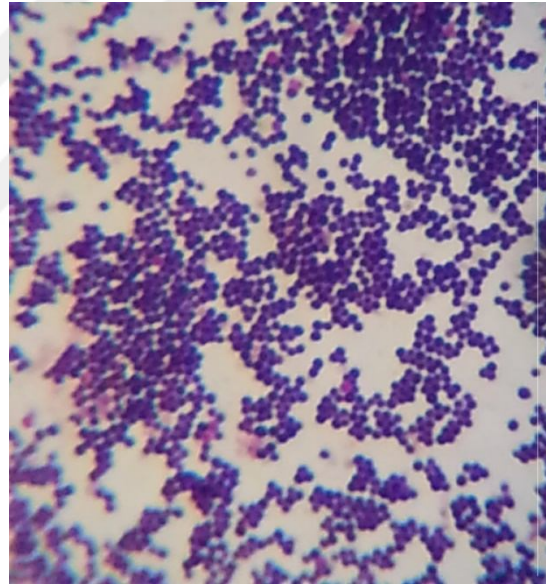


(b)

**Resim 15: (a,b) Beta hemolitik streptokların mikroskop görüntüsü (10x100 büyütme)**



(a)



(b)

**Resim 16: (a) KNS mikroskop görüntüsü (10x100 büyütme) , (b) *Staphylococcus aureus* mikroskop görüntüsü (10x100 büyütme)**

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Adli bilimler, tıp ve hukuk alanını birleştiren multidisipliner bir alandır. Adli bilimlerin alt anadallarından biri olan adli mikrobiyoloji ise; olay yeri incelemesi, delil zinciri uygulamaları, delil toplama, taşıma, koruma, delil incelemeleri, sonuçları yorumlama ve mahkemeye sunma gibi klasik delil çalışmalarına ek olarak etkenin etiyojisini ve tipini belirlemeye yönelik çalışmaları da içermektedir (78). Diğer bir alt alan olan adli odontoloji ise; suç araştırmasında diş ve dişlerle ilgili olan tüm delilleri araştıran bilim dalıdır. Dişle ait bulguları önemli yapan faktör gerek dişlerin gerekse kemik destek yapılarının bireysel karakteristikleridir (23). İnsan dişlerinin özellikleri parmak izi gibidir ve ikizlerde bile farklılık taşımaktadır (7). Isırık izleri de; dişlerin temas ettiği materyalde meydana getirdiği fiziksel değişimler olarak tanımlanmaktadır. Isırık izleri suç kapsamında meydana geldiğinde; adli bilimcilere, fiziksel ve biyolojik kanıtlar sağlamaktadır (8). Isırık izleri olay yerinde; herhangi bir objede olabildiği gibi mağdur veya suçlu kişilerin vücutlarında bulunabilmektedir. Isırık izlerinde aynı zamanda; bir vücut sekresyonu olan tükürük, birikebilmektedir (9). İşte bu gibi durumlarda ısırık izleri adli bilimciler için olaylara ışık tutan önemli bir delil haline gelmektedir. Olay yeri prosedürlerine göre objelerden veya kişilerden toplanan tükürük örneklerine genelde DNA uygulamaları ile yaklaşılmaktadır veya sadece odontolojik açıdan diş izleri morfolojik olarak tiplendirilmektedir. Adli bilimlerde DNA çalışmaları A.J. Jeffreys'in tanımladığı genetik parmakizi metoduyla günümüzde de geçerliğini koruyan ve suç araştırmalarında sonuca götüren sağlıklı bir yöntemdir (79). Ne var ki bu yöntem sadece bozunmamış yani; herhangi bir kırılmaya veya dejenerasyona uğramamış örneklerde daha verimli sonuçlar sağlamaktadır ve aynı zamanda çok pahalı kitler ve ekipmanlar gerektirmektedir. Aynı şekilde odontoloji çalışmalarında dişlerin olay yerinde bulunmaması durumunda ısırık izleri yeterli sonuçlar üretemeyebilmektedir.

Tüm bu bilgilerin ışığında bizde çalışmamızda; ısırık izlerinin sadece fiziksel özelliklerini incelemenin yanısıra biyolojik özelliklerine de mikrobiyolojik açıdan yaklaşmak istedik. Böylece var olan ısırık izlerini DNA uygulamalarına tamamlayıcı bir çalışmayla daha görünür ve kesin deliller olarak bakmamızı sağlayacak bir pencere açmayı hedefledik. Bu açıdan son zamanlarda mikrobiyolojiye yeni yaklaşımlar getiren; İnsan Mikrobiyom Projesi, İnsan Genom Projesi'nin deneysel bir devam projesi

olarak geliştirilmiştir. Projenin amaçları arasında; insan vücudunda bulunan tüm mikroorganizmaları tanımlamak, insanlar arasındaki mikrobiyom farklılıklarını tanımlamak ve mikrobiyomların hastalıklarla ilişkilendirilip ilişkilendirilemeyeceğini araştırmak gibi hedefler bulunmaktadır (13). İnsan Mikrobiyom Projesi kapsamında aynı zamanda İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi (Human Oral Microbiome, HOM) de yürütülmekte ve İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı (Human Oral Microbiome Database, HOMD) oluşturulmaktadır. Bu sayede farklı kişilerdeki benzer ve değişken bölgelerde, farklı zamanlardaki bakteri topluluklarının filogenetik ağaçtaki uzaklık ölçümü analizi ve tükürük mikrobiyomu pirosekanslaması ile birleştirilerek çalışıldığı zaman; aynı kişiden bir ay süresince alınan üç örneğin görece stabil olduğu belirlenmiştir (15). Bu bilgi gelecekte tükürükten adli tanımlamada yararlanabilme olasılığını göstermektedir. Ayrıca tükürük mikrobiyom profilinin ağız ve sistemik hastalıklarla ilişkisi açısından tanı aracı olarak kullanılabilir.

