

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

**DİYABETLİ HASTALARIN KÖK KANAL
ENFEKSİYONLARINDAKİ MİKROBİYAL KOMÜNİTE**

UZMANLIK TEZİ

ARŞ. GÖR. NAZİFE MAİDE DAYICAN

ZONGULDAK

2025

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

**DİYABETLİ HASTALARIN KÖK KANAL
ENFEKSİYONLARINDAKİ MİKROBİYAL KOMÜNİTE**

NAZİFE MAİDE DAYICAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER

ZONGULDAK

2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgisiyle, tecrübesiyle yolumu aydınlatan, her zaman öğrencisi olmaktan mutluluk ve gurur duyduğum, tez sürecimin her aşamasında destek olan, güleryüzünü, samimiyetini, sevgisini her zaman hissettiğim çok değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Sevinç Aktemur Türker' e,

Uzmanlık eğitimim süresince çok değerli klinik ve akademik tecrübelerini ve bilgilerini benimle paylaşan bölümümüz hocaları; Prof. Dr. Emre Bodrumlu, Prof. Dr. Mustafa Murat Koçak, Prof. Dr. Sibel Koçak, Prof. Dr. Baran Can Sağlam ve Dr. Öğr. Üyesi Ecehan Hazar'a,

Bir daha uzmanlık yapsam yine aynı eşkıdemlilere sahip olmak isteyeceğim, her zaman her koşulda desteklerini yanımda hissettiğim, ömür boyu arkadaşlığımızın sürmesini dilediğim canım eşkıdemlilerim Dt. Açıya Demirci Önder'e, Dt. Beyza Turan Sağlam'a ve Dt. Buket Beytaş Algan'a ve onlar sayesinde tanışıp bu süreci daha da keyifli hale getiren arkadaşlarım Dt. Burak Arda Önder'e, Dt. Berkcan Sağlam'a, Ramazan Algan'a, Devrim Demirci'ye,

Uzmanlık eğitim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım bölümümdeki tüm kıymetli çalışma arkadaşlarıma,

Tez sürecimde beni yüreklendiren, yüzümü güldüren, varlığıyla bana güven ve neşe veren, ilgisiyle, sabrıyla bu süreci daha da kolaylaştıran canım sevgilim Dt. Ziya Karataş'a

İlkokul yıllarımdan bugüne kadar iyi bir eğitim almam için çabalayan, benim için her türlü fedakarlığı yapan, bana sonsuz ve koşulsuz güven ve sevgiyi öğreten, bugüne gelmem de verdikleri emeği asla ödeyemeyeceğim annem Emine Dayıcan'a, babam Satılmış Dayıcan'a, ablam Derya Dayıcan'a, abim Erhan Dayıcan'a ve doğdukları ilk andan beri ailemizin neşe kaynakları olan yiğenlerim Elif ve Ömer Efe'ye

Tüm kalbim ve en içten duygularıyla sonsuz teşekkür ederim.

Nazife Maide DAYICAN

2025

ÖZET

Nazife Maide Dayıcan. Diyabetli Hastaların Kök Kanal Enfeksiyonlarındaki Mikrobiyal Komünite. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Endodonti, 2025

Amaç: Bu çalışmanın amacı Diabetes Mellitus hastalığının kök kanal enfeksiyonlarındaki mikrobiyal floraya etkisini değerlendirmektir.

Yöntem: Çalışmaya 18-65 yaşları arasında diyabet hastalığı olan (n=21) ve sistemik olarak sağlıklı olan (n=18) toplam 39 hasta dahil edildi. Endodontik tedavi öncesinde kök kanallarından steril kâğıt konilerle örnek alındı ve içerisinde PBS bulunan eppendorf tüplerine konularak -80 °C’de saklandı. Örneklerin 16S rRNA analizleri yapılarak V3-V4 hiperdeğişken bölgeleri Illumina Miseq platformu kullanılarak sekanslandı. DADA2 algoritması ile elde edilen Amplikon Dizi Varyantlar QIIME2 sistemine aktararak SILVA veri tabanı ile haritalandı. Örneklerdeki bakteri topluluklarının alfa ve beta çeşitlilikleri, R'deki phyloseq paketi (sürüm 4.1) kullanılarak sırasıyla Kruskal-Wallis testi ve çift yönlü permütasyonel çok değişkenli varyans analizi (PERMONOVA) kullanılarak yapıldı. Diferansiyel olarak bol bulunan taksonlar doğrusal diskriminant analizi etki büyüklüğü (LEfSe) kullanılarak tanımlandı.

Bulgular: Diyabet hastalarının dişlerinin 12’si ısrarcı apikal periodontitis (IAP), 9’u birincil apikal periodontitis (BAP) tanısına sahipti. Sistemik olarak sağlıklı 18 hastanın dişlerinin ise 12’si BAP, 6’sı IAP tanısına sahipti. Diyabetli ve sağlıklı hastalardaki BAP örneklerinin mikrobiyal kompozisyonlarının alfa ve beta çeşitlilik analizleri benzer bulundu. Diyabetli ve sağlıklı hastalardaki IAP örneklerinin alfa çeşitlilik analizleri benzer, beta çeşitlilik analizlerinden Weighted Unifrac ($p=0.01$) ve Unweighted Unifrac ($p=0.02$) analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Diyabetli hastalardaki BAP ve IAP’ın mikrobiyal kompozisyonunun tür çeşitliliği Fisher alpha analizinde ($p=0.04$), Beta çeşitliliği ise Bray curtis ($p=0.02$) ve Weighted Unifrac ($p=0.04$) analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diyabetli hastaların mikrobiyal kompozisyonunda farklılığı oluşturan biyobelirteçler IAP’ta *p.Synergistota*, *g.Fretibacterium*, *g.Bacteroides*, *g.Actinomyces*, *g.Escherichia shagella*, *g.Rothia* ve *g.Blautia*; BAP’ta *f.Bifidobacteraceae* ve *o. Bifidobacteratess* olarak belirlendi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların IAP’ta farklılığı oluşturan

biyobelirteçler ise *p.spirochaetota*, *g.Bacteroides*, *g.Leptotrichiaceae* olarak belirlendi (LDA>1).

Sonuç: Diyabetlilerdeki BAP ve IAP mikrobiyal kompozisyonunun farklı çeşitlilikte olduğu bulundu. Diyabetli hastalarda sistemik olarak sağlıklı hastalara göre taksonomik kompozisyonunda filum, cins, tür düzeyinde daha fazla bakteri tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, Kök kanal enfeksiyonu, Yeni nesil dizileme, Apikal periodontitis, Endodontik mikrobiyoloji



ABSTRACT

Nazife Maide Dayıcan. Microbial Communities in Root Canal Infections of Patients with Diabetes. Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Dentistry, Master Thesis, Endodontics, 2025

Aim: The aim of this study was to evaluate the effect of Diabetes Mellitus on the microbial flora in root canal infections.

Method: The study comprised a total of 39 diabetic patients (n = 21) and systemically healthy patients (n = 18), with ages ranging from 18 to 65 years. Before endodontic treatment, samples were taken from the root canals with sterile paper points, put into Eppendorf tubes containing PBS, and stored at -80 °C. 16S rRNA analyses of the samples were performed and V3-V4 hypervariable regions were sequenced using Illumina Miseq platform. Amplicon Sequence Variant obtained with DADA2 algorithm were transferred to QIIME2 system and mapped with SILVA database. Alpha and beta diversities of bacterial communities of samples were compared using the Kruskal-Wallis test and pairwise permutational multivariate analysis of variance, respectively using the phyloseq package in R (version 4.1). Differentially abundant taxa were identified using linear discriminant analysis effect size (LEfSe).

Results: Diabetic patients had 12 teeth with persistent apical periodontitis (IAP) and 9 teeth with primary apical periodontitis (BAP). Systemically healthy patients had 12 teeth with BAP and 6 teeth with IAP. Alpha and beta diversity analyses of BAP samples from diabetic and healthy patients were similar. Alpha diversity analyses of IAP samples in diabetic and healthy patients were similar, and statistically significant differences were found in Weighted Unifrac ($p=0.01$) and Unweighted Unifrac ($p=0.02$) metrics of beta diversity analyses. Species diversity of the microbial composition of BAP and IAP in diabetic patients was statistically significant in Fisher alpha analysis ($p=0.04$) and beta diversity was statistically significant in Bray curtis ($p=0.02$) and Weighted Unifrac ($p=0.04$) metrics. The biomarkers that constituted the difference in the microbial composition of diabetic patients were *p.Synergistota*, *g.Fretibacterium*, *g.Bacteroides*, *g.Actinomyces*, *g.Escherichia shagella*, *g.Rothia* and *g.Blautia* in IAP and *f.Bifidobacteraceae* and *o.Bifidobacteratess* in BAP. In IAP of systemically healthy patients, the biomarkers that constituted the difference were determined as *p.spirochaetota*, *g.Bacteroides*, *g.Leptotrichiaceae* (LDA>1).

Conclusion: The microbial composition of BAP and IAP in diabetic patients had different diversity. More bacteria were detected at phylum, genus and species level in the taxonomic composition of diabetic patients compared to systemically healthy patients.

Keywords: Diabetes Mellitus, Root canal infection, Next generation sequencing, Apical periodontitis, Endodontic microbiology



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Oral Mikrobiyota	3
2.2. Kök Kanal Enfeksiyonları Tanımı ve Çeşitleri.....	3
2.3. Kök Kanal Enfeksiyonuna Neden Mikroorganizmalar	4
2.3.1. Virüsler.....	4
2.3.2. Mantarlar	4
2.3.3. Arkealar	5
2.3.4. Bakteriler.....	5
2.4. Birincil Kök Kanal Enfeksiyonlarında Bulunan Bakteriler.....	6
2.4.1. Gram negatif bakteriler	6
2.4.2. Gram pozitif bakteriler.....	7
2.5. İkincil/Israrcı Kök Kanal Enfeksiyonlarında Bulunan Bakteriler	7
2.6. Apikal Periodontitis	8
2.6.1. Apikal periodontitis sınıflaması	8
2.7. Apikal Periodontitis ve Biyofilm	10
2.8. Sistemik Hastalıklar ve Apikal Periodontitis Arasındaki İlişki	10
2.8.1. Kardiyovasküler hastalıklar ve endodontik enfeksiyon	11
2.8.2. Otoimmün bozukluklar	12
2.8.3. Kalıtsal pıhtılaşma bozuklukları	12

2.8.4. Osteoporoz	12
2.9.Diyabet ile Apikal Periodontitis Arasındaki İlişki	13
2.10.Diyabet Tanımı	13
2.11.Diyabetin Sınıflaması	13
2.11.1. Tip 1 diyabet	14
2.11.2. Tip 2 diyabet	14
2.11.3. Gestasyonel diyabet	15
2.12.Kök Kanallarındaki Mikroorganizmaların Tespit Yöntemi	17
2.12.1. Kültür yöntemi	17
2.12.2. Moleküler mikrobiyolojik yöntemler.....	17
2.13.Gen Sekanslama (Dizileme) Yöntemi	21
2.13.1. Birinci nesil DNA dizileme yöntemi.....	21
2.13.2. İkinci nesil DNA dizileme yöntemleri	22
2.13.3. Üçüncü nesil DNA dizileme yöntemleri	26
2.14.Kök Kanal Mikrobiyotasını Araştırmak İçin Yapılan Çalışmalar.....	27
2.12.1. 1.nesil çalışmalar.....	28
2.12.2. 2.nesil çalışmalar.....	28
2.12.3. 3.nesil çalışmalar.....	28
2.12.4. 4.nesil çalışmalar.....	29
2.12.5. 5.nesil çalışmalar.....	29
2.15.Biyoinformatik.....	29
2.16.Kök Kanallarından Örnek Alınması	30
2.16.1. Kâğıt konilerle örnek alınması	31
2.16.2. Kök kanallarından dentin tıraşlanması ile örnek alınması.....	31
2.16.3. Kriyopulverizasyon ile örnek alınması	31
3.GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1.Etik Kurul Onayı	33
3.2.Örneklerin Seçilmesi ve Hazırlanması	33
3.3.Kök Kanallarından Örnek Alınması	35
3.4.Örneklerden DNA Ekstraksiyonu	36

3.5. Illumina Sekans Kütüphanesi Hazırlama ve Sekanslama.....	37
3.6. Biyoinformatik Analizler	37
4.BULGULAR	39
4.1.Mikrobiyal Analizler.....	41
4.1.1.Tüm hastaların kök kanallarının mikrobiyal kompozisyonu.....	41
4.1.2.Diyabetli hastaların kök kanallarının mikrobiyal kompozisyonu ...	44
4.1.3. Sistemik olarak sağlıklı hastaların kök kanallarının mikrobiyal kompozisyonu	45
4.2. Alfa Çeşitlilik Analizi	46
4.3.Beta Çeşitlilik ve PCoA koordinasyon Analizleri	49
4.4. LEfse Analizi	52
5.TARTIŞMA.....	53
6.SONUÇLAR	63
7.KAYNAKÇA.....	65
8.EKLER.....	82
Ek 1. Etik Kurul Onayı	82
Ek 2. İntihal Beyan Formu	83
Ek.3. İntihal Raporu.....	84
Ek.4. Tez Yazım Değerlendirme Formu	88
9.ÖZGEÇMİŞ.....	89

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAP	Akut Apikal Periodontitis
ADA	Amerikan Diyabet Derneği
AGE	İleri Glikasyon Son Ürünleri
AP	Apikal Periodontitis
BAP	Birincil Apikal Periodontitis
CRP	C-Reaktif Protein
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotid
FISH	Floresan In Situ Hibridizasyon
HMP	İnsan Mikrobiyom Projesi
HOMD	İnsal Oral Mikrobiyomu Veri Tabanı
IAP	İkincil/İsrarcı Apikal Periodontitis
IL	İnterlökin
KAP	Kronik Apikal Periodontitis
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDL	Periodontal Ligament
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YND	Yeni Nesil Dizileme

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Diyabetin hiperglisemi ile hücre hasarına ve vasküler değişikliklere neden olduğu şematik görüntü	15
Şekil 2. Diyabetin osteoklastogeneziste rol oynayan bakteriyel komponentler ve sitokinler üzerindeki etkilerinin temsili şekli	16
Şekil 3. PCR tekniğinin aşamaları	19
Şekil 4. Sanger Dizileme Şematik görünümü	22
Şekil 5. Roche 454 GS FLX dizilemesi	24
Şekil 6. Ion Torrent Dizileme Basamakları.....	25
Şekil 7. Illumina Dizileme Basamakları	26
Şekil 8. Orstavik PAI skorlaması	34
Şekil 9. Birincil apikal periodontitis grubuna dahil edilen dişlerden bazılarının radyografik görüntüleri	35
Şekil 10. İkincil/Israrcı apikal periodontitis grubuna dahil edilen dişlerden bazılarının radyografik görüntüleri	35
Şekil 11. Filum düzeyinde göreceli bolluk grafiği	41
Şekil 12. Cins düzeyinde göreceli bolluk grafiği.....	42
Şekil 13. Tüm örneklerdeki filum ve sınıf seviyesindeki mikrobiyal topluluğu gösteren grafik	42
Şekil 14. Örneklerdeki arkeaların varlığını gösteren cins düzeyinde taksonomik dağılım	43
Şekil 15. Diyabetli hastalardan alınan örneklerdeki mikrobiyal topluluk	45
Şekil 16. Sistemik olarak sağlıklı hastalardan alınan örneklerdeki mikrobiyal topluluk	46
Şekil 17. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Fisher alpha indeks grafiği	47
Şekil 18. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Faith's PD indeks grafiği.....	47
Şekil 19. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Shannon indeks grafiği.....	48
Şekil 20. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Simpson indeks grafiği.....	48
Şekil 21. Gruplardaki mikrobiyal zenginliği gösteren Chao 1 indeks grafiği	49
Şekil 22. Bray-Curtis indeksine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının koordinat analizi.....	49
Şekil 23. Jaccard indeksine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının koordinat analizi.....	50

Şekil 24. Weighted Unifrac mesafe matrisine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının koordinat analizi	51
Şekil 25. UnWeighted Unifrac mesafe matrisine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının ana koordinat analizi	51
Şekil 26. Örneklerin LDA skorlarının histogramı	52



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Diyabet hastalarına ait demografik veriler	39
Tablo 2. Sistemik olarak sağlıklı hastalara ait demografik veriler	40



1.GİRİŞ

Apikal periodontitis (AP), periradiküler bölgede oluşan kronik inflamatuvar hastalıktır (1). Kök kanal enfeksiyonun başlaması için belirli sayıda mikroorganizmanın kök kanal sistemine kolonize olması gerekmektedir. Bu kolonizasyonun ardından mikroorganizmaların ya da mikroorganizmaların toksinlerinin, virülans faktörlerinin periradiküler bölgeye ulaşması ile apikal periodontitis meydana gelmektedir. Kök kanal enfeksiyonları birincil kök kanal enfeksiyonları, ikincil kök kanal enfeksiyonları ve ısrarcı kök kanal enfeksiyonları olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil kök kanal enfeksiyonları nekrotik pulpaya kolonize olan mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon türüdür. Karışık bakteri topluluğu ile karakterize bir yapıda olan birincil kök kanal enfeksiyonlarında sıklıkla gram negatif ve gram pozitif anaerobik bakteriler baskındır (2). İkincil kök kanal enfeksiyonları ise birincil kök kanal enfeksiyonunda var olmayan ve tedavi esnasında, seans aralarında ya da tedavi sonrasında ortaya çıkan mikroorganizmalardan köken almaktadır (3). İsrarcı kök kanal enfeksiyonları ise kanal içi dezenfeksiyon yöntemlerine karşı dirençli mikroorganizmalar tarafından meydana gelmektedir. Bu enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar ise birincil ya da ikincil kök kanal enfeksiyonlarında bulunan mikroorganizmalardan köken almaktadır. İsrarcı kök kanal enfeksiyonlarında daha az sayıda tür mevcuttur ve bu enfeksiyon türü sıklıkla gram pozitif bakterilerden oluşmaktadır (4, 5).