Son yapılan çalışmalardan biri de; Aaspollu A. makalesinde mikroorganizmaların, kişiler ve suç arasındaki bağlantıyı açıklamada yardımcı olacağını öne sürmektedir. Mikroorganizmalar, olay yerinin görünmeyen fakat; ortaya çıkarıldığında doğru sonuca ulaştıran küçük canlılardır (5). Burdan yola çıkarak ısırık izlerinde biriken tükürük örneklerinin mikrobiyolojik açıdan ortaya koyduğumuz zaman adli bilimlere, adli mikrobiyoloji açısından katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Kanto ve Hirata'ya göre ısırık izleri ile birlikte bırakılan tükürük kişiye ait mikroorganizmaları taşımaktadır ve bu canlılar adli bilimler açısından şüpheli bulunan kişilerin kimliklendirilmesinde bize yardımcı olmaktadır (80). Bu açıdan ısırık izleri; cinayet, cinsel saldırı, şiddet, istismar vb. gibi olaylarda mağdur veya suçluların vücutlarında bulunabilmektedir.

Hochmeister'e göre; ısırık izleri vücutta bulunabildiği gibi çeşitli objeler (sigara izmariti, posta pulları, zarf kapakları, gıdalar vb. ) üzerinde de oluşabilmektedir (18). Bizde çalışmamızda ısırık izlerinin bu özelliğinden yararlanarak elma, sigara izmariti ve sakız olmak üzere üç farklı materyal kullandık. Hedefimiz ise; 50 gönüllü kişiden ağız svapları alarak oral mikrofloralarını tespit etmek, daha sonra; bu kişilerden seçtiğimiz üç farklı materyali ağızlarında tutmalarını isteyerek oral floraya ait bakteri varlığını kontrol etme. İnsanların ağız içinde var olan mikroorganizma topluluğuna oral mikroflora denmektedir ve yaklaşık 700 farklı tür ve prototipi ağız içi



mikroorganizmaları olarak tespit edilmiştir (81,86). Davey'e göre bu mikroorganizmalar özellikle bakteriler; gen değişimi yöntemiyle konağının genlerinden parçalar taşımakta ve yalnız konağa özgü hale gelmektedir (82). Bu durumda bakteriler bize kime ait olduklarını söylemekte yardımcı olacaktır; tabi bu durum doğru analiz ve örnek seçimleriyle mümkündür. Dendle' a göre; insan ısırığından objelere ve deriye belli başlı mikroorganizmalar bulaşmaktadır. Bunlar; viridans streptokoklar, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Eikenella corrodans*, Hepatit B, Hepatit C, HIV, primer sfiliz, *Herpes simplex* gibi mikroorganizmalardır (83). Ağız içi oral mikroflora bakterilerinin oransal olarak en baskın bakterileri streptokoklardır ve ısırma eylemi ile objelere ve deriye bulaşan tükürükte taşınmaktadır (50). Biz de örnek aldığımız kişilerin ağız içi oral streptokokları ile diğer materyaller üzerinde bıraktıkları streptokokları karşılaştırarak fenotipik bir kimliklendirme yapabilecek miyiz sorusuna cevap aramaktayız.

Tez çalışmamızda; 50 kişinin ağız, elma, sigara ve sakız svapları olmak üzere 200 farklı svabın besiyerine ekim işlemi yapılmıştır. Kişilerin oral mikroflorasında var olan tüm mikroorganizmalar Tablo 4 ve Tablo 5'te gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre; bu mikroorganizmalardan en baskın tür olarak alfa hemolitik streptokoklar olduğu söylenebilir. Kreth ve arkadaşlarına göre; farklı türlerin ağız florasında bulunması kişilerin beslenme, yaş, cinsiyet, restoratif dişlerde oluşan galvanik akım, ağız içi pH değeri, yabancı cisim ısırma alışkanlığı gibi çeşitli şartlardan kaynaklanmaktadır (84). Tüm plaklar incelendiğinde en yoğun mikroorganizma içeren örnekler, ağız svaplarının ekildiği plaklar olmaktadır. Daha sonra ise kişilere; yaklaşık 3-4 dk çiğnetilmiş sakızlardan alınan svapların ekildiği plaklar gelmektedir. Sonrasında kişilerden; ısırılması istenen sert ve mevsim dahilinde olan elmalardaki ısırık izlerinden alınan svapların ekildiği örnekler gelmektedir. Son olarak en az yoğunlukta mikroorganizma bulunduran örnekler ise; sigara izmaritinden alınan svapların ekildiği örnekler olmuştur. Bu durum, materyalin ağızda ne kadar süre tutulduğu ve ağızın hangi anatomik yapılarına değdirildiği ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Bilindiği üzere sakızı çiğnemek için; dil, diş, damak, dudaklar gibi tüm ağız içi yapılar bu eyleme dahil olmaktadır ve sakızın yumuşaması için geçen süre, diğer materyallere göre daha fazla olmaktadır. Bu nedenle ağız içi var olan mikroorganizma florasını oldukça iyi bir şekilde üzerinde taşımaktadır. Fakat sigaraya bakıldığında özellikle kullanmayan

kişilerde neredeyse yok denecek kadar az sayıda mikroorganizmalara rastlamaktayız. Bu durum sigaranın sadece dudakla temas etmesi, alan olarak nüfuz ettiği dudak dar olması ve kısa sürede içilmesine bağlı kaldığı söylenebilir.