Güncel literatür apikal periodontitis ve sistemik hastalıklar arasında çift yönlü bir ilişki olduğunu bildirmektedir (6). Diyabette bu sistemik hastalıklardan biridir.

Diyabet insülin salınımı ve/veya dokularda insüline karşı gelişen ‘insülin direnci’ veya her ikisinin birlikte olduğu durumlarda ortaya çıkar. Diyabet varlığının tedavi öncesi kök kanal enfeksiyonu olan dişlerin endodontik tedavi sonuçlarındaki başarısızlıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda hem diyabet hem de hipertansiyonu olan hastaların endodontik olarak tedavi edilen dişlerinin ağızda kalma sürelerinde azalma olduğu gözlenmiştir (7).

Endodontik enfeksiyonlardaki bakteri türlerinin teşhisi için kültür ve moleküler mikrobiyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Kök kanal enfeksiyonuna neden olan bakteri türlerinin tespiti endodontik enfeksiyonların önlenmesi için önemlidir. Birçok

bakteri türünün kültüre edilememesi nedeniyle, oral mikrofloranın incelenmesinde nükleik asit bazlı moleküler yöntemler daha çok kullanılmaya başlanmıştır (8). Moleküler mikrobiyolojik yöntemlerin kullanılmaya başlanmasıyla beraber tespit edilen bakteri sayısı kültür ile elde edilen bakteri tür sayısının iki katına çıkmıştır (9). Bakteriyel çeşitliliğin tespiti için Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR), Sanger dizilimi gibi moleküler teknikler sıklıkla kullanılmıştır (10). Yeni nesil dizileme tekniği gibi yüksek verimli teknolojilerin kullanıldığı moleküler yöntemler, tek bir çalışmada çok sayıda okuma yapılmasını sağlayarak diğer tekniklere kıyasla daha fazla örnekleme derinliği sağlar. Bu sayede ortamdaki tüm mikrobiyal komünitenin profili belirlenebilmektedir (11).

Literatürde yapılan çalışmalar diyabet ile periapikal lezyon arasında doğrudan bir ilişki olduğunu, diyabetli hastalarda diyabetli olmayan hastalara kıyasla periapikal lezyonların prevalansının daha fazla ve boyutlarının daha büyük olduğunu göstermiştir (12, 13). Ancak literatürde diyabetli hastalarda endodontik enfeksiyonlardaki mikrobiyal floranın incelendiği sınırlı sayıda çalışma vardır (14-18). Bu çalışmalarda sadece spesifik bakteri türlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle bu tez çalışmasında diyabetli hastaların birincil ve ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarındaki tüm mikrobiyal floranın yeni nesil dizileme yöntemi kullanarak tespit edilmesi amaçlandı. Bu tez çalışmasının iki sıfır hipotezi bulunmaktadır. İlki diyabet hastalarının birincil ve ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarının mikrobiyal komünitesi arasında fark olmadığı, ikincisi ise diyabetli ve diyabetli olmayan sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil veya ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında mikrobiyal komünite açısından fark olmadığı yönündedir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Oral Mikrobiyota

İnsan vücudunun çeşitli bölgelerinde, çok sayıda mikroorganizmanın özellikle de bakterilerin kompleks topluluklar ya da mikrobiyota oluşturduğu bilinmektedir. İnsan mikrobiyotasının yaklaşık 10^{14} bakteri hücresinden oluştuğu tahmin edilmektedir (19). Ağız boşluğu içerisinde yer alan mikroorganizmalar oral mikrobiyota olarak tanımlanmaktadır ve en kompleks mikrobiyotalardan biridir. Oral mikrobiyota içerisinde bakteriler, mantarlar, arkealar, virüsler ve protozoalar gibi yaklaşık 700 tür mikroorganizma bulundurmaktadır. Bu 700 tür mikroorganizmanın sadece % 54' ü isimlendirilebilmiştir (20).

İnsan Mikrobiyom Projesi (HMP), insan mikrobiyomundaki temel mikrobiyal ve fonksiyonel çeşitliliğin karakterizasyonu, mikrobiyomla ilişkili hastalık, çeşitlilik, biyocoğrafya ve moleküler fonksiyon çalışmalarını mümkün kılmıştır (21). Projenin hedefi veri tabanları oluşturarak mikrobiyomun bileşenlerini adlandırmak ve hastalıklara etkisini öngörebilmektir (22).

2.2. Kök Kanal Enfeksiyonları Tanımı ve Çeşitleri

Kök kanal enfeksiyonu kök kanalında bulunan mikroorganizmaların, toksinlerinin, enzimlerinin ve metabolik ürünlerinin kök dışına yayılması sonucunda sert doku rezorpsiyonu ve periodontal ligamentin yıkımı ile karakterize polimikrobiyal kökenli inflamatuvar enfeksiyöz bir hastalıktır. Kök kanal enfeksiyonları buldukları yerlere göre intraradiküler enfeksiyonlar ve ekstraradiküler enfeksiyonlar olarak ikiye ayrılmaktadır. İnteraradiküler enfeksiyonlar mikroorganizmaların kök kanalı içerisine giriş zamanına göre üç gruba ayrılmaktadır. Bu üç grup; birincil enfeksiyonlar, ikincil enfeksiyonlar ve ısrarcı enfeksiyonlardır. Birincil enfeksiyonlar, kök kanal sistemine kolonize olmuş ve nekroz pulpa dokusunda bulunan mikroorganizmalar tarafından oluşturulmaktadır. İkincil ve ısrarcı enfeksiyonlar genellikle tedavi sonrasında oluşan apikal periodontitisin ana nedenlerindedir. İkincil enfeksiyonlar; tedavi esnasında veya daha sonrasında kök kanalı içerisine giren mikroorganizmalar tarafından oluşmaktadır. İsrarcı enfeksiyonlara ise kök kanallarına uygulanan antimikrobiyal

tedaviye ve kök kanalı içerisindeki besin yokluğuna dirençli olan mikroorganizmalar neden olmaktadır.

Ekstraradiküler enfeksiyon; intraradiküler enfeksiyon ile ilişkili veya bağımsız olabilir. İlişkili ekstraradiküler enfeksiyonlar, intraradiküler enfeksiyondaki bakterilerin periradiküler bölgeyi istilası sonucu oluşan enfeksiyonlardır. Bağımsız ekstraradiküler enfeksiyonlar ise, artık intraradiküler enfeksiyon ile desteklenmeyen ve bu yüzden kök kanal tedavisi ile tedavi edilemeyen enfeksiyonlardır (23).

2.3. Kök Kanal Enfeksiyonuna Neden Mikroorganizmalar

Kök kanal enfeksiyonlarının patogeneğinde en baskın mikroorganizmalar bakterilerdir. Bununla birlikte mantar, virüs, arkea gibi diğer mikrobiyal türlerinde daha düşük prevalansta kök kanal enfeksiyonları ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (24).

2.3.1. Virüsler

Virüsler hücre yapısı göstermezler. Nükleik asitten (DNA veya RNA) oluşan bir çekirdek ve bunu çevreleyen kapsid (protein kılıf) den oluşur. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda apikal periodontitisli hastalardan alınan örneklerde Herpes virüsleri tespit edilmiştir (25, 26). Human Cytomegalovirus (HCMV), Epstein Barr virüsünün (EBV) apikal periodontitisin patogeneğinde etkili olabileceği hipotezi öne sürülmüştür (26).

2.3.2. Mantarlar

Mantarlar sağlıklı oral mikrobiyota içerisinde bulunan mikroorganizmalardır (27). Mantarlar, küf mantarı ve maya mantarı şeklinde iki formda bulunabilen ökaryotik mikroorganizmalardır. Mantarlar enfekte kök kanal sistemi içerisinde bulunmasına rağmen endodontik patojenler olarak rolleri tam olarak bilinmemektedir. *Candida albicans* endodontik enfeksiyonlarda en sık görülen mantar türüdür ve daha çok ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında bulunmaktadır

(28). Bu durumun kök kanal içine uygulanan ilaçlara karşı direnç göstermesi ve dentin tübüllerini istila etme kabiliyeti nedeniyle geliştiği düşünülmektedir (29, 30).

2.3.3. Arkealar

Arkea zor koşullarda bile yaşamını sürdürebilen, kaplıcalar, tuz gölleri ve volkanik habitatlar gibi farklı ortamlarda gelişebilen ilkel bir yaşam formunu temsil eden bir prokaryot grubudur (31).

Yapılan çalışmalarda kök kanallarının *Methanobrevibacter oralis* (*M.oralis*) tarafından enfekte olabileceği bulunmuştur. Bu arkea türü kök kanal sisteminde gözlemlenebilen ilk arkea grubudur (32). Cangül ve ark. (33) yaptıkları çalışma ile birincil kök kanal enfeksiyonlarında *Euryarchaeota* filumuna ait *M.oralis* ve *Thaumarchaeota* filumuna ait *Candidatus nitrosoarchaeum limnia* tespit etmişlerdir.

2.3.4. Bakteriler

Tipik olarak birkaç mikrometre uzunlukta çeşitli şekillere sahip prokaryot mikroorganizma grubudur. Yapılarında hücre duvarı ve ikili fosfolipit yapıda hücre zarı bulunmaktadır. Bulunan hücre duvarının yapısına ve boyanmasına göre gram negatif ve gram pozitif bakteriler olarak sınıflandırılmaktadır. Aynı zamanda bakterilerin oksijen gereksinimlerine göre aerob ve anaerob bakteriler olarak da sınıflaması yapılabilmektedir. Bakteriler mikroskopik morfolojik yapılarına göre ise koklar, çomaklar (basiller), spiroketler ve filamentler olarak sınıflandırılmaktadır.

Ağız boşluğu, ağız boşluğunun sağlığına ve fizyolojik yapısına olumlu etkisi olan 700' den fazla bakteri türünü ve filotipini içermektedir (34). Yapılan çalışmalarda bakteriler, apikal periodontitisin patogeneğinde yer alan birincil mikroorganizmalardır. Bir kök kanal sistemi içerisinde 10^3 - 10^8 sayıda bakteri bulunduğu rapor edilmiştir (35).

Hem birincil hem de ikincil apikal periodontitisin mikrobiyal komünitesi temel olarak anaerobik bakterilerle birlikte gram negatif, gram pozitif ve aerobik bakterileri de içermektedir (36).

2.4. Birincil Kök Kanal Enfeksiyonlarında Bulunan Bakteriler

Yapılan çalışmalar birincil kök kanal enfeksiyonlarındaki mikrobiyal ortamın, bakteri türlerinin bir karışımını içerdiğini ortaya çıkarmıştır. Özellikle gram negatif anaerobik bakteri türleri bu enfeksiyonla ilişkili bulunmuştur (37, 38). Birincil kök kanal enfeksiyonlarında baskın olarak *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* ve *Campylobacter* türleri karşımıza çıkmaktadır (39, 40).

2.4.1. Gram negatif bakteriler

Ağız boşluğunda normal florada 500'den fazla bakteri taksonu (41) bulunmasına rağmen kök kanal sisteminden küçük bir kısmı izole edilip kültüre edilebilmiştir. Gram negatif bakteriler, ağrı mediatörü olan bradikinin üretimini uyaran endotoksin içermektedir. Bu endotoksinin endodontik enfeksiyonlar sırasındaki akut alevlenmelerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (42).

Fusobacterium nucleatum, yapılan kültür (43) ve PCR (41) çalışmalarında endodontik enfeksiyonlarda en fazla bulunan gram negatif bakteri türü olduğu tespit edilmiştir. Siyah pigmentli gram negatif anaerobik bakteriler endodontik abselerde ve enfeksiyonlarda sık bulunmaktadır. Bulduklarında şişlik, perküsyon, palpasyon ve ağrı semptomları ortaya çıkabilmektedir (44, 45). Siyah pigmentli çomakların içinde sakkarolitik olan *Prevotella* grubu mikroorganizmalar yer almaktadır. *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *P. nigrescens* *Prevotella* grubu üyeleridir (46, 47). Yapılan çalışmalar ile *P.intermedia*'nın endodontik enfeksiyonlarda en fazla bulunan *Prevotella* cinsi olduğu tespit edilmiş olsa da yakın zamanda geliştirilen moleküler yöntemler ile *P.nigrescens*' in endodontik enfeksiyonlarda daha sık bulunduğu ortaya konmuştur (48). Asakkarolitik siyah pigmentli çomaklardan *Porphyromonas* türleri oksijene karşı hassas oldukları için kültüre edilmeleri zor olsa da *Porphyromonas endodontalis* ve *Porphyromonas gingivalis* endodontik enfeksiyonlarda tespit edilmişlerdir (49).

Spiroket grubu bakterilerin endodontik enfeksiyonlarda var olduğu Miller (50) tarafından ortaya konmuştur. Nekrotik kök kanalları ve akut apikal abselerle ilişkisi

yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (51). Oral spiroketler arasında dokuz tür kültüre edilmiş olsa da dört tür daha güvenilir şekilde kültüre edilebilmiştir: *T. denticola*, *T. pectinovorum*, *T. socranskii* ve *T. Vincentii* (52). Polimikrobiyal kırmızı kompleksin bir parçası olan *T. denticola* endodontik enfeksiyonlarda en fazla bulunan türdür (53).

2.4.2. Gram pozitif bakteriler

Gram pozitif bakteriler, birincil enfeksiyonlarda sık tespit edilen mikroorganizmalardandır (36). Yapılan çalışmalarda *Peptostreptococcus micros*'un, endodontik enfeksiyonlarla (54) ve periodontal abselerle (55) ilişkili olduğu ortaya konmuştur. *Filifactor alocis*, *Actinomyces*, *Propionibacterium propionicum* türleri de endodontik enfeksiyonlarda tespit edilmiştir (56, 57).

2.5. İkincil/İsrarcı Kök Kanal Enfeksiyonlarında Bulunan Bakteriler

Birincil ve ikincil enfeksiyonlardaki kök kanal mikrobiyotası farklılık göstermektedir. Başarısız endodontik tedavi sonrası kanallarda fakültatif anaerobik ve gram pozitif bakteriler daha çok görülmektedir (4).

Yapılan kültür ve mikrobiyolojik çalışmalarda (58-60), kök kanal tedavisi sonrasında ve kanal tedavisi yenileme işlemleri sonrasında 51 bakteri türü tespit edilmiştir. *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium propionicum*, *Actinomyces odontolyticus*, *Prevotella intermedia*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum* tespit edilen bakteri türleri arasında yer almaktadır.

Enterococcus faecalis (*E.faecalis*), birincil kök kanal enfeksiyonlarında görülmemesine (61) rağmen ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında en fazla tespit edilen türdür (62, 63). *E.faecalis* zorlu ortam koşullarında varlığını sürdürebilmektedir. Bu *E.faecalis*'in dentin tübüllerine penetre olabilmesi ve kollajene bağlanma kapasitesini devam ettirme becerisiyle alakalı olabileceği düşünülmektedir (64). Yapılan çalışmalarda *E.faecalis*'in kemomekanik tedavi uygulamalarından sonraki seanslarda kök kanallarında daha sık bulunduğu gösterilmiştir. Kök kanal tedavisi yenileme işlemi sırasında kanal içi ilaç olarak uygulanan kalsiyum hidroksit sonrası, dokuz kanalın beşinde *E.faecalis*'in varlığını sürdürmeye devam ettiği rapor edilmiştir (65).

Streptococcus türleri, endodontik tedavilerden hemen sonra alınan örneklerde (66) ve kök kanal tedavisi yenileme işlemi yapılan dişlerden alınan örneklerde (65) sıklıkla izole edilmiştir. Bu sonuç ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında sık bulunan bir bakteri türü olduğunu düşündürmektedir.

Dialister türleri, *Fusobacterium*, *Filifactor*, *Parvimonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium* ve *Pyramidobacter* ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında bulunan diğer bakteri türlerindedir (4, 62, 67).