Örneklerin alındığı kişilerle ilgili veriler, Grafik 3,4,5 ve 6' da oransal olarak gösterilmiştir. Örneklerimizin %52'si erkeklerden ve %48' i kadınlardan oluşmaktadır. Cinsiyet oranlarının birbirine yakın olması bir farklılık oluşturmamıştır. Plaklar ve günlük diş fırçalama sayısı karşılaştırıldığında ise; günlük fırçalama sayısı 3 ve üzeri olan kişilerden alınan tüm örneklerde bakteri yoğunluğu diğer örneklere göre daha az seyretmiştir. Ağızda koruyucu diş tedavisi bulunan yani dolgu, implant veya köprü tedavileri görmüş dişleri bulunan kişilerden alınan örneklerin plaklarındaki yoğunluk, dişlerinde hiçbir tedavi olmayan kişilerin örneklerine göre daha fazla saptanmıştır. Tüm bu mikroorganizmalar arasından çalışmamızın asıl amacı olan streptokoklara göz atacak olursak; kişilerden alınan tüm örneklerde, aynı hemoliz tipinde olmak koşuluyla, genel olarak varlığı saptanmıştır. Yani ağız svabının ekildiği plakda gözlenen bir alfa hemolitik streptokok aynı şekilde elma, sakız ve sigara svaplarının ekildiği plaklarda da gözlenmiştir. Bu durum bize streptokokların izlediği yayılcı stratejiyi avantaja çevirmemize olanak sağlamaktadır. Şöyle ki oral mikroflorasını bildiğimiz bir kişinin herhangi bir objede bıraktığı ısıruk izlerinde var olan mikroorganizmaları tespit ettiğimizde o kişiye ulaşma şansımızı artırmış olabileceğinin bir göstergesi olarak değerlendirilebileceğini düşünüyoruz.

Kişilerin ağız içi floralarının farklı olmaları bize ekstra bir avantaj daha sağlamaktadır. Tablo 4'te ortaya çıkan bulgulara bakıldığında ağız içinde nadir rastlanan *Candida sp.*, Peptostreptokok, *E.coli*, Enterekok, Saprofit vb. gibi mikroorganizmaların varlığı o kişiyi kimliklendirme açısından özel kılmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre; yetişkin insanların yaklaşık %48.6 sının ağızlarından *Candida* türleri izole edilmiştir. Bunun dışında olası durumlarda; ağız içi florada *Cryptococcus* ve *Saccharomyces* grubu mantarlara da rastlanabilmektedir ( 85). Bu durumda herhangi bir yerde herhangi bir olayda ve herhangi bir objede bıraktığı ısıruk izi o kişiyi ele verecek hale gelmektedir. Yani az görülme sıklığının kimliklendirmede dışlanma olasılığı olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Çalışmamız da ağız mikroflorasında var olan streptokokları pahalı ve farklı ekipmanlar gerektiren genotipik tanımlamanın aksine; fenotipik ve morfolojik

özelliklerinden yararlanarak tanımlamak ve tanımlanan bu canlıların kişilere özgü materyallere bulaşıp bulaşmadığını kontrol ederek kimliklendirmeyi amaçladık. Hedefimize göre; gerçekten de oral mikroflorada var olan streptokoklar kişilerin bıraktığı ısıruk izlerindeki tükürükte birikiyor ve ısıruk izini kişiye özel olduğunu bize gösteriyordu. Ayrıca diğer oral floradaki nadir bulunan mikroorganizmalar bize kişinin diğer kişilere göre ne kadar özgün ve karakteristik olduğunu ifade ediyordu.

Bu açıdan suç soruşturmasında şüpheli kişilerin var olan bozunmuş yada yetersiz olan ve ısıruk izlerinden elde edilen DNA prosedürünün işlemediği durumlarda veya genotipik yaklaşımlara ek olarak tamamlayıcı bir sonuç elde etmek amacıyla bu çalışmayı adli bilimlere kazandırmış bulunmaktayız. Çalışmanın geleceğine dair; aslında yapılacak pek çok mikrobiyotomdaki flora çalışmaları ile, flora bakterilerinin adli bilimlerde kimliklendirme ile kullanılmasına bir basamak teşkil etmesi açısından; ülkemiz adına yapılan ilk orijinal çalışma olması açısından da önemli olduğu söylenebilir, ayrıca çeşitli yöntemlerle de zenginleştirilebileceği kanısındayız. Geliştirilmiş olan klinik yöntemlerde; örnek olarak 16S rRNA diziliminin saptanması ile birçok viridans streptokok grubu tanımlanmıştır. Ayrıca API RAPID ID 32 gibi yöntemlerle %85 oranında doğru tanımlamalar yapılmaktadır. Bir ileri yöntem olarak, ‘pulsed-field gel electrophoresis (PEGE)’ ve ‘multi locus sequencetyping (MLST)’ yöntemleri tanımlanmış olan türlerin prototiplerini ayırt etmek için geliştirilmiştir. Yine bu alanda yapılan replikasyon genetiği çalışmaları streptokokların gen dizilimi ile taksonomik şemalar oluşturmaya kadar ilerlemiştir. ([www.cdc.gov/biotech/infotech](http://www.cdc.gov/biotech/infotech)). Klinik açıdan ve adli bilimler açısından bu denli önemli olan bu bakterilere yani streptokoklara bizde adli mikrobiyoloji açısından katkı sağlamayı hedefledik. Bu açıdan çalışmamızın daha da geliştirilebileceği ve yapılan genotipik çalışmalarla paralel ilerleyebileceği kanısındayız.

## 6. ÖZET

Yeni bir çalışma alanı olan ve adli bilimler içerisinde mikroskobik delillerin varlığından söz edilen, adli mikrobiyoloji; değişen toplumsal yaşam sonucu, suç işleyenleri tanımlamak ve masumları korumak amacıyla, mikroorganizmaları tanımlayabilmek açısından önem kazanmıştır (1). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, insan bedeni yüzeyindeki bakteri topluluklarının tespitinin, adli bilimlere yeni bir bakış açısı getirebileceği gösterilmiştir (5). Bizde yaptığımız bu çalışmamızda ağız mikroflorasında yer alan streptokokların çeşitli objeler üzerinde olabileceğini düşünerek; bu mikroorganizmaların adli kimliklendirmede kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak amacıyla planladık.