2.6. Apikal Periodontitis

Apikal periodontitis, kök kanal sisteminin neden olduğu mikrobiyal faktörler ile konakçının immün sisteminin tepkisi sonucu oluşan periradiküler inflamatuvar bir durumdur. Enfekte kök pulpası ile periodontal ligament arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkar. Bu etkileşim, bölgesel enflamasyon, sert dokuların rezorpsiyonu ve devamında periapikal lezyonlar olarak adlandırılan apikal periodontitisin çeşitli histopatolojik kategorilerinin oluşmasıyla sonuçlanır (68). Apikal periodontitis en sık görülen oral inflamatuvar hastalıklar arasında yer almaktadır ve sıklıkla endodontik orijinlidir (24). İlk aşamada pulpa çürük, periodontal hastalık, travma veya iyatrojenik sebeplerle enfekte olarak canlılığını kaybeder (69). Enfekte hale gelen kök kanal sisteminde bulunan polimikrobiyal topluluk ve/veya onların virülans faktörleri apikal ve/veya lateral kanallar aracılığıyla periapikse doğru ilerler. Periapikal bölgedeki enflamasyon ve doku hasarı sonucu apikal periodontitis meydana gelir (24).

2.6.1. Apikal periodontitis sınıflaması

Apikal periodontitis (AP), kök ucundaki radyolüsent bölgenin varlığı/yokluğu ve bununla beraber asemptomatik/semptomatik olarak değişik klinik durumlarla ortaya çıkabilmektedir. Aynı zamanda AP; Birincil apikal periodontitis (BAP), İkincil/kalıcı apikal periodontitis (IAP) olmak üzere alt sınıflara ayrılır. BAP daha önce tedavi edilmemiş canlılığını kaybetmiş kök kanalları ile ilişkilidir. IAP ise başarısız şekilde tedavi edilen kök kanallarının ardından oluşan kök kanal enfeksiyonudur (70).

Nair 1977'de apikal periodontitis kavramını klinik formlarına göre akut/kronik apikal periodontitis olarak da sınıflandırmıştır (71).

2.6.1.1. Akut apikal periodontitis

Akut apikal periodontitis (AAP), kök kanalları içerisinde bulunan mikroorganizmalar nedeniyle ya da periapikal dokuları etkileyecek bir yaralanma sonucu ortaya çıkmaktadır. AAP'de klinik olarak ağrı, dişte yükselme ve diş üzerine baskıya karşı hassasiyet gibi semptomlar görülmektedir. Histopatolojisinde immün sistemin ilk yanıtında görev alan nötrofil ve makrofajlar büyük rol oynamaktadır (68). Radyografik olarak periodontal ligament boşluğu ve lamina dura normal izlenmekle beraber lamina durada hafif bir aralanma ve periodontal ligament boşluğunda hafif bir kalınlaşma görülebilmektedir.

2.6.1.2. Kronik apikal periodontitis

Kök kanal sisteminde iritanların bulunmaya devam etmesi ile başlangıçtaki akut enflamasyon zamanla kronik hale gelmektedir. Klinik açıdan bu durum genellikle radyografide asemptomatik bir radyolüseni olarak görülmektedir. Kronik apikal periodontitis (KAP) de mikroorganizmalar kök kanal sistemi içerisinde stabil kalır ve konak yanıtı ile bir denge halinde bulunur. Bu kronik durum uzun bir süre denge halinde kalabildiği gibi tekrar akut hale gelebilmektedir (72). Histopatolojisinde baskın olarak makrofajlar, plazma hücreleri ve lenfositler rol alsa da mast hücreleri ve polimorfonükleer lökositler de bulunabilmektedir (73). Sıklıkla rutin radyografik incelemelerde tespit edilen kronik apikal periodontitis, enfeksiyonun süresine ve yıkımın şiddetine bağlı olarak periapikal bölgede değişik boyutlardaki radyolüseniler olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.7. Apikal Periodontitis ve Biyofilm

Biyofilm, bir yüzeye tutunan ve yapışkan bir katman oluşturan polisakkarit ve proteinlerden meydana gelen bir matris içerisine gömülmüş mikroorganizma topluluğudur (74). Biyofilmin %85'i proteinler, polisakkaritler ve nükleik asitlerden %15'i ise hücrelerden oluşmaktadır (75). Oral bakteriler, sert dokulardan yumuşak dokulara kadar çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir. Biyofilmin spesifik örneği diş plağıdır (76). Biyofilmin birincil ve ikincil apikal periodontitis ile ilişkisi ilk kez Ricucci ve Siqueira tarafından bildirilmiştir (77). Yaptıkları araştırmada biyofilmin sıklıkla birincil veya tedavi sonrası gelişen apikal periodontitisli dişlerin %80' inde kökün apikal kısmında ve genellikle de apikal dallanmalar, lateral kanallar ve isthmusların yüzeylerinde bulunduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda büyük periapikal radyolüsen siye sahip dişlerin kök kanallarında bakteriyel biyofilmlerin daha fazla bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Endodontik tedaviye dirençli asemptomatik periapikal lezyonlarda *Actinomyces* cinsi ve *Propionobacterium propionicum* türlerinin ya biyofilm benzeri yapılar şeklinde apikal kök yüzeyine yapışarak ya da genellikle kohezif koloniler halinde yerleşmesinden dolayı enfekte lezyonun içerisinde bulunduğunu bildirmişlerdir (78).

2.8. Sistemik Hastalıklar ve Apikal Periodontitis Arasındaki İlişki

İlk olarak Miller (79), oral mikroorganizmaların, mikroorganizmaların yan ürünlerinin vücutta çeşitli bölgelere ulaşabileceğini ortaya atarak oral ve sistemik hastalıklar arasında bir ilişki bulunduğunu ortaya koymuştur. Güncel literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır (80-83). Hayvan modellerinde ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucu apikal periodontitis ile diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler rahatsızlıklar arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur (84). Bunun nedeni bakteriyemi riskinin yükselmesi (85, 86), çözünebilir mikrobiyal bileşenlerin, aktif inflamatuvar mediatörlerin ve hemostatik faktörlerin kök kanalından sistemik dolaşıma taşınmasıyla birlikte doku ve organları etkileyen düşük dereceli sistemik enflamasyonun gelişmesidir (87, 88).

Cintra ve ark. (89) sıçan modelini kullanarak yaptığı çalışmada AP varlığının interlökin (IL)-6, IL-17, IL-23 ve TNF- α gibi sitokinlerin salınımını arttırdığını gözlemlemiştir. Samuel ve ark. (90) ise AP varlığında lökosit, lenfosit, ve TNF- α salınımlarında artış, IL-4 seviyesinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Zhang ve ark. (91) ise AP'nin sıçan kan serum seviyesinde proinflamatuvar sitokinler olan IL-2, IL-6 ve C-reaktif protein (CRP) değerlerini yükselterek aortik ark, miyokard, dalak ve karaciğerde değişikliklere neden olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda AP'nin sistemik bir cevabı indükleyebileceği, hastaların genel durumuna etki edebileceği ve sistemik hastalıklar ile ilişkisi olabileceği kanaatine varmışlardır (91).

2.8.1. Kardiyovasküler hastalıklar ve endodontik enfeksiyon

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), başlıca serebrovasküler ve iskemik kalp rahatsızlığı, tüm dünyada ölüm ve sakatlığın ana sebepleridir (92). Bu sebeple KVH ile ilişkili risk faktörleri ayrıntılı bir biçimde incelenmelidir.

Literatürde AP ile kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (93, 94). Caplan ve ark. (95) endodontik kaynaklı radyografik olarak belirgin periapikal lezyonların koroner kalp hastalığı (KKH) gelişimi ile ilişkili olup olmadığı değerlendirildikleri çalışmalarında özellikle genç erkeklerde (<40 yaş) AP ile KKH arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçlarıyla benzer şekilde An ve ark. (96) AP ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında AP'li bireylerde KVH görülme olasılığının AP'siz bireylere göre 5,3 kat daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir.

Hipertansiyon sistolik kan basınç değerinin 140 mmHg'den, diyastolik kan basınç değerinin 90 mmHg'den yüksek olması veya bu iki değer birden yüksek olması sonucu ortaya çıkar (97). Hipertansiyon inflamatuvar rahatsızlık olarak değerlendirilmektedir. Hipertansiyon sonucunda proinflamatuvar sitokinler olan TNF-a ve IL-6 seviyeleri artarken antiinflamatuvar sitokinlerden IL-10 seviyesi azalmaktadır (98). Hipertansiyonlu hastalarda anjiyotensin-II osteoklastların aktivitesini arttırarak kemik rezorpsiyonunu uyarır ve apikal periodontitis gelişimini arttırabilir.

Yapılan çalışmalarda apikal periodontitisin inflamatuvar mediatörleri ile aterosklerozla ilgili olan mediatörler arasında benzerlik olduğu bulunmuştur. Georgiou ve ark. apikal periodontitisin CRP, IL-6, ADMA ve kompleman-C3 düzeylerini artırabileceğini rapor etmişlerdir (99).

2.8.2. Otoimmün bozukluklar

Otoimmün bozukluklar, farklı inflamatuvar mediatörleri içeren kendiliğinden reaktif bir immün cevap oluşturan hastalık grubudur (100). Crohn hastalığı, Romatoid Artrit, Sedef hastalığı otoimmün hastalıklara örnektir. Otoimmün hastalıklarda TNF- α , IL-1, IL-6, IL-23 ve IL-17 gibi inflamatuvar sitokinlerin artması ile apikal periodontitis gelişimini hızlandırdığı bildirilmektedir (101, 102). Aynı zamanda yapılan çalışmalar bu hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların bağışıklık yanıtını değiştirerek apikal periodontitis görülme sıklığını arttırdığını destekler niteliktedir (103, 104).

2.8.3. Kalıtsal pıhtılaşma bozuklukları

Pıhtılaşma bozuklukları olan hemofili A, hemofili B ve Von Willebrand hastalığı Castellanos-Cosano ve ark. yaptığı çalışmada kalıtsal pıhtılaşma bozukluğu olan hastalarda periapikal bölgedeki onarım süreçlerinin olumsuz etkilenmesinden dolayı kalıtsal pıhtılaşma bozukluğu ve AP arasında anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur (105).

2.8.4. Osteoporoz

Osteoporoz, östrojen eksikliğine bağlı olarak görülen metabolik kemik bozukluğudur. Osteoporozla ilgili olarak alveoler kemik yoğunluğunda ve alveoler kret seviyesinde azalma, diş kayıpları gözlemlenmektedir (106).

Östrojen eksikliği sonucu RANKL ve NLRP3/kaspaz-1/IL-1 β ekseni salınımının artması periapikal kemik rezorpsiyonuna yol açmaktadır. Bu durum periapikal lezyonun gelişiminde anahtar rol almaktadır (107, 108).

2.9. Diyabet ile Apikal Periodontitis Arasındaki İlişki

Uluslararası Diyabet Federasyonu, 2015 yılında dünyada 415 milyon diyabet hastalığına sahip insanın bulunduğunu, yaşayan her 11 insandan birinin diyabet hastalığına sahip olduğunu bildirmiştir (109).

Diabetes Mellitus (DM) oral enfeksiyonlarla ilişkili olan, toplumda sık görülen sistemik hastalıkların başında gelmektedir. Hastalarda diyabet nedeniyle çeşitli oral semptomlar görülmektedir. Bu semptomların arasında diş çürükleri, oral kandida, ağız kuruluğu, gingivitis-periodontitis, yara iyileşmesinde gecikme, yanan ağız sendromu, oral liken planus yer almaktadır (110).

2.10. Diyabet Tanımı

Diaabetes Mellitus, insülin salınımı ve/veya dokularda insüline karşı gelişen 'insülin direnci' veya her ikisinin birlikte olduğu durumlarda ortaya çıkar. DM birden fazla organ ve sistemi etkileyerek hiperglisemiyle birlikte bulunan metabolik rahatsızlıktır. Bu hiperglisemi ile birlikte karbonhidrat, lipit ve protein metabolizması bozulmaktadır (111).

2.11. Diyabetin Sınıflaması

Amerikan Diyabet Derneği (ADA), 1997 yılında diyabet tanımlama rehberini yayınlamış ve sonrasında 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu rehberi ufak değişiklikler ile onaylamıştır. 1999 yılında WHO yayınladığı rapor ile diyabet sınıflamasını tip 1 diyabet ya da tip 2 diyabet olacak şekilde sınıflandırmıştır. 2010 yılı itibariyle HbA1c değerinin DM' de tanı kriteri olması gerektiği kabul edilmiştir (111).

ADA'nın yaptığı sınıflama ile diyabet sınıflamasında dört klinik tip bulunmaktadır. Bu dört klinik tip ise primer ve sekonder diyabet olarak sınıflandırılmaktadır. Tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve gestasyonel diyabet primer diyabet iken spesifik diyabet tipleri ise sekonder diyabet olarak kabul edilmektedir. Spesifik diyabet tiplerinin içerisinde beta hücre fonksiyonlarının genetik defekti, insülinin

etkisindeki genetik defektler, endokrinopatiler, diyabetle ilişkili genetik sendromlar yer almaktadır (111).

2.11.1. Tip 1 diyabet

Önceki sınıflandırmalarda 'insülin bağımlı Diabetes Mellitus' olarak isimlendirilen tip 1 diyabette insülin eksikliği mevcuttur. Tüm diyabet hastalarının yaklaşık %5-10'luk kısmını oluşturmaktadır. Tip 1 diyabet otoimmün ve non-otoimmün diyabet olarak ikiye ayrılrsa da bu ayrım terminolojide artık kullanılmamaktadır. Tip 1 diyabette pankreatik adacık hücrelerindeki β -hücrelerinin yıkımına karşı otoimmünite tetiklenir. Bu yıkımın etkisiyle pankreatik adacık hücrelerine karşı otoantikör yanıtı oluşur (111).

Tip 1 diyabet özellikleri

- Genellikle 30 yaşından önceki hastalarda görülmektedir. (Özellikle 15 yaşından önce tanı konulmaktadır.)
- Hiperglisemi ile ilişkili semptomlar erkenden ve aniden ortaya çıkar.
- Bu hastalığa bazı otoimmün rahatsızlıklar eşlik edebilir. (Hashimoto tiroiditi, Graves hastalığı, gluten enteropatisi (Çölyak hastalığı), Addison hastalığı gibi)
- Ketoasidoza yatkınlıkları daha fazladır.

2.11.2. Tip 2 diyabet

Diyabet hastalarının %90-95'ini oluşturan tip 2 diyabet hastaları için eski terminolojide 'insülin bağımlı olmayan Diabetes Mellitus' terimi artık tercih edilmemektedir. Bu hastalık insülin direnci, insülin salınımda azalma veya inkretin hormon yetersizliği sonucu ortaya çıkmaktadır (111).

Tip 2 diyabet özellikleri

- Genellikle 30'lu yaşlardan sonra ortaya çıkmaktadır.
- Genetik etki görülmektedir.
- Hastalar genellikle obez veya aşırı kiloludur.
- Ketoasidoz bu diyabet tipinde görülmemektedir.

2.11.3. Gestasyonel diyabet

Gebeliğin ilerleyen haftalarında kortizol ve östrojen düzeylerinin yükselmesiyle ortaya çıkan insülin direnci sonucu oluşan diyabet türüdür. Doğumla beraber düzelse de diğer gebeliklerde yeniden gelişebilmektedir (111).

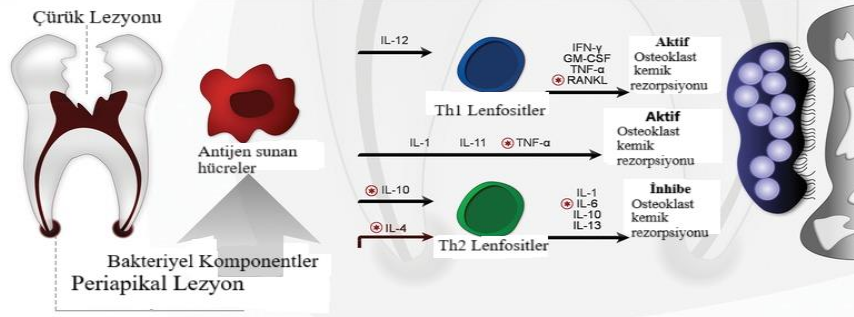
Diyabetin pulpa üzerinde direkt etkisinin olduğu rapor edilmiştir. Hiperglisemi ile bozulmuş kollateral dolaşım pulpada nekroz gelişimine yol açmaktadır (112). (Şekil 1)



Şekil 1. Diyabetin hiperglisemi ile hücre hasarına ve vasküler değişikliklere neden olduğu şematik görüntü (113)

Hiperglisemi makrofaj sistemini inhibe ederek, konak hücre cevabını ve yara iyileşmesini bozmaktadır (114). Gerçekleşen vasküler değişiklikler sonucunda hücrelerin dolaşım vasıtasıyla lezyona ulaşamaması nedeniyle oksijen eksikliği ve hücre savunma sisteminde azalma meydana gelmektedir. Oksijen eksikliği enfeksiyonlardaki anaerobik bakteri sayısını arttırmaktadır (115). Pulpa mikroorganizmaları periradiküler bölgeye ulaştığında immün-inflamatuar cevap polimorfonükleer nötrofiller ve epitelyal bariyerler ile başlar. Bu eksüdatlar, mikroorganizmaları yok etmeyi hedefleyen önemli miktarda immünokompetan hücre sunar. Bu immünokompetan hücreler arasında lökositler, makrofajlar, CD4+ lenfosit, CD8+ lenfosit, mast hücreleri, eozinofiller yer almaktadır (116, 117). Sitokinler, kemik yenilenme sürecinde ve periapikal inflammatuar cevapta önemli rol oynamaktadır (116). İnflamatuar cevapta yüksek glukoz seviyeleri IL-4 ve osteoprotegerinde (OPG) azalma (118) ve IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ve nükleer faktör kappa B ligandının reseptör aktivatöründe (RANKL) artış ile bağdaştırılabilir. Bu zıt etkileşim,

hipergliseminin enfeksiyöz koşullar altında kemik yenilenme sürecindeki etkisini açıklar (119, 120).