Tez çalışmamızda; 50 kişinin ağız, elma, sigara ve sakız svapları olmak üzere 200 farklı svabın besiyerine ekim işlemi yapılmıştır. Kişilerin oral mikroflorasında var olan tüm mikroorganizmalar araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre; bu mikroorganizmalardan en baskın tür olarak alfa hemolitik streptokoklar olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca kişilerden alınan örneklerin %52'si si erkeklerden ve %48' i kadınlardan oluşmaktadır. Kişilerin ağız içi floralarında nadir rastlanan bazı mikroorganizmaların varlığı o kişiyi kimliklendirme açısından özel kıldığı belirlenmiştir. Bu durumda herhangi bir yerde herhangi bir olayda ve herhangi bir objede bıraktığı ısıruk izi o kişiyi ele verecek bir delil niteliği kazandırdığını söylemek mümkün olmuştur. Bu açıdan suç soruşturmasında şüpheli kişilerin var olan bozunmuş yada yetersiz olan ve ısıruk izlerinden elde edilen DNA prosedürünün işlemediği durumlarda veya genotipik yaklaşımlara ek olarak tamamlayıcı bir sonuç elde etmek amacıyla bu çalışmayı adli bilimlere kazandırmış bulunmaktayız.

Sonuç olarak; klinik açıdan ve adli bilimler açısından bu denli önemli olan bu bakterilere yani streptokoklara biz de adli mikrobiyoloji açısından farklı bir yaklaşımla katkı sağlamayı hedefledik. Bu açıdan çalışmamızın daha da geliştirilebileceği ve yapılan genotipik çalışmalarla paralel ilerleyebileceği kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Ağız Florası, Adli Mikrobiyoloji, Isırık İzleri, Kimliklendirme, Tükürük

## 7. SUMMARY

Forensic Microbiology which is a new field and mentioned about this microscobic evidences in forensic science; comes into question in terms of defined of microorganisms with protected innocents and defined guilty at the result of changing social life (1). Detection of bacterial communities on human body surface that will come a new aspect to forensic science is indicated at studies in recent years (5). Located in mind that our study of oral microflora streptococcus that we might be made on various objects; named in identification of microorganisms used and can not be used , we planned to investigate.

Our thesis work; 50 people in the mouth , apples, cigarettes and chewing gum swabs cultivation operation, including 200 different swab broth is made. All of microorganisms that have been investigated in the oral microflora of people. According to the obtained data; as the predominant species in these microorganisms has been determined that alpha hemolytic *streptococci* .

In addition, 52% of samples taken from people who have of men and 48% are women. It is unique flora in the mouth of people the rare microorganisms in the mouth that some people are determined to make it special in terms of identification. In this case, the bite mark left in any place, in any event and any objects it has been possible to say that an evidence of the gain will betray that person. We have to give this study forensic science in order to achieve a result, from this point of suspects in criminal investigations of existing degraded or insufficient and bite marks where processing of the DNA obtained from the procedure or in addition to genotypic approaches.

As a result; so much in terms of clinical and forensic science is important to us that these bacteria *Streptococcus*, we aim to contribute with a different approach in terms of forensic microbiology. This can be further improved in terms of our work and we believe progress can be made in parallel with genotypic studies .

**Key words:** Oral Flora, Forensic Microbiology, Bitemarks, Identification, Saliva

## 8. KAYNAKLAR

1. Wickenheiser RA. (2002)Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact., *J Forensic Sci* 47(3):442–450.
2. Fisher BAJ. Techniques of Crime Science Investigation, *CRC Press*, Florida, 2004; 208.
3. Chinni S., Anas A. Forgie A. A simple, safe, reliable and reproducible mechanism for producing experimental bitemarks, *JFOS*, 2013; 31(1):22-29.
4. Keim P. Microbial Forensics: A Scientific Assessment, Washington DC, *American Academy of Microbiology*, 2003.
5. Aaspollu A., Lillsaar T., Tummeleht L., Simm J., Metsis M. Can microbes on skin help linking persons and crimes? Tallin University of Technology Center for Biology of integrated, Estonia, 2011.
6. DeForest PR., Gaensslen RE., Lee HC. Forensic Science, An Introduction to Criminalistics McGraw-Hill Book Company, London, 1983;192-229.
7. Afşin H. Klinik Adli Tıp, (2001) Cilt 1(2),s:31-45.
8. Mahajan A., Batra A., Khurana B.S. Role of Bitemark Analysis in Identification of a Person, *GJMEDPH*, 2012;1:(1).
9. Anzai E., Hiarata M., Nunes F., Melani R. Oliveria R. DNA extraction from human saliva deposited on skin and use in forensic identification procedures, *Braz Oral Res*, 2005; 19(3):216-22.
10. Breeze R., Budowle B., Schutzer S. Adli Mikrobiyoloji, Çvr: Prof..Dr. Özdem Anđ, Ankara, Nobel Tıp, 2011.
11. Marsh PD. Role of the oral microflora in health. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2000; 12: 130-137.
12. Peterson J., Garges S., Giovanni M., McInnes P., Wang L., Jeffery A. ve ark. The NIH Human Microbiome Project, *Genome Res*. 2009; 19: 2317-2323.
13. Turnbaugh PJ., Ley RE., Hamady M., Fraser-Liggett CM., Knight R., Gordon JI. ve ark. The Human Microbiome Project, *Nature*, 2007;449(7164):804-10.

14. Huttenhower C., Gevers D., Knight R., Abubucker S., Badger JH., Chinwalla AT. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome, *Nature*, 2012 June 13;486(7402):207-14.
15. Lazarevic V, Whiteson K, Hernandez D, Francois P, Schrenzel J. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota, *BMC Genomics*, 2010;11:523.
16. Afşin H., Yaşar F., Hancı H. Adli Diş Hekimliği, *TBB*, 2004;54:351-354.
17. Akkaya Ç., Türk K. İçtihatlı Türk Ceza Kanunu ve Ceza Muhakemesi Kanunu. 3. Baskı. Adalet Yayınevi, Ankara, 2013.
18. Hochmeister MN, Rudin O, Ambach E. PCR analysis from cigarette butts, postage stamps, envelope sealing flaps, and other saliva-stained material. In: Lincoln PJ, Thomson J, editors. Forensic DNA profiling protocols, *Totowa: Humana Press*, 1998; p: 27-32.
19. Davidek, Marie N. Evaluation of Phadebas Forensic Press test Paper as a Source of Biological Material for Immunochromatographic Testing and Dna Analysis, Boston University, 2014.
20. Lenander-Lamikari M. Laimaranta V. Saliva and Dental Caries, *Adv. Dent. Res.* 2000; 14: 40-47.
21. Anđ Ö. Ağız Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Tıp, 1990.
22. Hiroaki N., Akira K., Takeshi O., Aya T., Masaaki H. A novel method for the identification of saliva by detecting oral streptococci using PCR, *Forensic Sci. Int* , 2008; 183:20-23.
23. Ege B., Aktaş Ö. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Öğrencileri İçin Adli Tıp Ders Notları, 1999.
24. Marsh P., Martin MV. Oral Microbiology, England, Wright, 1999.
25. Lamant R.J., Jenkinson H.F. Oral Microbiology at a Glance. Wiley-Blackwell. Publ. Hong Kong, 2010.
26. Gültekin E., Develiođlu Ö., Yener M., Karakaya M., Çiftçi Z. Rekürren Tonsillitte Tonsil Yüzeyi ve Merkezine ait Mikrobiyolojik Floranın Karşılaştırılması ve İmmunolojik Değişikliklerin İncelenmesi, *ŞEEAH Tıp Bülteni*, 2011; 45(3):80-84.
27. Jawetz E., Melnick JL., Adelberg EA. Medical Microbiology, Large Cornecticut, 1995; 44-52.

28. Nord C.E., Heimdahl A. Cardiovascular infections bacterial endocarditis of oral origin, *J Clin. Periodontol*, 1990; 17:494-496.
29. Baron S. Medical Microbiology, University of Texas Medical Branch at Galveston, 4th edition, 1996.
30. Komiya A., Koto T., Nakagava T., A rapid DNA probe method for detection of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Periodontal*, 2000;71:760.
31. Otto K., Norbert W., 'Lactobacilli'. Sneath P. Nichols S. Sharpe M. Holt J. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, *Williams and Wilkins*, 1986; 2:1209-1234.
32. Paddick JS., Brailsford SR., Kidd EAM., Beighton D., Phenotypic and genotyping selection of microbiota surviving under dental restorations, *Applied and Environmental Microbiology*, 2005;7(5):2467-2472.
33. Bagg J., MacFarlane T., Poxton R. Smith A., Essentials of Oral Microbiology for Dental Students, *Oxford Press*, 2006;2: 208-215.
34. Foster J., Kolenbrander P. Development of a multispecies oral bacterial community in saliva conditioned flow cell, *Applied and Environmental Microbiology*, 2004;70(7):4340-4348.
35. Gürlen Volkan. "Tükürüğün biyokimyası, işlevleri ve ağız sağlığı açısından önemi, Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi 2005".
36. Mısırlıgil A., Aydın M. Ağız Mikrobiyolojisi. Ankara: Nobel Tıp, 2012.
37. Marais J., Brözel V. Chemically activated water in dental unit water lines, *Brith Dent. J.*, 1999; 187(3):154-158.
38. Kolenbrander P., Palmer R. Microbial Biofilms. Ed. Ghannam M. O'Toole G. Chapter 6. Human Oral Bacterial Biofilms, *ASM Press*, Washington DC, 2004.
39. Edgerton M., Kashlukova S. Salivary histatin 5 and its similarities to other antimicrobial proteins in human saliva, *Adv. Dent. Res*, 2000; 14:16-21.
40. Meisel P., Siegemund A., Dombrowa S., Sawaf H., Fanghaenel J., Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease, *J Periodontol*, 2002 Jan;73(1):27-32.



41. Hiroaki N., Akira K., Takeshi O., Aya T., Masaaki H., Noboru A. ve ark. A novel method for the identification of saliva by detecting oral *streptococci* using PCR, *Forensic Science International*, 2009;183:20-23.
42. Jenkinson HF. Genetic analysis of adherence by oral streptococci. *J. Ind. Microbiol.* 1995 Sep;15(3):186-92.
43. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease, *Adv Dent Res.* 1994 Jul;8(2):263-71.
44. Becker M.R., Paster B.J., Leys E.J. Dewhirst F.E., Kenyan S.G. Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries, *J. Clin. Microbiol*, 2002; 40: 1001-1009.
45. Kıyan M. Anaerop, sporsuz Gram pozitif basil ve koklar . Ustaçelebi Ş.eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi. Ankara, 1999; s:651-652.
46. Erganiş O., Öztürk A. Oral Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. Nobel Tıp Kitabevi, 2003; S:55-67.
47. Matilla K. Dental İnfections as a risk factor for acute myocardial infection, *J Eur. Heart*, 1993; 14:51.
48. Simon K. Titball R., Michell S. Lipoproteins of bacterial pathogens. *Infections and Immunity*, 2011; 79 (2):548-561.
49. Spellerberg B. Brandt C. ‘*Streptococcus*’ Manuel of Clinical Microbiology 9th Ed. Washington DC. 2007; 417-429.
50. Whiley RA., Beighton D. Current classification of the oral streptococci, *Oral Microbiol Immunol*, 1998; 13: 195–216.
51. Herzberg M.C., Meyer M.W., Kilic A., and Tao L. Hostpathogen interactions in bacterial endocarditis: streptococcal virulence in the host, *Adv Dent Res*, 1997; 11: 69–74.
52. Loesche W. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay, *Microbiol Rev*, 1986; 50:353-80.
53. Matta, M., Gousseff, M., Monsel, F., Poyart, C., Diebold, B., Podglajen, I., and Mainardi, J.L. First case of *Streptococcus oligofermentans* endocarditis based on *sodA* gene sequences determined after amplification directly from valvular samples, *J Clin Microbiol*, 2009; 47: 855–856.