Şekil 2. Diyabetin osteoklastogeneziste rol oynayan bakteriyel componentler ve sitokinler üzerindeki etkilerinin temsili şekli (113)

Diyabetli hastalarda, ileri glikasyon son ürünleri (AGE) tarafından indüklenen periodontal ligament (PDL) fibroblastları apoptozu ve kollajen yapımının inhibisyonunu uyararak periodontal yıkımı arttırmaktadır (121).

Yapılan çalışmalar, kontrolsüz DM vakalarında periapikal radyolüensilerin gelişme eğiliminde olduğunu (13) ve DM'li hastalarda pulpal veya periodontal enfeksiyonların daha sık görüldüğünü göstermiştir (122). Fouad ve Burleson (123) tedavi öncesi periradiküler lezyona sahip olan diyabetli hastaların endodontik tedavisinin başarı şansının daha düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Segura-Egea ve ark. (124) tip 2 diyabet hastalarında AP görülme sıklığını daha fazla tespit etmişlerdir.

Diyabet hastalığının oral mikrobiyotadaki bakteri miktarını ve çeşitliliğini yükselttiği bilinmektedir. Diyabet hastalarında gram pozitif bakteriler gram negatif bakterilere göre daha fazla tespit edilmiştir (125). Literatürde diyabet hastalarının kök kanal enfeksiyonlarındaki mikroorganizmaların araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (14, 16, 17). Yapılan bu çalışmalar ile *Fusebacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus*, *Eubacterium* ve *Candida albicans* türlerinin diyabetli hastaların kök kanal enfeksiyonlarında tespit edildiği bildirilmiştir.

2.12. Kök Kanallarındaki Mikroorganizmaların Tespit Yöntemi

2.12.1. Kültür yöntemi

Kültür yöntemi endodontik mikrobiyolojik çalışmalarda uzun yıllar kullanılmıştır. Bakterilerin kültür yönteminde başarılı bir şekilde yetiştirilmesi için tüm süreç içerisinde canlı kalması sağlanmalıdır. Bu yöntemin aşamaları bakteri örneklerinin laboratuvara taşınması ile başlar. Laboratuvara taşınma ortamı örneklerin canlılığını devam ettiren, anaerobik ve yeni bakteri türlerinin üremesine izin vermeyen bir ortam olmalıdır. Laboratuvara taşınan örneklerin aerobik ve mikroaerofilik şartlarda inkübasyonu gerçekleştirilmelidir. İnkübasyonun ardından koloniler izole edilir ve koloniler bir dizi test (hücrel morfoloji, gram boyama modeli, oksijen toleransı, biyokimyasal karakterizasyon, metabolik son ürün analizi, dış hücrel membran protein profili ve duyarlılık testleri) ile tanımlanır (126).

Kültür çalışmaları, apikal periodontitis enfeksiyöz etiyolojisinin ve kültüre edilebilen baskın bakteri tiplerinin tespit edilmesine büyük ölçüde fayda sağlamıştır. Bununla birlikte, kültür çalışmaları nicelik bildirmemekte, büyük bir kısmı sadece türlerin yaygınlığını (her bir türün varlığı açısından pozitif olan olguların oranı) ölçmektedir. Kültür yöntemi ile en baskın türler yetiştirilmekte ve tespit edilmektedir. Kültür yönteminin düşük duyarlılığı, yetiştirilmesi zor/imkansız bakteri çeşitlerinin tespit edilememesi bu yöntemin dezavantajları ve sınırlamalarıdır (127).

2.12.2. Moleküler mikrobiyolojik yöntemler

Son 20 yılda endodontik mikrobiyoloji çalışmalarında, moleküler yöntemlerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Yapılan çalışmalarla sıklıkla birincil apikal periodontitis, endodontik-periodontal hastalık, tedavi sonrası apikal periodontitis gibi çeşitli klinik durumlar değerlendirilmiştir.

Moleküler mikrobiyolojik yöntemler ile yapılan çalışmalar kültür yönteminin sonuçlarının büyük bir kısmını doğrulamış, bu konudaki bilgileri genişletmiş ve geliştirmiştir. Kültüre edilen bakteri türleri ile apikal periodontitis ilişkisi

doğrulanmıştır. Henüz kültüre edilmemiş türler de dahil olacak şekilde yeni aday endodontik patojenler ortaya konmuştur (2).

İnsan Oral Mikrobiyomu Veri Tabanı (HOMD) şimdiye kadar kültüre edilememiş ve tanımlanamamış 200' den fazla bakteri filotipi bildirmektedir. Bu 200' den fazla filotip insan oral takson listelerinin (<http://www.homd.org/>) yaklaşık %30'una denk gelmektedir (20). Henüz kültüre edilemeyen taksonlar, kültüre edilebilen türlerine göre daha az patojenik sayılmazlar ve apikal periodontitis ile bağlantılı oldukları için tedaviye duyarlılıkları ve prognozdaki rolleri hakkında yapılan çalışmalar kültüre edilemeyen türlerin oranını da hesaba katmalıdır (2, 128).

Paster ve Dewhirst moleküler mikrobiyolojik analiz yöntemlerini 3 gruba ayırmıştır (129).

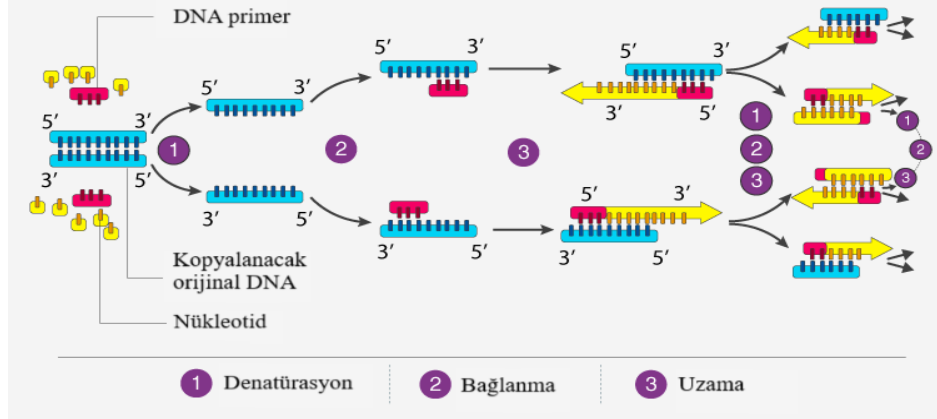
1. Polimeraz Zincir Reaksiyon Tabanlı Metotlar: Multipleks (Çoklu) PCR, Nested PCR, Reverstrankriptaz PCR, Real time (Gerçek Zamanlı) PCR, Geniş Spektrumlu PCR
2. DNA-DNA Hibridizasyonu: Floresans in situ hibridizasyon (FISH), Checkerboard DNA-DNA hibridizasyon, DNA Mikroçip
3. Gen Sekanslama: Sanger Dizileme, Yeni Nesil Dizileme

2.12.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı metotlar

Bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitler ve protozoa gibi mikroorganizmaların, primer olarak adlandırılan spesifik komplementer oligonükleotidler ve polimeraz enzimleri ile hedef nükleik asit dizilerinin *in vitro* çoğaltılması için uygulanan moleküler mikrobiyolojik tanı yöntemidir (130). Bu yöntem 30-35 kez tekrar eden denatürasyon, bağlanma ve uzama döngülerinden oluşur.

İlk döngü olan denatürasyonda çift sarmal halde bulunan DNA 90-95°C' de 30-35 sn bekletilerek tek sarmal haline gelmektedir. Bağlanma döngüsünde tek iplikçik yapıdaki DNA dizilerinin 50-65°C' de 3' uçlarındaki bölgelere primerlerin bağlanmasını sağlar. Uzama döngüsünde ise 72°C' de 30-55 sn boyunca tek iplikçik yapıdaki DNA' ya bağlanan primerlerin 5'-3' yönünde uzaması gerçekleşir. Tüm döngüler bittikten sonra milyonlarca DNA kopyası ortaya çıkmaktadır (131).

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)



Şekil 3. PCR tekniğinin aşamaları (<https://byjus.com/biology/pcr/>'dan uyarlanmıştır.)

Çoğaltılmış PCR ürünleri, agaroz jelin içerisinde transillüminasyon ve elektroforezi takiben gözlenir. DNA'nın isimlendirilmesi ve ayrıştırılması için tercih edilen temel teknik olan agaroz jel elektroforezi ile diğer tekniklerle ayrıştırılması mümkün olmayan DNA molekülleri ayrıştırılabilmektedir.

PCR tekniği değişik şekillerde uygulanabilmektedir. Single Targeted PCR, tek bir türe mahsus hedef bakteri türlerini belirlemek için kullanılan en basit yollardan biridir.

Multipleks PCR ile eş zamanlı olarak birden fazla tür belirlenebilir. Her türe spesifik olacak biçimde oluşturulan primerler ile 16S rRNA gen dizisi kullanılarak neredeyse tüm bakteri türleri tanımlanabilmektedir.

Nested PCR yönteminde artan duyarlılık ve özgüllük ile iki aşamalı PCR protokolü tamamlandığında hedef gen bölgesi yüksek kopya sayılarında elde edilmiş olur. Birinci ve ikinci aşamalarda kullanılan primerler aynı olmadığı için istenmeyen amplifikasyonlar göz ardı edilir ve bu yöntemin özgüllüğü sağlanmış olur (132, 133).

Reverse transkriptaz-PCR (RT-PCR) yöntemi, ters transkriptaz enzimi aracılığıyla RNA'dan tamamlayıcı DNA (cDNA) elde edilmesini ve ardından standart PCR yoluyla cDNA'nın amplifikasyonunu gerçekleştirir, RNA ekspresyon düzeylerinin sayısal biçimde belirlenmesini sağlar. Bu yöntem daha çok bakteriyel

canlılığın tespiti için kullanılmıştır ve endodontik kaynaklı bakteriyel analizlerde başarılı sonuçlar ortaya koymuştur (133, 134). Buna rağmen rRNA tabanlı RT-PCR analizler DNA tabanlı PCR analizlere göre çok daha hassastır (135).

Gerçek zamanlı PCR yöntemi, her amplifikasyon döngüsü ile aynı anda floresan sinyal tayini yapar ve spesifik ampikon sayısını belirler (136, 137). Yüksek duyarlılık ve özgüllük gösteren bu testler aynı zamanda kısa sürede ve tekrarlayabilen sonuçlar vermektedir (136, 138). Bununla birlikte bu işlemin kapalı tüpler ile gerçekleşmesi ve amplifikasyon sonrasında tespit edilmesine ihtiyaç duyulmaması nedeniyle kontaminasyon riski azalmıştır (137).

Asimetrik PCR yöntemi, eşit olmayan primerleri kullanarak hedef DNA molekülünün sadece tek bir ipliğini çoğaltmak için kullanılır. Düşük yoğunluğa sahip primerler sentez reaksiyonuna katılır ancak bir süre sonra tükenir. Bu durumu takiben yüksek yoğunluklu primerler hedef DNA kısmını "diğer primerin kısıtlayıcı etkisinden bağımsız olarak" DNA bölgesini sentezlemeye devam eder (139). Standardizasyonu zor bir yöntem olmasıyla birlikte reaksiyon etkinliği de daha azdır. Bu dezavantajları dolayısıyla günümüzde sık tercih edilen bir yöntem değildir (140).

2.12.2.2. DNA-DNA hibridizasyon metotları

Bu metotlar endodontik enfeksiyonlarda bakteriyel tanımlama için sıkça tercih edilmiştir (141). Hibridizasyon aşaması 3 ana basamakta meydana gelir. Birinci basamak, spesifik olmayan bağlanmayı minimuma indirmek için hibridize edilecek membranın engellenmesini içerir. Ardından prob hedef DNA ile bir araya gelir. Son aşamada hibridize edilmeyen problemler yıkanır ve görüntülenir. Bu yöntem ile örneklerde aynı anda yüzlerce bakteri taksonu saptanabilmektedir (141).

Floresans in-situ hibridizasyon (FISH), dental plak gibi kompleks ortamlardaki bakteri hücrelerinin morfolojilerini tespit etmek, konfigürasyonlarını belirlemek için uygulanmaktadır (142). Bu yöntem floresan ile işaretlenen rRNA hedefli oligonükleotidlerin hücrelere hibridizasyonu ve ardından floresan veya konfokal floresan mikroskopu kullanılarak tespit edilmesine dayanmaktadır (143).

Checkerboard DNA-DNA hibridizasyon yönteminde, problemler DNA moleküllerinden veya oligonükleotitlerden meydana gelmektedir. Geleneksel checkerboard yönteminde genomik DNA molekülleri kullanılırken (144) reverse-capture checkerboard yönteminde 16S rRNA oligonükleotid molekülleri (145) kullanılmaktadır.

2.13. Gen Sekanslama (Dizileme) Yöntemi

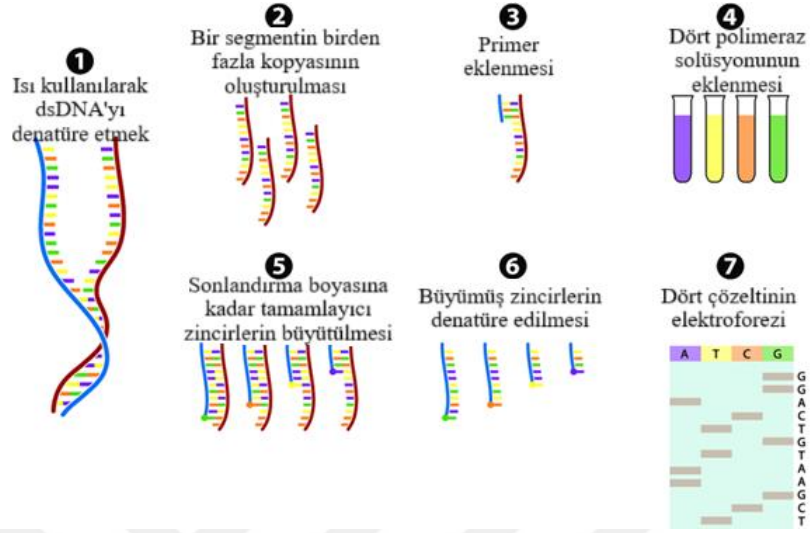
Gen sekanslama yöntemleri, DNA primerlerinin ve nükleotid baz dizilimlerinin tespit edilmesi için kullanılan, bir nükleik asit diziliminin başka bir dizilime hibridizasyonuna dayalı bir yöntemdir (146). Gen sekanslama yöntemi 3 nesile ayrılmaktadır.

1. Birinci nesil DNA dizileme yöntemi: Sanger dizileme
2. İkinci nesil DNA dizileme yöntemleri: SOLID, Illumina, Ion Torrent, 454 pirosekanslama
3. Üçüncü nesil DNA dizileme yöntemleri: PacBio, Heliscope

2.13.1. Birinci nesil DNA dizileme yöntemi

1977’de DNA dizilemesi için kullanılmaya başlanan ilk kurucu yöntemdir. Bu yöntemde 3'-OH grubu bulunmayan spesifik zincir sonlandırıcı nükleotitlerden (dideoksi nükleotidler) faydalanılmaktadır. Bu nedenle, DNA polimeraz enzimi tarafından fosfodiester bağı oluşturulamaz ve bu durum uzayan DNA zincirinin büyümesinin durmasına neden olur. Elde edilen parçalar sonrasında poliakrilamid jel elektroforezi ile analiz edilmektedir (147). Sanger dizileme olarak da bilinen bu yöntem, “birinci nesil” dizileme teknolojisinin temelini oluşturmuştur. Sanger dizileme ile; floresan boyalar geliştirildi, gereken başlangıç DNA'sının miktarını azaltmak ve sonlandırıcı boyaları uzayan DNA ipliklerine düzgün bir biçimde eklemek için termostabil polimerazlar kullanılmaya başlandı ve dizileri incelemek için yazılımlar geliştirildi (148). Sanger dizilemesinin temel kısıtlılıklarından biri, elektroforez şeridi veya kapiller tüp başına sadece tek bir dizi reaksiyonunun analiz

edilebilmesidir. Bu nedenle biyolojik bir numuneden alınan DNA'nın ayrı şablon fragmanlarına bölünmesi gerekmektedir (19).



Şekil 4. Sanger Dizileme Şematik görünümü (<https://letgenbio.com/sanger-sekanslama> uyarlanmıştır.)

2.13.2. İkinci nesil DNA dizileme yöntemleri

“Yeni nesil” terimi, DNA dizileme teknolojisinin gelişiminde bir ileri adımı işaret etmektedir. Yeni nesil dizileme (YND), bir pirosekanslama platformu aracılığıyla yüksek verimli genomik analiz için geliştirilen en son teknolojidir (149). Yeni nesil dizileme çalışmaları ile 1200’den fazla bakteri filotipi ortaya çıkmıştır. YND teknolojisi, Sanger dizilemesinde uygulanan bakteriyel klonlama basamağını ortadan kaldırmaktadır. İzole DNA moleküllerini çoğaltır ve bunları paralel biçimde analiz eder.

İkinci nesil DNA dizileme yöntemleri; hibridizasyonla dizileme ve sentez yoluyla dizileme yöntemleri olarak ikiye ayrılmaktadır.

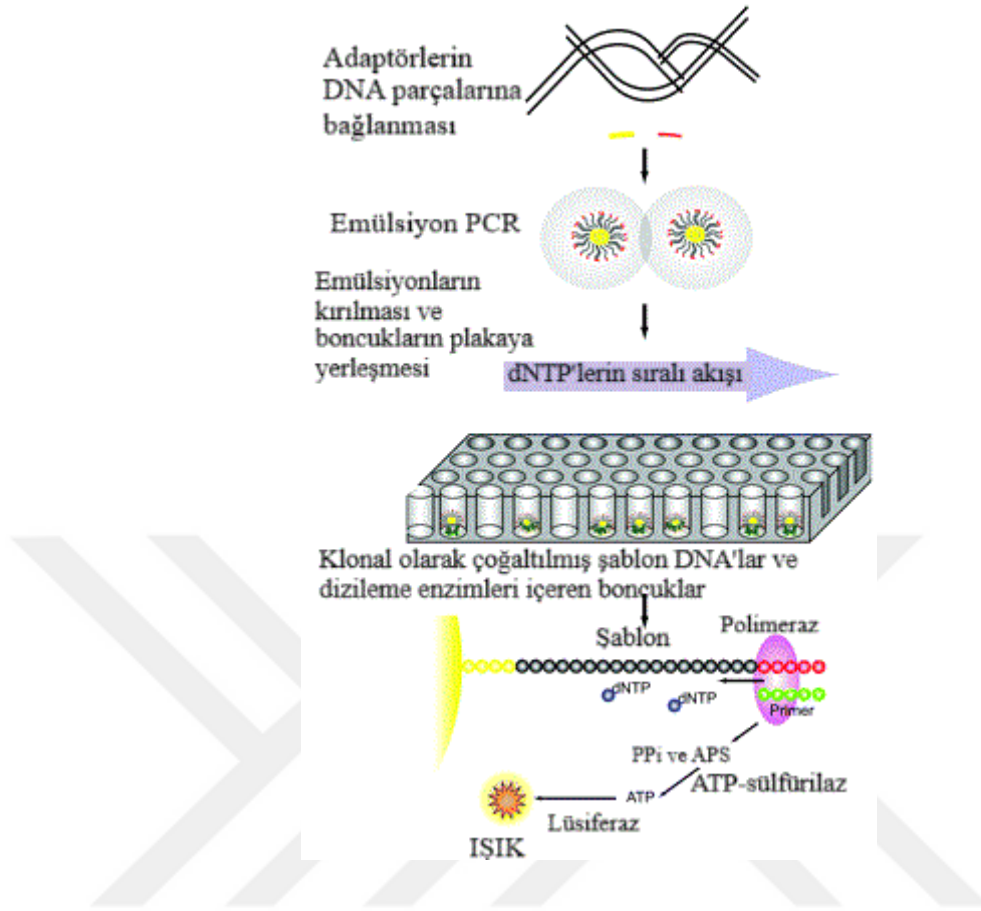
2.13.2.1.Hibridizasyonla dizileme yöntemi (SOLID)

1980'lerde kullanılmaya başlanan bu yöntemin temeli bir prob dizisinin bir DNA parçasına hibridize olan bir florofora bağlanması ve görüntüleme için yakın bir nükleotide ligasyonla yapışmasıdır. İstenmeyen, hibridize olmamış DNA'yı tekrar tekrar hibridize ederek hibridize olan işaretli parçaların filtre üzerindeki DNA problemlerinin dizisiyle eşleşip eşleşmediğini tespit etmek mümkün olmuştur. Bu sayede, prob hibridizasyon noktalarından gelen örtüşen veriler esas alınarak daha uzun bitişik dizi bilgileri meydana getirilmiştir (150-152).

2.13.2.2.Sentez yoluyla dizileme yöntemi

Sentezi başlatmak için gereken DNA şablonu, çift sarmal yapıdaki DNA'ya polimeraz enziminin bağlanmasını başlatacak bir adaptör bölgesine tamamlayıcı olan bir dizi ile hazırlanır. Her döngü esnasında, ayrı ayrı işaretlenmiş ve 3'-bloke edilmiş dört deoksiniükleotidin (dNTP) bir kombinasyonu dahil edilir. Daha sonra bağlanmamış dNTP'ler çıkarılır ve hangi grupta hangi dNTP'lerin olduğunu saptamak için yüzey görüntülenir (153). Güncel sentez yoluyla dizileme yöntemleri ile çok daha kısa okumalar (yaklaşık 300-500 baz) yapılabildiği için Sanger dizileme yönteminden farklıdır. Aynı zamanda Sanger dizilemesinden çok daha yüksek bir hata payına sahip oldukları da bilinmektedir. Bu nedenle sonuçların dikkatli bir biçimde incelenmesi gerekmektedir (154).

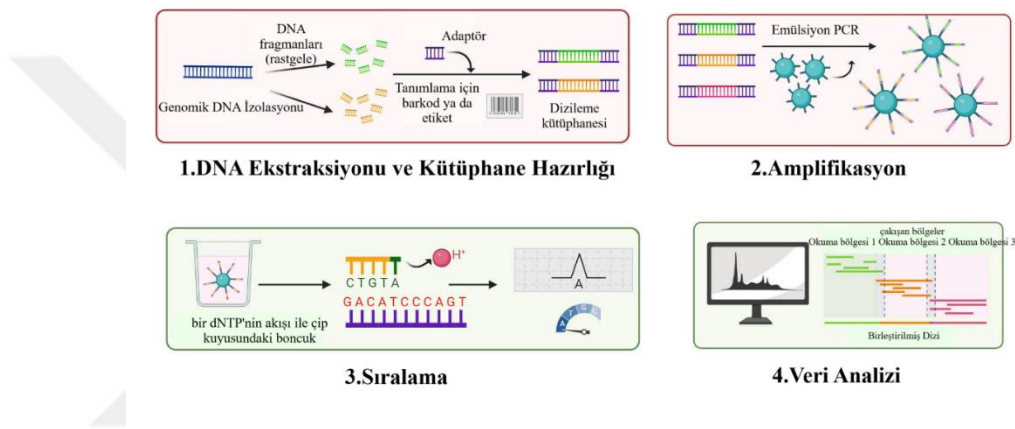
454 pirosekanslama teknolojisi: İnsan mikrobiyomunu araştırmak için en çok başvurulan YND yöntemidir. Bu yöntem emülsiyon PCR ve pirosekanslama metodlarının birleşimini içermektedir. 400-700 bp uzunluğundaki DNA segmentleri emülsiyon boncuk PCR yöntemi ile arttırılır. Boncuklar üzerinde bulunan DNA segmentleri adaptörler üzerindeki segmentlerle komplementerdir ve DNA segmentlerinin doğrudan boncuğa bağlanmasını mümkün kılar, her boncuğa ideal olarak bir segment bağlanır. DNA sentezi ve reaksiyonların kimyasal açıdan değerlendirilmesi pirofosfat salınımının ölçümüyle değerlendirilir. Doğru nükleotid, sentezlenen ipliğe bağlandığında pirofosfat salınımı ışık oluşturan bir tepkime aracılığıyla belirlenir (148).



Şekil 5. Roche 454 GS FLX dizilemesi (<https://academic.oup.com/clinchem/article/55/4/641/5629392?login=true> uyarlanmıştır.)

Ion Torrent Teknolojisi: Nükleotid dizilimini yarı iletken bir çip üzerinde direkt olarak dijital veriye dönüştürür (155). DNA sentez tepkimesinde, uygun bir nükleotid uzayan DNA zincirindeki komplementer bazın karşısına bağlandığında, bir hidrojen iyonu serbest kalır. Böylece çözeltinin pH değeri değişir ve pH metreye benzer şekilde bir iyon algılayıcı ile voltaj değişikliği şeklinde kaydedilir. Eğer nükleotid dahil edilmezse, voltaj yükselmesi gerçekleşmez. İki komşu nükleotid birbiriyle aynı nükleotidi içerdiğinde, iki hidrojen serbest kalır ve voltaj iki katına çıkar. Bu sayede tek bir nükleotidin hareketleri de tespit edilebilmektedir. Ion Torrent dizileme yöntemleri, kimyasal bilgiyi dizileme bilgisine çeviren milyonlarca piksel bulunan yarı iletken bir çipi kaplayan milyonlarca hücrede gerçekleşir. Süreci başlatmak için DNA 200-1500 bazlık parçalara ayrılmaktadır. DNA parçaları, boncuklar ve adaptörler ile komplementer dizilere sahip bir boncuğa bağlanır ve

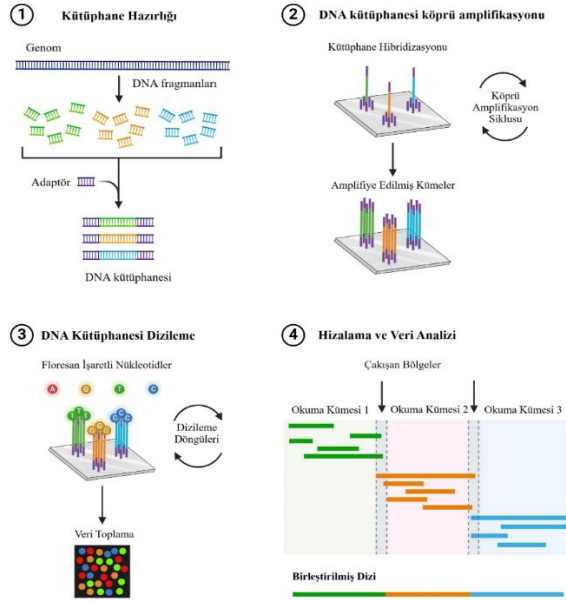
ardından boncuk üzerinde emülsiyon PCR ile çoğaltılır. Bu teknik milyonlarca boncuğun her birinin bir DNA dizisinin birden fazla kopyasının elde edilmesini sağlar. Ardından boncuklar hücreleri içeren çip boyunca, her bir hücreye yalnızca bir boncuk girebilecek şekilde aktarılır. İlgili nükleotid tepkimeye girdiğinde bir hidrojen iyonu yayılır ve sinyal kayıt altına alınır. Sistemin en büyük faydası hiçbir kamera, ışık kaynağı ya da tarayıcıya gereksinim duyulmamasıdır. Nükleotid eklenmesi direkt olarak kayıt altında voltaja dönüştürülür ve bu da süreci büyük ölçüde hızlandırır (148).



Şekil 6. Ion Torrent Dizileme Basamakları (<https://microbenotes.com/ion-torrent-sequencing/> uyarlanmıştır.)

ILLUMINA teknoloji: Solexa ve Lynx Therapeutics tarafından geliştirilen bir yöntemdir. Illumina dizileme, 'köprü amplifikasyonu' adıyla adlandırılan ve her iki ucuna uyumlu adaptörler bağlanmış DNA moleküllerinin (yaklaşık 500 bp), adaptöre komplementer oligonükleotid dizileri içeren sert bir destek (cam slayt) üstünde tekrar eden çoğaltma sentezi tepkimeleri için substrat olarak kullanıldığı bir tekniğe dayanır. Cam slayt üstündeki oligonükleotidler, daha sonra tekrarlanan çoğaltma işlemleri uygulanan DNA'nın, her bir oligonükleotid fragmanının yaklaşık 1000 kopyasından oluşan klonal 'kümeler' oluşturması için aralıklı olarak yerleştirilir. Sentez reaksiyonları esnasında, her biri ayrı floresan işaretli dört bazın her birine karşılık özgün modifiye nükleotidler bir araya getirilir ve ardından tespit edilir. Bu nükleotidler aynı zamanda her bir tepkime için sentez sonlandırıcı olarak rol alırlar. Floresan

tespitinin kullanılıyor oluşu, kamera esaslı görüntülemenin aksine direk görüntüleme sayesinde tespit hızını önemli ölçüde artırmaktadır. Illumina teknolojisinin en büyük kısıtlamaları; bir kümenin bireysel üyeleri arasındaki sentez reaksiyonlarında senkronizasyon eksikliği ve oligonükleotid dizilerinin aşırı kümelenmesine bağlı olarak oluşan büyük veriler sonucunda sekanslama hatalarının meydana gelmesidir (148).



Şekil 7. Illumina Dizileme Basamakları (<https://microbenotes.com/illumina-sequencing/> uyarlanmıştır.)

2.13.3. Üçüncü nesil DNA dizileme yöntemleri

İkinci nesil dizileme yöntemlerinin aksine, üçüncü nesil dizileme yöntemleri daha uzun DNA (ve RNA) moleküllerini dizilemeyi hedeflemektedir. Bu alanda RSII modeli ve SMRT (Single Molecule Real Time) iki dizileme sistemi mevcuttur ve 30-50 kb' ye kadar veya daha uzun dizilenmelerin okunmasına imkân tanır. PacBio SMRT yöntemi, dizilenecek bağlı DNA ile tasarlanmış bir DNA polimerazın bir hücrenin tabanına bağlanmasını içerir. SMRT yönteminde ışığın dalga boyuna göre ışığı yönlendiren bir kılavuz (ZMW (zero-mode waveguide)) bulunmaktadır. ZMW ile görüntüleme sadece DNA polimerazın DNA'ya bağlandığı ve her bir bazın dahil edildiği ZMW'nin tabanında meydana gelmektedir. Görüntüleme, nükleotid birleşme

oranına göre zamanlanır, bu sayede her baz uzayan DNA zincirine eklendikçe tanımlanır. Bu süreç, SMRT hücreleri içindeki tek bir çipte bulunan bir milyon zeptolitreye kadar ZMW'de paralel olarak meydana gelir. PacBio SMRT yöntemi ile sentez sırasında nükleotid eklenme hızının ölçülebilmesi, uzun okumalar sağlaması, epigenetik çalışmalar için birçok farklı modifikasyonların tespit edilebilmesi diğer yöntemlere göre avantajlarıdır. Ancak yüksek hata oranına sahip olması ve daha pahalı bir yöntem olması nedeniyle alternatiflerine göre kullanımını sınırlandırmaktadır (148, 153).

2.14. Kök Kanal Mikrobiyotasını Araştırmak İçin Yapılan Çalışmalar

Endodontik mikrobiyoloji konusundaki araştırmalar, 19. yüzyılın sonunda Miller'ın kök kanalı bakterilerini o dönemde var olan yeni metotlarla üretmeye çalıştığı ve kök kanalının değişik kısımlarında bulunan bakteri hücrelerinin morfolojisini tanımlamak için mikroskop kullandığı klasik çalışmalarla başlamıştır (50). O zamandan beri, bilimsel araştırmalar genellikle apikal periodontitisin enfeksiyöz kökenini saptamaya ve teyit etmeye, değişik endodontik enfeksiyon tipleriyle alakalı mikrobiyal çeşitleri tespit etmeye ve tedavi yöntemlerinin antimikrobiyal etkisini bulmaya yoğunlaşmıştır. Bu tip araştırmalar için birçok metot kullanılmış ve endodontik enfeksiyonlara dair var olan bilgi seviyesinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmuştur.

Siqueira ve Rôças (156) endodontik mikrobiyoloji çalışmalarını zamanlama ve teknolojiye bağlı olarak 5 nesile ayırmıştır. Bu mikrobiyolojik metotların açık uçlu veya kapalı uçlu olmak üzere 2 farklı formu mevcuttur. Açık uçlu yöntem 'tüm' türlerin (gerçekte, sadece en baskın olan türün) tespitine olanak sağlarken çeşitlilik konusunda da fikir verir. Kapalı uçlu yöntem ise bir ya da birkaç belirlenmiş hedef türün varlık/yokluk yaklaşımıyla, bazen de yarı ya da mutlak miktar tayiniyle saptanmasına odaklanır.

2.12.1. 1.nesil çalışmalar

Bu nesilde yapılan çalışmalar 1960'ların sonu ve 1970'lerin başı/ortalarında uygulanmaya başlamıştır ve anaerobik kültürle yakından ilişkili olan açık uçlu kültür metotlarına dayanmaktadır (157-159). Yapılan çalışmalar sonucunda apikal periodontitisin temelinde anaerobik türlerin (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella türleri*, *Porphyromonas türleri*, *Parvimonas micra* vb.) (36, 160) ve aynı zamanda bazı fakültatif türlerin (*Enterococcus faecalis* ve streptokoklar) (65, 161) neden olduğu tespit edilmiştir.