54. Yılmaz R., Temiz A., *Streptococcus salivarius* subsp. thermophilus ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus'un Klasik ve Moleküler Yöntemler Kullanılarak Tanımlanması ve Karakterizasyonu, *Orlab*, 2003; 1(3):19-42.
55. Jayaraman G.C., Penders J.E., Burne R.A. Transcriptional Analysis of the *S. mutans* hrcA, grpE and dnaK Genes and regulation of expression in response to heat shock and environmental acidification, *Mol. Microbiol*, 1997; 27(2):329.
56. Murray PR., Rosenthal KS., Pfaller MA. Medical Microbiology, 5th edition, Elsevier Mosby, 2005.
57. Tartana G., Funke B. Case C: Microbiology, 9th edition, Pearson Int. San Francisco, 2007; p: 809-838.
58. Prescott L., Harley J., Klein D. Microbiology, 4th Ed. Boston, 1999; p:853-884.
59. Burlows A. Manual of Clinical Microbiology, Washington, 1991; s:183-200.
60. Lancefield RC. "A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci.", *J Exp Med*, 1933; 57 (4): 571–95.
61. Facklam, R. What happened to the *streptococci*: overview of taxonomic and nomenclature changes, *Clin Microbiol Rev*, 2002; 15: 613–630.
62. Sherman JM. THE *STREPTOCOCCI*, *Bacteriol Rev*. 1937 Dec; 1(1): 3–97.
63. Jones D. Composition and differantation of the genus streptococcus, In 'Streptococci', Academic Press, London, 1978; 1-49.
64. Kayser F.H., Bienz K.A., Eckart J. Tıbbi Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi. 9. Baskı, 2002; s:34-42.
65. Kiraz N., Samastı M., Aygün G. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders kitabı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 2015; 1(2).
66. Cervero M. '*S. salivarius meningitis* following subarachnoid anesthesiac', *Enferm Inf. Microbiol Clin*, 2009; 27(6):371-2.
67. Capasso C., Supuran C.T. An overview of the Carbonic Anhydrases from Two Pathogenes: *S. mutans* and *P.gingivalis* ,*Curr. Top Med. Chem*, 2016.
68. Bowden, G. H.; Hamilton, I. R. Environmental pH as a factor in the competition between strains of the oral *streptococci* *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, and "*S. mitior*" growing in continuous culture". *Canadian Journal of Microbiology* 2014; 33 (9): 824–827.

69. Rashid RM., Salah W., Parada JP. *Streptococcus milleri* aortic valve endocarditis and hepatic abscess, *Journal of Medical Microbiology*, 2007; 56 (2): 280–282.
70. Morita C., Sumioka R., Nakata M., Okahashi N. Wada S. Yamashiro T. ve ark. Cell Wall-Anchored Nuclease of *Streptococcus sanguinis* Contributes to Escape from Neutrophil Extracellular Trap-Mediated Bacteriocidal Activity, *Plos One*, 2014; 9(8): e103125.
71. Kok J., Buist G., Zomer AL., Hijum FT., & Kuipers OP. Comparative and functional genomics of *lactococci*, *FEMS Microbiology Reviews*, 2005; 29 (3): 411–33.
72. Willems A., Collins MD. Phylogenetic analysis of *Ruminococcus flavefaciens*, the type species of the genus *Ruminococcus*, does not support the reclassification of *Streptococcus hansenii* and *Peptostreptococcus productus* as *ruminococci*, *Int J Syst Bacteriol.* 1995 Jul;45(3):572-5.
73. Cato EP. Transfer of *Peptostreptococcus parvulus* to the genus *Streptococcus*: *S. parvulus* comb. nov. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983; 33:82-84.
74. Barnes EM., Impey CS., Stevens BJ., Peel JL. *Streptococcus pleomorphus* sp.nov.: an anaerobic streptococcus isolated mainly from the caeca of birds, *J Gen Microbiol.* 1977 Sep;102(1):45-53.
75. Rocas I., Siqueira J., Santos K. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases, *Journal of Endodontics*, 2004; 30 (5): 315–320.
76. Mascini EM., Troelstra A., Beitsma M. Genotyping and preemptive isolation to control an outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, *Clin. Infect. Dis.* 2006;42 (6): 739-46.
77. Higaki S., Kitagawa T., Kagoura M, Morohashi M., Yamagishi T. Characterization of *Peptostreptococcus* species in skin infections", *J Int Med Res.* 2000; 28 (3): 143–7.
78. Tuğ A. Adli Bilimler ve Mikrobiyoloji ,Adli Tıp Dergisi, 2009; 23(1): 47-55.
79. Jeffreys A.J. Genetic Fingerprinting, *Nat.Med.*, 2005; 11:1035-1039.
80. Kanto EA., Hirata MH., Dominquez R. Oliveria N. DNA Extraction from Human Saliva Deposited on Skin and its Use in Forensic Identification Procedures, *Brazil Oral Res*, 2005;19 (3): 216-22.