2.12.2. 2.nesil çalışmalar

Bu nesildeki çalışmalar kapalı uçlu yöntemdeki çalışmaları içermektedir. Bu çalışmalar endodontik moleküler yöntemlerin kullanıldığı ilk çalışmalardır. Kullanılan bu yöntem türe veya gruba göre polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve türevlerinin genomik problemlerinin kullanıldığı hibridizasyon testini içermektedir. Bu yöntem ile daha önce periodontal patojen olduğu bilinen ancak endodontik enfeksiyonlarda bulunmadığı düşünülen *Tannerella forsythia* (162) ve *Treponema denticola* (163) tespit edilmiştir. Aynı zamanda zor gelişen bazı anaerobik bakteri türleri (*Filifactor alocis*, *Dialister* türleri) ilk defa endodontik enfeksiyonlarda ve yüksek oranlarda tespit edilmiştir.

2.12.3. 3.nesil çalışmalar

Üçüncü nesil çalışmalar, örnekteki neredeyse tüm bakteri türlerini belirlemek için açık uçlu DNA tabanlı moleküler metotları kapsamaktadır. Bu metotlar arasında geniş aralıklı PCR, klonlama, Sanger dizileme, terminal-kısıtlama parça uzunluğu polimorfizmi (T-RFLP) veya denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) gibi metotlar yer almaktadır. Bu yöntemler emek isteyen, vakit alan ve maliyetli yöntemlerdir. Bu yüzden çalışma başına sadece birkaç örneğin incelenmesine ve yalnızca baskın topluluk türlerinin saptanmasına neden olmaktadır. Bu yöntem endodontik bakteri

topluluklarının profilinin oluşturulmasına olanak sağlamış ve apikal periodontitisin patojenite birimi olarak komünite kavramının temelini oluşturmuştur (164).

2.12.4. 4.nesil çalışmalar

Üçüncü nesil çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile PCR, reverse capture checkerboard hibridizasyon, mikro diziler gibi kapalı uçlu moleküler yöntemler ile dördüncü nesil çalışmalar ortaya koyulmuştur. Bu nesilde elde edilen sonuçlar ile henüz kültüre edilmemiş, aday endodontik patojenler olan *Synergistetes* ve *Bacteroidetes* filumları elde edilmiştir (40, 165, 166).

2.12.5. 5.nesil çalışmalar

Bu nesildeki çalışmalar açık uçlu metot olan yeni nesil dizileme (YND) olarak da tanımlanan yüksek verimli dizileme teknolojilerine dayanmaktadır. Bu yöntemler sonucu elde edilen veriler diğer nesillerdeki çalışmalar ile tespit edilemeyen yüksek bakteri çeşitliliğini açığa çıkarmıştır (167-169).

2.13.5.1. Yeni nesil dizileme tekniği

Yeni nesil dizileme (YND) olarak isimlendirilen yüksek verimli DNA dizileme teknolojileri, ağız boşluğu da dahil olmak üzere insan bölgelerinden mikrobiyotaları detaylı bir biçimde analiz etmek için başvurulan bir metot haline gelmiştir (170, 171). Bu teknoloji apikal periodontitis ile ilişkili enfekte kök kanallarının bakteri topluluklarını karakterize etmek için hemen hemen 10 yıldır uygulanmaktadır.

2.15. Biyoinformatik

Özellikle moleküler biyoloji olmak üzere biyolojinin farklı branşlarından edinilen büyük hacimdeki verilerin incelenmesine yönelik bilgisayar teknolojisini ve veri işleme aygıtlarını bünyesinde bulunduran bir alandır (172). Başlangıçta biyolojik dizilerin analizi için geliştirilen biyoinformatik zamanla genomik çalışmalar, gen

ekspresyon çalışmaları, yapısal biyoloji, tanı ve tedavi gibi birçok konuda kullanılmaya başlanmıştır. Biyoinformatiğin 3 temel hedefi bulunmaktadır (173):

1. Veri tabanı oluşturmak
2. Veri analizinde kullanılacak olan araç ve kaynakları geliştirmek
3. Elde edilen verileri biyolojik olarak anlamlı biçimde analiz etmek ve yorumlamak

Yeni nesil dizileme yöntemleri ile kısa okumalar yapılabilmekte ve hiperdeğişken gen bölgeleri kullanılmaktadır. Kısa okumalar ve hiperdeğişken gen bölgelerinin kullanılması hatalara neden olmaktadır. Yeni nesil dizileme yöntemleri ile bu hatalar minimum seviyeye düşürmeye çalışılmaktadır. Biyoinformatik sayesinde verilerin incelenmesi, temizlenmesi, düzenlenmesi ve karşılaştırılabilir hale getirilmesi sağlanmıştır.

CORE (Core Human Oral Microbiome) ve HOMD gibi oral taksonların analizi için geliştirilmiş oral veri tabanları mevcuttur. Bu veri tabanları 16S dizi verilerinin büyük veri tabanlarından çok daha iyi performans gösteren, daha yüksek çözünürlüklü veri tabanları oluşturulmasını mümkün kılmıştır (174). Aynı zamanda endodontik örneklerden elde edilen veriler bu veri tabanlarında mevcut olmayabilir. Bu yüzden kök kanal mikrobiyomundan edinilen dizilemelere yönelik çalışmalar oral ve daha kapsamlı veri tabanlarına dayanıyor olmalıdır (174, 175). SILVA veri tabanı ribozomal RNA gen (rRNA) dizileri ile güncel, yüksek kaliteli veri kümeleri etrafında hizmetler sağlayan kapsamlı bir web kaynağıdır. 2007'den itibaren SILVA veri tabanı Avrupa için yetkili rRNA veri tabanı projesi haline gelmiştir (176).

2.16. Kök Kanallarından Örnek Alınması

Endodontik mikrobiyomun doğru şekilde analiz edilebilmesi için önemli aşamalardan biri de örnek alma işlemidir. Alınacak örnek endodontik mikrobiyomun temsili numunesini tam olarak yansıtabilecek kadar kapsamlı olmalıdır. Aynı zamanda alınacak örneklerde kontaminasyon olmadığından emin olunmalıdır.

2.16.1. Kâğıt konilerle örnek alınması

Kök kanallarından örnek alınma için tercih edilen geleneksel yöntemdir. Kök kanalı steril fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) ile doldurulur. #15 numaralı K-file eğe ile 10 sn çevresel olarak eğelendikten sonra 3 adet steril kâğıt koni ile kök kanalı içerisindeki sıvı emdirilerek örnekler alınmaktadır. Alınan örnekler PBS içeren mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir (177).

Bu yöntem ile sadece ana kök kanalında bulunan bakterilerden örnek alınabilmektedir (178). Ancak kök kanal sisteminde yan kanallar, dallanmalar, isthmuslar gibi anatomik düzensizlikler bulunmaktadır (179). Bu düzensiz alanlar nedeniyle steril kağıt koniler ile alınan örneklerle kök kanal sisteminin mikroflorası hakkında hatalı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir (178). Aynı zamanda bu işlemin bir diğer limitasyonu ise alınan örneğin kök kanal sisteminin koronal, orta veya apikal bölgelerinin neresinden alındığının bilinmemesidir.

2.16.2. Kök kanallarından dentin tıraşlanması ile örnek alınması

Kök kanal sisteminde sadece ana kanalda değil, kanal sistemi içerisindeki düzensiz anatomik boşluklarda da mikroorganizmalar bulunmaktadır. El eğeleri ve Gates glidden frezleri ile kağıt konilerle ulaşamayan bu düzensiz bölgelerden kök kanal duvarlarını tıraşlayarak elde edilen dentin talaşlarından örnek alınması hedeflenmektedir (180). Literatürde *in vivo* olarak eğeler ve kâğıt koniler ile örnek alma yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (181) bu iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte eğeler ile örnek alma yöntemi daha kolay, daha hızlı ve daha uygulanabilir bir yöntem olduğu için *in vivo* örnek alma yöntemi olarak tercih edilebilir.

2.16.3. Kriyopulverizasyon ile örnek alınması

Pulverizasyon bir maddeyi toz veya ince parçacıklara dönüştürme işlemidir. Kriyopulverizasyon yönteminde ise öğütme işlemi örnekteki DNA'nın ısıyla bozulmasını engellemek, örneği soğutmak ve kırılgan hale getirerek öğütmeyi

hızlandırmak için sıvı nitrojene daldırılmış bir kapsül içinde gerçekleştirilir. Bu yöntem moleküler biyoloji analizlerinde DNA elde edilmesi için sık kullanılan bir yöntemdir (182, 183). Endodontik mikrobiyoloji çalışmalarında diş numuneleri ileri geri salınım yapan manyetik bir düzenek ve sıvı nitrojen kullanılarak toz haline dönüştürülür (184). Elde edilen tozdan kök kanalının mikrobiyal örneği elde edilir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Diyabet hastalığının kök kanal enfeksiyonu bulunan dişlerin mikrobiyal florası üzerine etkisini incelemeyi hedefleyen bu tez çalışması Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınan 04/10/2023 tarihli ve 2023/18 numaralı etik kurul onayı ile tıbbi açıdan uygun bulunmuştur.

Bu çalışma, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2024-27194235-03 numaralı proje ile desteklenmiştir.

3.2. Örneklerin Seçilmesi ve Hazırlanması

Çalışmaya Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'na kök kanal tedavisi yaptırmak için yönlendirilen hastalar dahil edildi. Diyabet hastalığı olan (çalışma grubu) ve diyabet hastalığı bulunmayan ve sistemik açıdan sağlıklı (kontrol grubu) 18-65 yaş arasındaki hastaların radyografik değerlendirmeleri sonucunda kök ucunda belirgin periapikal radyolüsenye sahip kronik apikal periodontitis tanılı dişleri seçildi. Her hastanın yalnızca bir dişi kullanılmak üzere toplam 39 diş çalışmaya dahil edildi. Periapikal bölgedeki mevcut radyolüsent lezyonlar Orstavik'in belirlediği Periapikal indeks (PAI) kriterlerine göre skorlandı (185). Bu skorlama;

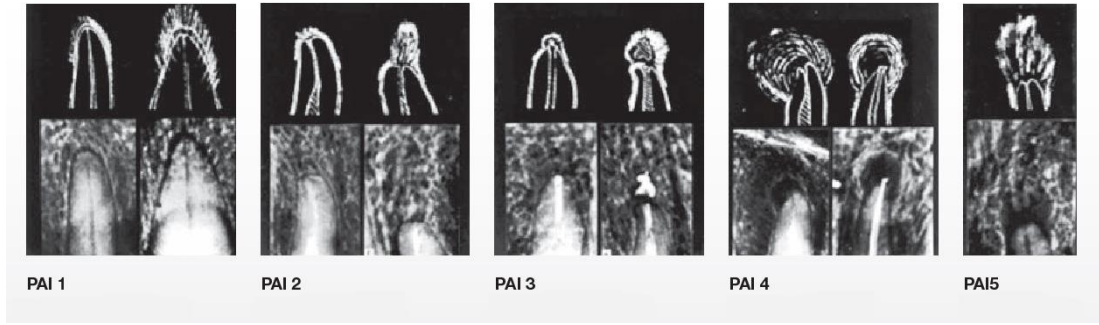
PAI 1: Normal periapikal periodonsiyum

PAI 2: Kemik yapısında minimal değişiklikler mevcut

PAI 3: Kemikte mineral kaybıyla beraber yapısal değişiklikler mevcut

PAI 4: Sınırları kesin ve iyi tanımlanabilen radyolüsenye gözlenen apikal periodontitis varlığı

PAI 5: Geniş radyolüsent alanlar gösteren yaygın apikal periodontitis varlığı



Şekil 8. Orstavik PAI skorlaması

Çalışmaya dahil edilecek hastalar için dahil edilme kriterleri aşağıda belirtildiği şekilde belirlendi;

- Çalışma grubunu oluşturan diyabet hastalarının diyabet dışında herhangi bir sistemik hastalığı bulunmamalı ve diyabeti kontrol altında olmalı
- Kontrol grubunu oluşturan hastaların sistemik herhangi bir hastalığı bulunmamalı
- Hastalar son 3 ay içerisinde antibiyotik kullanmamış olmalı
- Dişlerin pulpasının ağız ortamına açık olmasına izin vermeyecek bir koronal restorasyonu bulunmalı
- Hamile olmamalı
- Periapikal indeks skoru (PAI) 3 ve 3'ten büyük olan asemptomatik kronik apikal periodontitisli dişler

Çalışmada hariç tutulma kriterleri ise şu şekildedir;

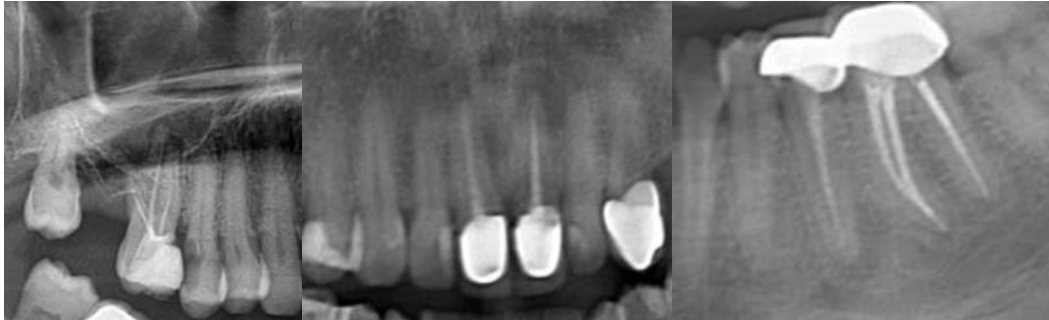
- Rubber-dam takılmasına izin vermeyecek aşırı koronal harabiyet mevcut olan dişler
- Ağrı, şişlik, sinüs yolu varlığı
- Kök veya kron kırığı varlığı
- 3 mm'den fazla periodontal cep varlığı

Kontrol ve çalışma grubundaki hastaların çalışmaya dahil edilen dişleri apikal periodontitis türüne göre birincil ve ikincil/ısrarcı apikal periodontitis olarak sınıflandırıldı. Birincil apikal periodontitisli (BAP) dişler, daha önce kök kanal tedavisi yapılmamış, asemptomatik kronik apikal periodontitis teşhisi konulan

PAI ≥ 3 olanlar iken ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli (IAP) dişler ise, daha önce bir diş hekimi tarafından kök kanal tedavisi yapılan, kök kanal tedavisi radyografik apeksten 0-2 mm kısa olan, asemptomatik kronik apikal periodontitis teşhisi konulan PAI ≥ 3 olan dişler olarak belirlendi.



Şekil 9. Birincil apikal periodontitis grubuna dahil edilen dişlerden bazılarının radyografik görüntüleri



Şekil 10. İkincil/ısrarcı apikal periodontitis grubuna dahil edilen dişlerden bazılarının radyografik görüntüleri

3.3. Kök Kanallarından Örnek Alınması

Kök kanallarından mikrobiyal örneklerin alınması aseptik koşullarda gerçekleştirildi. Bu aşamada uygulanan tüm prosedürler Amaral ve ark. yapmış olduğu çalışma referans alınarak yapıldı (186). Hastalar %0.12'lik klorheksidin içeren ağız gargarası ile 1 dk boyunca ağızlarını çalkaladı. Daha sonra supragingival plak ve debrisler ultrasonik scaler yardımı ile temizlendi. Ardından dişler rubber-dam takılarak izole edilip kuron yüzeyleri %3 hidrojen peroksit (H_2O_2) ve %5.25 sodyum hipoklorit

(NaOCl) ile silinerek dezenfekte edildi. Sodyum hipokloritin etkisini nötralize etmek için %5'lik sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{O}_2\text{S}_3$) kullanıldı. Bu protokol giriş kavitesi açılmadan ve açıldıktan sonra uygulandı. Steril frezler ile steril salin irrigasyonu altında giriş kavitesi açıldı. Giriş kavitesi açıldıktan sonra steril kâğıt konilerle giriş kavitesinin iç duvarlarından sterilite kontrolü için örnek alındı. Alınan bu kontrol örnekleri içerisinde fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) bulunan eppendorf tüpleri içerisine konulup -80°C de saklandı. Dişler bu kontrol örneklerinin PCR testinde bakteri içermediği tespit edildikten sonra çalışmaya dahil edildi. 10 numaralı K tipi eğe ile kök kanalı içerisinde rehber yol oluşturarak elektronik apeks bulucu (Ai-Pex Woodpecker) ile kök kanal boyu tespiti yapıldı. Apeks bulucuda 00 noktası çalışma boyu olarak belirlendi. Aynı zamanda apeks bulucunun doğruluğundan emin olmak için kontrol röntgeni alındı. Ardından kök kanalı içerisine 1 ml steril salin solüsyonu konularak 3 adet 15 numaralı steril kâğıt koni (DiaDent Paper Points) ile bu solüsyon emdirilerek kök kanalının içeriğinin örneklenmesi sağlandı. Her bir steril kâğıt koni kök kanalında çalışma boyutunda 30 sn bekletildi. Çok köklü dişlerde mikrobiyal örnek en büyük lezyonun bulunduğu kökten alındı. İkincil/ısrarcı apikal periodontitisli dişlerin Kök kanalı içerisindeki eski kök kanal dolgu materyalleri ProTaper Universal Retreatment D1 (Dentsply Sirona, Switzerland) eğesi ile 500 rpm ve 2 N torkta söküldü. Kök kanal dolgusu artıkları ve eğeler kâğıt koniler ile içerisinde fosfat tamponlu salin bulunan eppendorf tüplere konularak analiz aşamasına kadar -80°C 'de saklandı.

3.4. Örneklerden DNA Ekstraksiyonu

Mikrobiyal DNA izolasyonu, QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) kullanılarak üretici protokolüne göre gerçekleştirildi. İzole edilen DNA'nın kalite kontrolü için NanoDrop spektrofotometre ile saflık ölçümü yapıldı, A260/A280 ve A260/A230 oranları değerlendirildi. DNA konsantrasyonu, Qubit dsDNA HS Assay Kit kullanılarak Qubit 4.0 fluorometre ile ölçüldü. DNA bütünlüğü, %1'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi.

3.5. Illumina Sekans Kütüphanesi Hazırlama ve Sekanslama

16S rRNA gen amplifikasyonu için bakteriyel V3-V4 bölgesini hedefleyen 341F-(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') ve 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') primerleri kullanıldı. PCR amplifikasyonu, 2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix kullanılarak gerçekleştirildi. Termal döngü koşulları: 95°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonu, ardından 25 döngü (95°C'de 30 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye bağlanma, 72°C'de 30 saniye uzama) ve 72°C'de 5 dakika final uzama şeklinde uygulandı.

PCR ürünleri, AMPure XP manyetik boncukları kullanılarak saflaştırıldı. Saflaştırılan ampliconlara, Nextera XT Index Kit v2 kullanılarak çift yönlü indeks adaptörleri eklendi. İndeks PCR ürünleri tekrar AMPure XP boncukları ile saflaştırıldı ve Qubit ile miktar tayini yapıldı. Kütüphaneler eşit molaritede birleştirildi ve Illumina MiSeq platformunda 2x250 baz çift yönlü sekanslama gerçekleştirildi.

3.6. Biyoinformatik Analizler

1. Kalite Kontrol ve Veri İşleme

Ham sekans verileri QIIME 2 platformu kullanılarak analiz edildi. İlk aşamada, demultiplexing işlemi gerçekleştirildi ve her örneğe ait okumalar ayrıldı. DADA2 algoritması kullanılarak kalite filtreleme, hata düzeltme ve kimera tespiti yapıldı. Bu süreçte düşük kaliteli bazlar (Q-score <25) ve kısa okumalar (<200 bp) elimine edildi.

2. ASV Tespiti ve Taksonomik Sınıflandırma

DADA2 pipeline'ı ile Amplicon Sekans Varyantları (ASV'ler) belirlendi. Her ASV'nin taksonomik sınıflandırması, SILVA 138.1 16S rRNA gen referans veritabanı kullanılarak naïve Bayes sınıflandırıcısı ile gerçekleştirildi. Sınıflandırma sonuçları filum, sınıf, takım, familya ve cins düzeylerinde elde edildi.

3. Çeşitlilik Analizleri

Alfa çeşitlilik analizleri için tür zenginlik indeksi Chao1 ve tür çeşitlilik indeksleri Shannon, Simpson, Fisher alpha ve Faith's PD ile hesaplandı. Gruplar arası alfa çeşitlilik karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirildi. Beta çeşitlilik

analizlerinde Bray-Curtis, Jaccard, Weighted UniFrac ve Unweighted UniFrac uzaklık metrisleri kullanıldı. PCoA (Principal Coordinates Analysis) ordinasyonları EMPEROR ile görselleştirildi. Gruplar arası beta çeşitlilik farklılıkları PERMANOVA testleri ile değerlendirildi. Gruplar arasında mikrobiyal kompozisyondaki farklılığı oluşturan taksonlar Lefse analiz ile gösterildi.



4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 39 hastadan alınan 39 örnekte yapılan mikrobiyal DNA analizi sonucunda tüm örneklerde 16s rRNA pozitif bulundu. Çalışmaya dahil edilen 39 hastanın 21'i diyabet hastalığına sahip iken 18'i sistemik olarak sağlıklıydı. 21 diyabet hastasının diş numarası, enfeksiyon tipi, cinsiyet, yaş, HbA1c değeri ve ne kadar süredir diyabet hastası olduğuna dair veriler Tablo 1'de gösterildi. Çalışmaya dahil edilen diyabet hastalarının yaş ortalaması 52.14'tü ve %52'sini erkekler oluşturdu. Diyabet hastalarının çalışmaya dahil edilen dişlerinin 12'si (%57.1) ısrarcı apikal periodontitis (IAP), 9'u (%42.8) birincil apikal periodontitis (BAP) tanısına sahipti. Çalışmaya dahil edilen diyabet hastalarının dişlerin 8'ini keser (%38), 6'sını küçük azı (%28) ve 7'sini büyük azı (%33) dişleri oluşturmaktaydı. Çalışmaya dahil edilen IAP tanılı diyabet hastaları ortalama 9 yıl, BAP tanılı olanlar ise ortalama 12 yıldır diyabet hastalığına sahipti. HbA1c değerini bilen IAP tanılı hastaların ortalama HbA1c değeri 7.6, BAP tanılı olanların ise ortalama HbA1c değeri 7.9 olarak belirlendi.

Tablo 1. Diyabet hastalarına ait demografik veriler

Numune Numarası	Diş Numarası	Enfeksiyon Tipi	Cinsiyet	Yaş	HbA1c Değeri	Diyabet Tanısının Süresi
1	42	BAP	Kadın	56	6.1	10 yıl
2	45	IAP	Erkek	38	6.9	20 yıl
3	12	IAP	Erkek	52	7	15 yıl
4	17	IAP	Erkek	39	7	5 yıl
7	14	BAP	Kadın	47	8.6	10 yıl
9	45	BAP	Kadın	61	6.2	3 yıl
16	11	BAP	Erkek	47	-	2 yıl
19	12	IAP	Erkek	41	11.2	5 yıl
20	46	IAP	Erkek	58	6.6	15 yıl
23	16	IAP	Erkek	64	-	4 yıl
24	17	BAP	Erkek	57	11.2	45 yıl
25	37	IAP	Kadın	50	6.5	10 yıl
26	35	BAP	Kadın	64	10.1	20 yıl
27	32	BAP	Kadın	64	-	10 yıl
28	25	IAP	Kadın	48	9.0	10 yıl
30	34	IAP	Kadın	35	6.5	2 yıl
34	16	IAP	Erkek	48	-	9 yıl
36	43	BAP	Kadın	55	6.7	2 yıl
37	11	BAP	Kadın	52	6.7	2 yıl
38	11	IAP	Erkek	57	-	3 yıl
39	36	IAP	Erkek	62	7.9	10 yıl

Çalışmada kontrol grubunu oluşturan sistemik olarak sağlıklı 18 hastaya ait diş numarası, cinsiyet, yaş ve enfeksiyon tipine ait veriler Tablo 2’de gösterildi. Çalışmaya dahil edilen sistemik olarak sağlıklı 18 hastanın yaş ortalaması 36.5’i ve 11’ini (%61) kadınlar oluşturdu. Sistemik olarak sağlıklı 18 hastanın 12’si (%66.6) BAP, 6’sı (%33.3) IAP tanısına sahip dişlere sahipti. Çalışmaya dahil edilen sistemik olarak sağlıklı hastanın dişlerinin 6’sını keser (%33), 7’sini küçük azı (%38) ve 5’ini büyük azı (%27) dişleri oluşturmaktaydı.

Tablo 2. Sistemik olarak sağlıklı hastalara ait demografik veriler

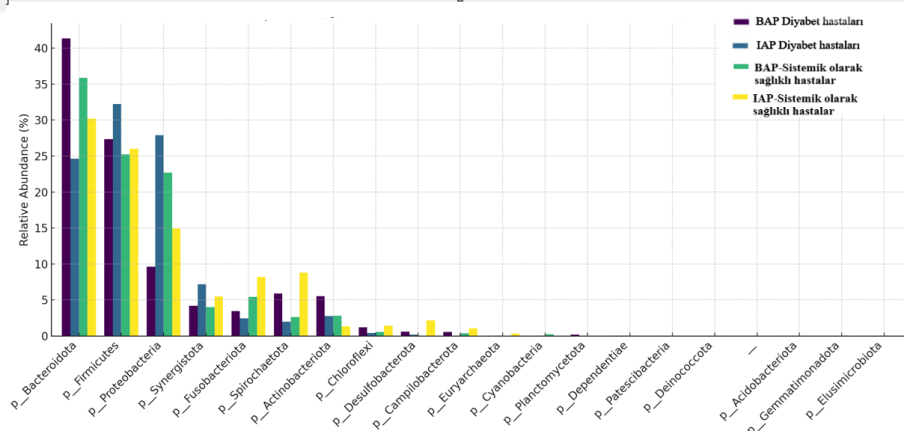
NUMUNE NUMARASI	DİŞ NUMARASI	ENFEKSİYON TÜRÜ	YAŞ	CİNSİYET
5	21	IAP	29	Kadın
6	44	BAP	51	Kadın
8	46	BAP	38	Erkek
10	21	BAP	26	Kadın
11	47	BAP	37	Erkek
12	16	BAP	51	Erkek
13	25	IAP	29	Erkek
14	35	IAP	29	Kadın
15	14	BAP	36	Kadın
17	36	IAP	20	Kadın
18	47	BAP	65	Erkek
21	35	IAP	48	Kadın
22	42	BAP	64	Kadın
29	34	IAP	18	Kadın
31	11	BAP	31	Erkek
32	22	BAP	19	Kadın
33	35	BAP	28	Kadın
35	32	BAP	39	Erkek

4.1.Mikrobiyal Analizler

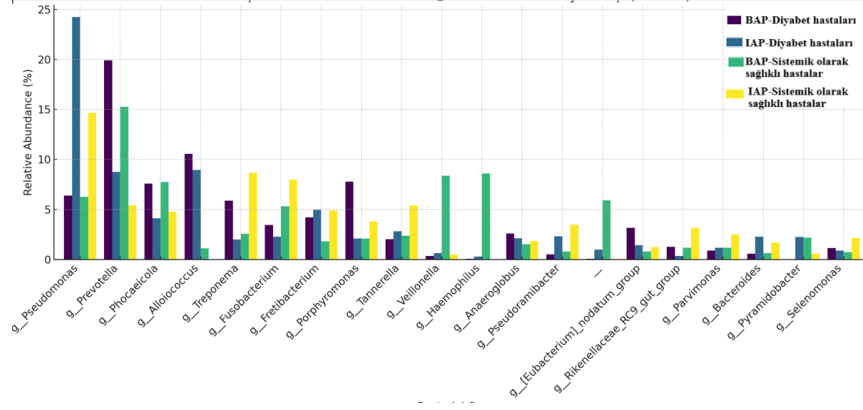
4.1.1.Tüm hastaların kök kanallarının mikrobiyal kompozisyonu

Çoğaltılan 16S rRNA örneklerinin V3-V4 hiperdeğişken bölgeleri Illumina Miseq platformunda analiz edildi. Düşük kaliteli okumalar çıkarıldıktan sonra ortalama 59.766, toplam 2.330.878 dizi okuması elde edildi.

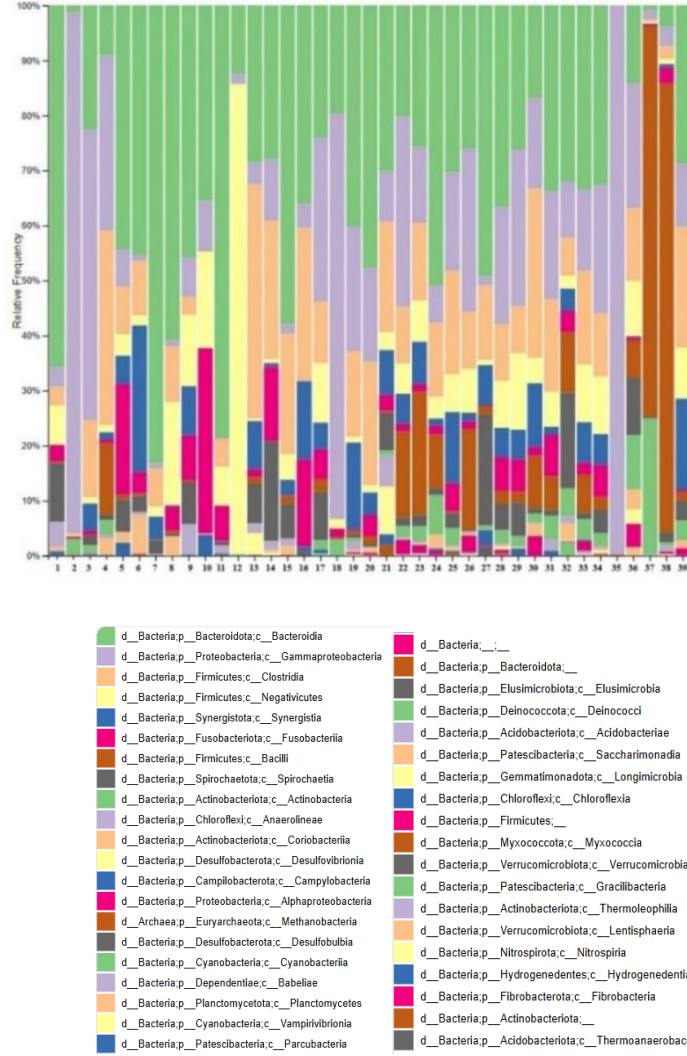
39 örnekte 24 filum, 251 cins ve 167 tür tespit edildi. 39 örneğe ait taksonomik kompozisyonun filum seviyesinde göreceli bolluğu en fazla olan 20 filum ve cins sırasıyla, Şekil 11’ve Şekil 12’de gösterildi. *Bacteroidetes*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* en baskın filumlar olarak tespit edildi. *Pseudomonas*, *Prevotella*, *Phocaeicola*, *Fusobacterium*, *Treponema* ve *Porphyromonas* en baskın cins olarak tespit edildi. Her bir örnekte yer alan mikrobiyal topluluk içeriğinin filum ve sınıf seviyesi Şekil 13’te gösterildi.



Şekil 11. Filum düzeyinde göreceli bolluk grafiği



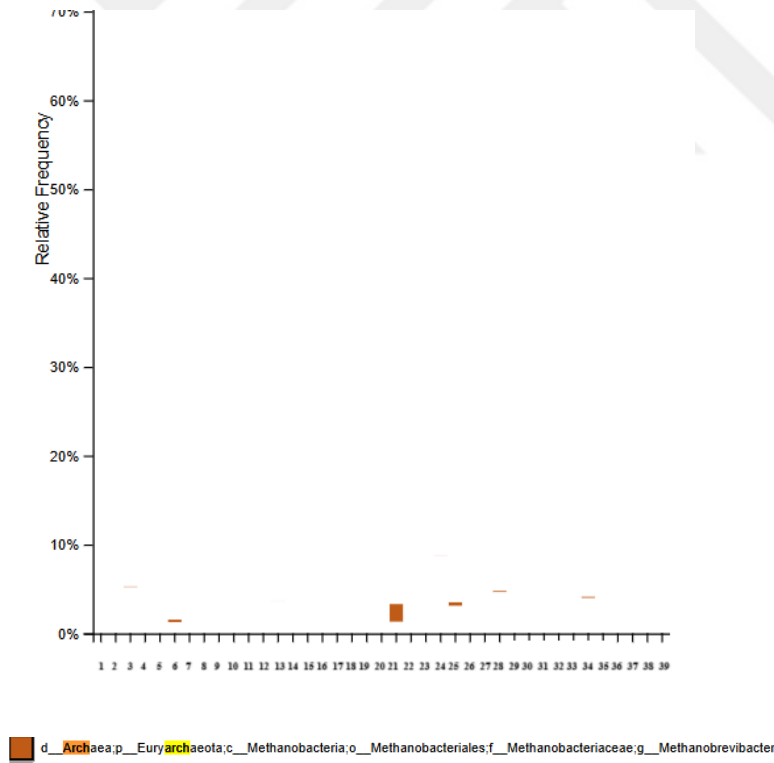
Şekil 12. Cins düzeyinde göreceli bolluk grafiği



Şekil 13. Tüm örneklerdeki filum ve sınıf seviyesindeki mikrobiyal topluluğu gösteren grafik

Enterococcus, tüm örnekler içerisinde 4 örnekte tespit edildi. Bu örnekler diyabet hastalarına aitti. Tespit edilen 4 örneğin 2'si ısrarcı apikal periodontitisli diyabet hastasına aitti. Bu 2 örnekte bulunma oranları ise %12.25 ve %0.29 olarak tespit edildi. Diğer 2 örnek ise birincil apikal periodontitisli diyabet hastasına aitti. Bu örneklerde bulunma oranları ise %1.04 ve %0.13 olarak tespit edildi.