81. Kulik EM., Sandmeier H., Hinni K., and Meyer J. Identification of archaeal rDNA from subgingival dental plaque by PCR amplification and sequence analysis, *FEMS Microbiol*, 2001;196: 129–133.
82. Davey M.E., Costerton JW. Molecular genetics analyses of biofilm formation in oral isolates. *Periodontol 2000*, 2006; 42, 13–26.
83. Dendle C, Looke D. Management of mammalian bites. *Aust Fam Physician*, 2009; 38 (11): 868-7.
84. Kreth J., Zhang Y. Hezberg M.C. Streptococcal Antagonism in Oral Biofilms, *Bacteriology J*. 2008; 190(13): 4632-4640.
85. Nolte WA. Oral Mikrobiyoloji, Çevr: Anđ Ö. 3.baskı, Nobel Yayınevi, İstanbul, 1990.
86. Aas JA., Paster BJ., Stokes LN., Olsen I., Dewhirst, F.E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity, *J Clin Microbiol*, 2005; 43:5721–5732.
87. Amoraso P., Avila F.A., Gogliardi C. Prevalence of different *Streptococci* species in the oral cavity of children and adolescents, *Braz Oral Sci*, 2003; 2(4):164-168.
88. Bhargava K. Rastagi P. Paul M. Singla A. An overview of bitemark analysis, *J Indian Forensic Med*, 2012; 34(1): 0971-0973.
89. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, s: 425-521, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir, 1995.
90. Borgula LM., Robinson FG., Rahimi M. Isolation and genotypic comparison of oral *Streptococci* from experimental bitemarks, *J Forensic Odontostomatol*, 2003; 21;23-30.
91. Caufield P.W., Dasanayake A.P., Li Y., Pan Y., Hsu J., and Hardin J.M. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity, *Infect Immun*, 2000; 68:4018–4023.
92. Caufield P.W., Li Y., Dasanayake A., and Saxena D. Diversity of lactobacilli in the oral cavities of young women with dental caries, *Caries Res*, 2007; 41, 2–8.
93. Cvitkovitch D.G. Genetic competence and transformation in oral streptococci, *Crit Rev Oral Biol Med*, 2001; 12:217–243.
94. Delwiche E.A., Pestka J.J., and Tortorello M.L. The veillonellae: Gram-negative cocci with a unique physiology, *Annu Rev Microbiol*, 1985; 39: 175–193.

95. Doyle R.J., Nesbitt W.E., and Taylor K.J. On the mechanism of adherence of *Streptococcus sanguis* to hydroxiapatite, *FEMS Microbiology*, 1982; 57:1194-1201.
96. Edwards A.M., Grossman T.J., and Rudney J.D. *Fusobacterium nucleatum* transports noninvasive *Streptococcus cristatus* into human epithelial cells, *Infect Immun* , 2006; 74: 654–662.
97. Eglund P.G., Du L.D., and Kolenbrander P.E. Identification of independent *Streptococcus gordonii* SspA and SspB functions in coaggregation with *Actinomyces naeslundii*, *Infect Immun* , 2001; 69: 7512–7516.
98. Francis L., Macrina, Mark T. Madelon C., Halula, Kevin R. Genetic approaches to the study of oral microflora: A Review , *Oral Biology and Medicine*, 1990; 1(3):207-227.
99. Gronroos L., Saarela M., Matto J., Tanner-Salo U., Vuorela A., Alaluusua S. Mutacin production by *Streptococcus mutans* may promote transmission of bacteria from mother to child, *Infect Immun*, 1998; 66:2595–2600.
100. Gross KC, Houghton MP, Roberts RB. Evaluation of blood culture media for isolation of pyridoxal-dependent *Streptococcus mitior (mitis)*, *J. Clin. Microbiol*, 1981; 14 (3): 266–72.
101. Jenkinson H.F. Adherence and accumulation of oral *streptococci*, *Trends Microbiol*, 1994;2:209–212.
102. Jenkinson H.F. Cell surface protein receptors in oral streptococci, *FEMS Microbiol Lett* , 1994; 121: 133–140.
103. Karadayı, B. Dişlerden Erişkin ve Erişkin Olmayan Bireylerden Yaş Belirlenmesi: Dijital Radyolojik Teknik Uygulamaları, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, 2010.
104. Kennedy D.M., Stanton J., Garcia J.A., Mason C., Kieser J.A. Microbial analysis of bite marks by sequence comparison of Streptococcal DNA, *Plos ONE*, 2012; 7(12): e51757.
105. Miller WD. The Microorganisms of The Human Mouth the Local and General Diseases which are Caused by Them, S.S. White Dental Manufacturing Co., Philadelphia, 1890.
106. Pretty IA. The scientific basis for human bite mark analyses- a critical review, *Science and Justice*, 2001; 41: 85–92. 9.

107. Pretty IA. Unresolved issues in bitemark analysis. *Bitemark Evidence*, New York: Marcel Dekker, 2005; 547–563.
108. Rahimi M., Heng N., Kieser J., Tompkins G. Genotypic comparison of bacteria recovered from human bitemarks and teeth using arbitrarily primed PCR, Department of Oral Sciences, New Zealand, 2005.
109. Rothwell BR. Bite marks in forensic dentistry: a review of legal, scientific issues, *The Journal of the American Dental Association*, 1995; 126: 223–232.
110. Silva RH., Musse JO., Meleni R., Oliveria RN. Human bitemark Identification and DNA Technology in Forensic Dentistry, *Braz Oral Sci.* 2006; 15(19): 1193-1197.
111. Spradbery P. Restriction Fragment Length Polymorphisms of *Streptococci* in forensic odontological analysis, *Bioscience Horizons*, 2010; 3(2):166-178.
112. Sweet D., Lorente M., Valanzuella A., Villonova E. An Improved method to recover saliva from human skin: The Double Swab Technique, *J Forensic Sci.* 1997; 42(2):320-322.
113. Toothman MH, Kester KM. Champagne J., Cruz T. Scott DWS, Brown BL. Characterization of human DNA in environmental samples, *Forensic Sci Int*, 2008;178:7–15.
114. Truong TL., Menard C., Mouton C., Trahan L. Identification of mutans and other oral streptococci by random amplified polymorphic DNA analysis, *Journal of Medical Microbiology*, 2000; 49: 63–71.

# EKLER

## Etik Kurul Onayı

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI


Sayı : 83045809/604.01/02 - 69325  
Konu:

06 Mart 2015

I.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Müdürlüğüne

İlgi: 16.02.2015 tarih, 86669574-302.14.06/48523 sayılı yazınıza:

Enstitünüz öğretim üyesi **Yard.Doç.Dr.Hüseyin ÇAKAN**'ın danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Buse Sabiha BOZASLAN**'ın yürütücülüğünde "**Ağız Florasındaki Streptotokların Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Araştırılması**" başlıklı **Yüksek Lisans Tezi (Araştırma Fonu)** hakkında ilgi yazınız ve ekleri **03 Mart 2015** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir. **Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim**

  
Prof.Dr. Özgür KASAPÇOPUR  
Klinik Araştırmalar Etik  
Kurulu Başkanı

Eki:  
1 dosya

## **Gönüllü Onam Formu**

### **İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü yüksek lisans tezi için yapılacak bir araştırmaya katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağına çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirseniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Formu imzalamanız çalışmanın kapsamı ve riskleri hakkında bilgilendirildiğinizi ve kararınızı serbestçe verdiğinizi belirtmektedir. Bu onay formunun bir kopyası size verilecektir. Bu formda anlamadığınız ifadeler varsa çalışmadaki araştırmacılara sorarak bilgi edinebilirsiniz.

#### **Ağız Florasındaki *Streptokokların* Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Araştırılması**

Çalışmamızda; oral mikroflorada var olan streptokokları, tanımlayıp ısırılan objelerdeki streptokoklarla karşılaştırarak; bu mikroorganizmaların adli kimliklendirme açısından kullanılıp kullanılmayacağına tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

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

Araştırmanın sizin açınızdan hedeflenen herhangi bir klinik yararı bulunmamaktadır.

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

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



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

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

Kendi haklarınız ve hasta yakınınız hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir bilgi almak istediğinizde, araştırmacı Buse Sabiha Bozaslan'a şu irtibat numaralarından ulaşabilir.

Tel: 05448339505 e-mail: busebozaslan@gmail.com

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

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

“ **Ağız Florasındaki Streptokokların Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Araştırılması**“ tez çalışması kapsamında alınan svap örneğinin (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

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

Gönüllünün Adı Soyadı:

Gönüllünün İmzası

Tarih:

Yetkin Araştırmacının Adı: Soyadı: Buse Sabiha BOZASLAN

Yetkin Araştırmacının İmzası:

Tarih:

## **Gönüllü Anket Formu**

1. Ne kadar sıklıkta dişerinizi fırçalarsınız?
2. Günde kaç öğün yemek yersiniz ve öğün aralarınız kaç saattir?
3. Su tüketiminiz günde kaç litre ve ne sıklıktadır?
4. En son ne zaman diş doktoruna başvurduunuz?
5. Sigara kullanım alışkanlığınız nedir?
6. Meyve ve sebzeleri yıkama alışkanlığınız nedir?
7. Ağız suyu veya diş ipi kullanım durumunuz nedir?
8. Herhangi bir hastalık durumunuz varmıdır?
9. En son antibiyotik kullanımınız ne zamandır?
10. Ağız içi yaralarının oluşum durumu ne sıklıktadır?
11. Boğaz enfeksiyonları geçirme sıklığınız nedir?

## ÖZGEÇMİŞ

**ADI SOYADI** : Buse Sabiha BOZASLAN  
**DOĞUM TARİHİ ve YERİ** : 15.01.1992 İstanbul  
**İLETİŞİM** : busebozaslan@gmail.com

### EĞİTİM DURUMU

Yüksek Lisans İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı

Tez Başlığı: Ağız Florasındaki Streptokokların Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Araştırılması

Danışman: Yard. Doç. Dr. Hüseyin Çakan

2009-2013 Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik

2005-2009 Maruf Marufoğlu Anadolu Lisesi

### YAYINLAR

Bozaslan B.S., Çakan H., Çevik F.E. “ Investigation of *Streptococcus* in oral flora in forensic science”, 7<sup>th</sup> European Academy of Forensic Science Conference, Prague, 2015.

Bozaslan B.S., Çakan H., Ateş P.S., Alturfan Emekli E., Alturfan A.A., Oz V., Cengiz S. “The examination of the growth of *Escherichia coli* (*E. coli*) strain on mac conkey agar prepared with wastewater”, 7<sup>th</sup> International Conference on Environmental Science and Development, Rome, Italy, 2016.

Bozaslan B.S., Çakan H., Ateş P.S., Alturfan A.A., Öz V., Cengiz S. Atık su ve distile su ile hazırlanmış besiyerinde *Escherichia Coli* (*E. coli*) türü bakterilerin üremelerinin gözlenmesi, Ulusal Su ve Sağlık Kongresi, Antalya, 2015.

Ateş P.S., Üstündağ Ü.V., Bozaslan B.S., Teratogenic Effects of wastewater on Zebrafish (*Danio Rerio*) embryos, Ulusal Su ve Sağlık Kongresi, Antalya , 2015

Bozaslan B.S., Çakan H., Ateş P.S., Alturfan A.A., Ağız Florasındaki Streptokokların Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Kullanımının Araştırılması, 13. Adli Bilimler Kongresi, Bodrum, 2016.

Ateş P.S, Bozaslan B.S., Çakan H., Alturfan A.A. “Atık Su Arıtma Tesisine Gelen Atık Sulardaki Patojen Bakterilerin Tür Dağılımının İncelenmesi”, Ulusal Su ve Sağlık kongresi, Antalya, 2015.

Bozaslan B.S., Çakan H., Ateş P.S., Alturfan Emekli E., Alturfan A.A., Oz V., Cengiz S. The examination of the growth of *Escherichia coli* (*E. coli*) strain on mac conkey agar prepared with wastewater, *IJESD*, 2016; 7(11):793-796.