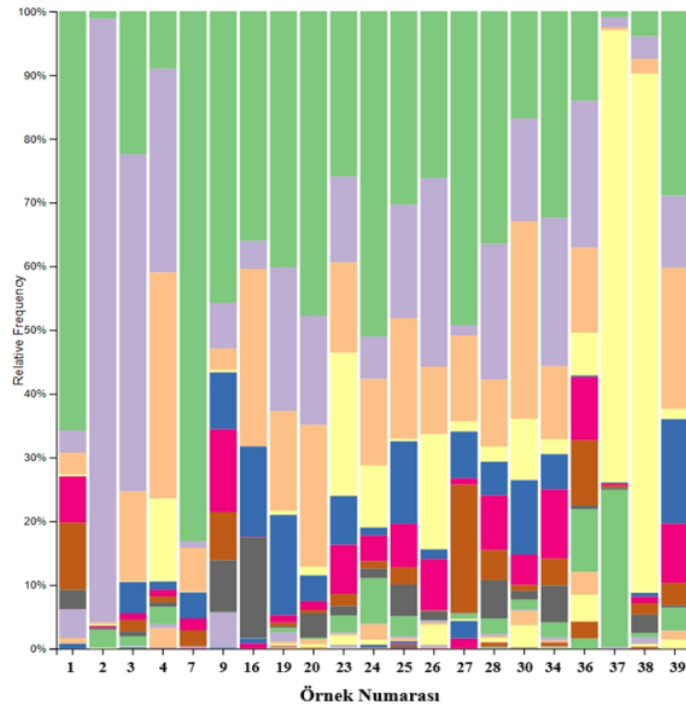
Arkealar tüm örnekler içerisinde 5 örnekte tespit edildi. Bu örneklerin 3'ü diyabet hastalarına aitti ve ısrarcı apikal periodontitis tanısına sahipti. Diyabet hastalarına ait örneklerde cins düzeyinde *Methanobrevibacter* tespit edildi ve bulunma oranları %0.38, %0.11 ve %0.11'di. Sistemik olarak sağlıklı hastalardan alınan 2 örnekte 1'i ısrarcı apikal periodontitis tanısına sahipti ve cins düzeyinde %1.97 oranında *Methanobrevibacter* tespit edildi. 1 örnek ise birincil apikal periodontitis tanısına sahipti ve tür düzeyinde *Methanobrevibacter wolinii* tespit edildi ve bulunma oranı %0.26'ydı (Şekil 14).



Şekil 14. Örneklerdeki arkeaların varlığını gösteren cins düzeyinde taksonomik dağılım

4.1.2. Diyabetli hastaların kök kanallarının mikrobiyal kompozisyonu

21 diyabet hastasından alınan örneklere ait taksonomik kompozisyon filum ve sınıf seviyesinde Şekil 15’te gösterildi. 21 örnekte 22 filum, 237 cins ve 148 tür tespit edildi. Diyabet hastalarının birincil apikal periodontitisinden alınan 9 örnekte en çok bulunan filumlar sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* olarak tespit edildi. Diyabet hastalarının ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan 12 örnekte ise en çok bulunan filumlar sırasıyla *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* olarak tespit edildi. Diyabet hastalarının birincil apikal periodontitisin de en çok bulunan cinsler sırasıyla *Prevotella*, *Alloiococcus*, *Porphyromonas* ve *Phocaeicola* olarak tespit edildi. Diyabet hastalarının ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan cinsler *Pseudomonas*, *Alloiococcus*, *Prevotella*, *Fretibacterium* olarak tespit edildi.

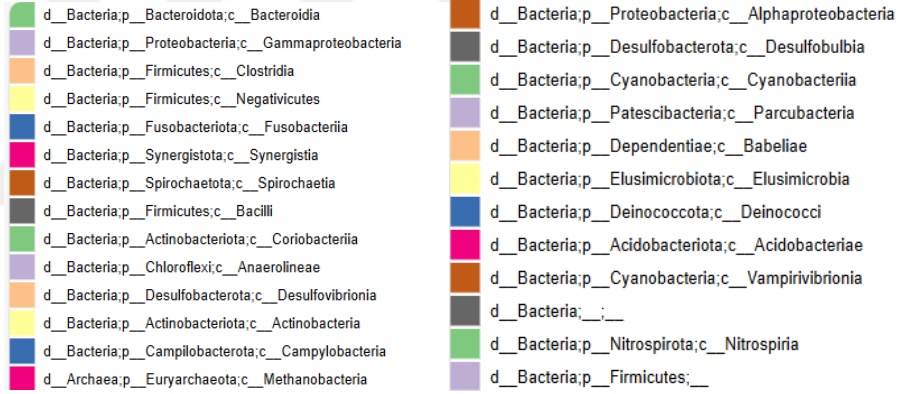
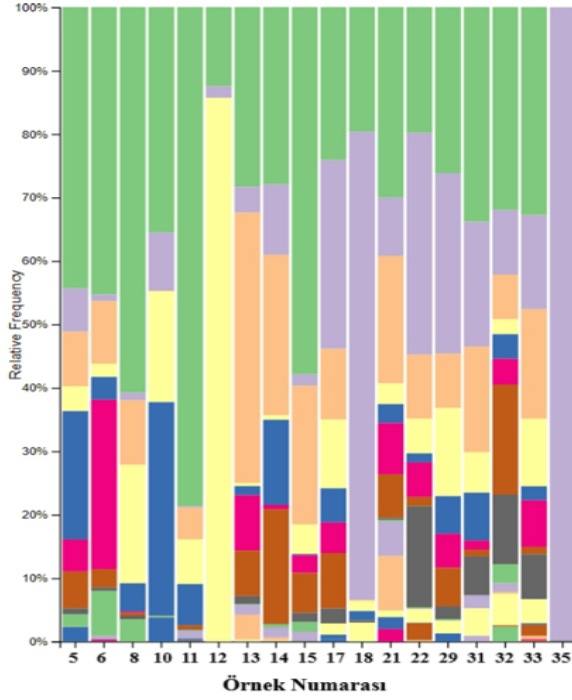




Şekil 15. Diyabetli hastalardan alınan örneklerdeki mikrobiyal topluluk

4.1.3. Sistemik olarak sağlıklı hastaların kök kanallarının mikrobiyal kompozisyonu

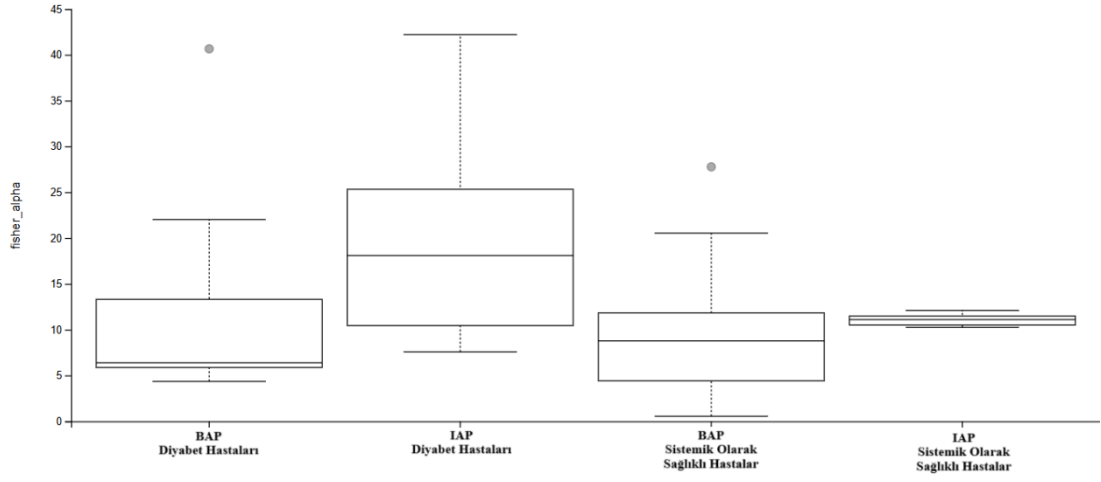
Sistemik olarak sağlıklı 18 hastadan alınan örneklerdeki taksonomik kompozisyon filum ve sınıf seviyesinde Şekil 16'da gösterildi. 18 örnekte 18 filum, 158 cins ve 116 tür tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisinden alınan örneklerde en çok bulunan filumlar sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* olarak tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisinin de en çok bulunan cinsler sırasıyla *Prevotella*, *Veillonella*, *Haemophilus*, *Phocaeicola* ve *Pseudomonas* olarak tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan filumlar sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* olarak tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan cinsler *Pseudomonas*, *Treponema*, *Fusobacterium* ve *Prevotella* olarak tespit edildi.



Şekil 16. Sistemik olarak sağlıklı hastalardan alınan örneklerdeki mikrobiyal topluluk

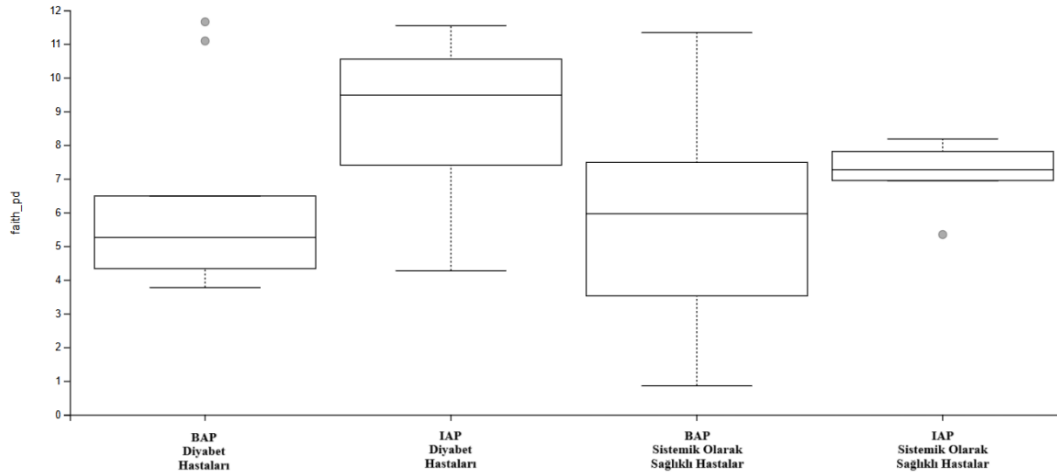
4.2. Alfa Çeşitlilik Analizi

Fisher alpha indeksi ile mikrobiyal çeşitlilik Şekil 17’de gösterildi. Gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi. Diyabetli hastaların birincil ve ısrarcı apikal periodontitis karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.04$).



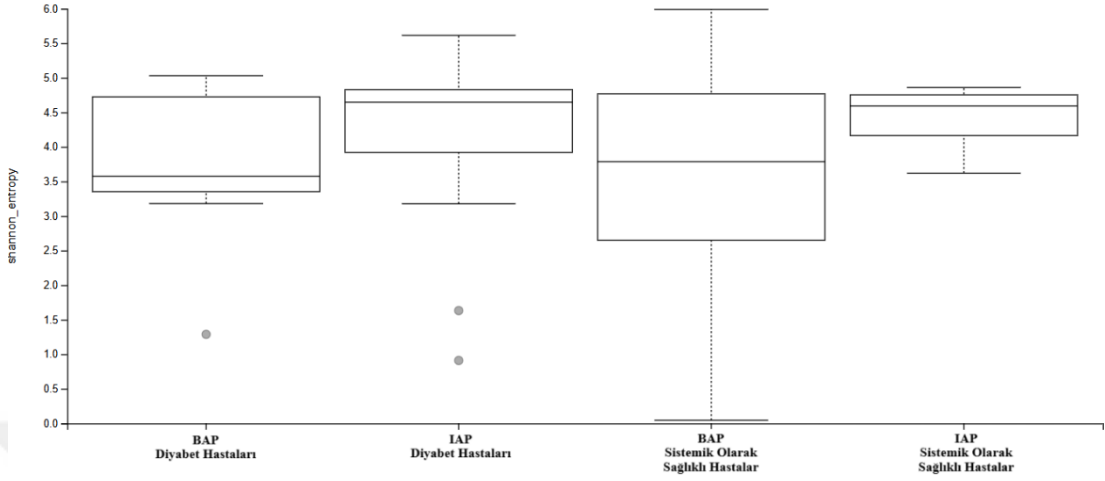
Şekil 17. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Fisher alpha indeks grafiği

Faith's PD indeksi ile mikrobiyal çeşitlilik Şekil 18'de gösterildi. Gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.04$). Diyabetli hastaların ısrarcı apikal periodontitisli örnekleri ile sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisli örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.02$).



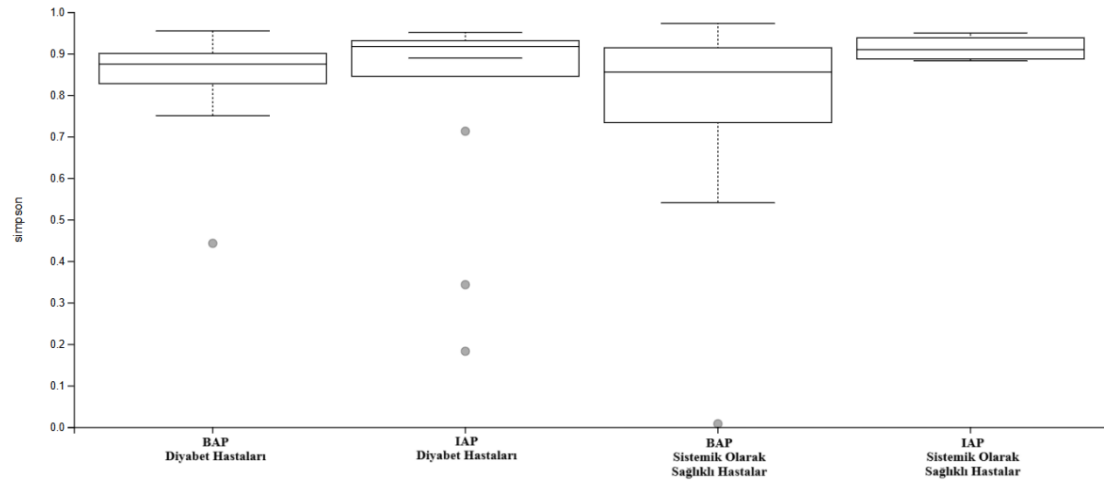
Şekil 17. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Faith's PD indeks grafiği

Shannon-Weaver indeksi ile mikrobiyal çeşitlilik Şekil 19'ae gösterildi. Grupların mikrobiyal topluluklarının çeşitliliği benzer bulundu ($p=0.63$).



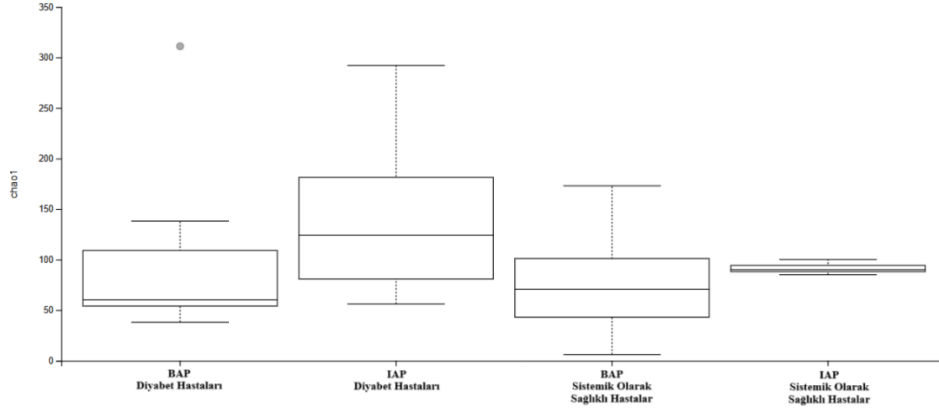
Şekil 18. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Shannon indeks grafiği

Simpson indeks grafiği ile mikrobiyal çeşitlilik Şekil 20'de gösterildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.35$).



Şekil 19. Gruplardaki mikrobiyal çeşitliliği gösteren Simpson indeks grafiği

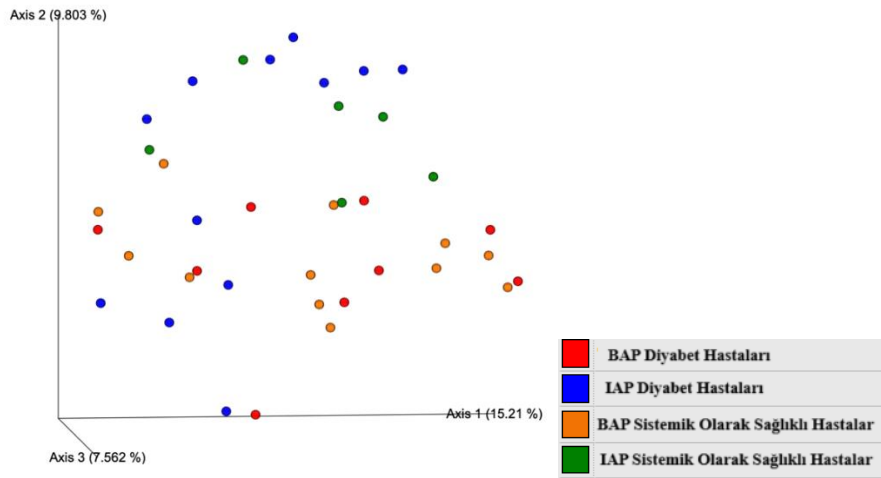
Chao1 zenginlik indeksine göre ile mikrobiyal çeşitlilik Şekil 21’de gösterildi. Grupların mikrobiyal toplulukların zenginliği benzer bulundu ($p=0.10$).



Şekil 20. Gruplardaki mikrobiyal zenginliği gösteren Chao1 indeks grafiği

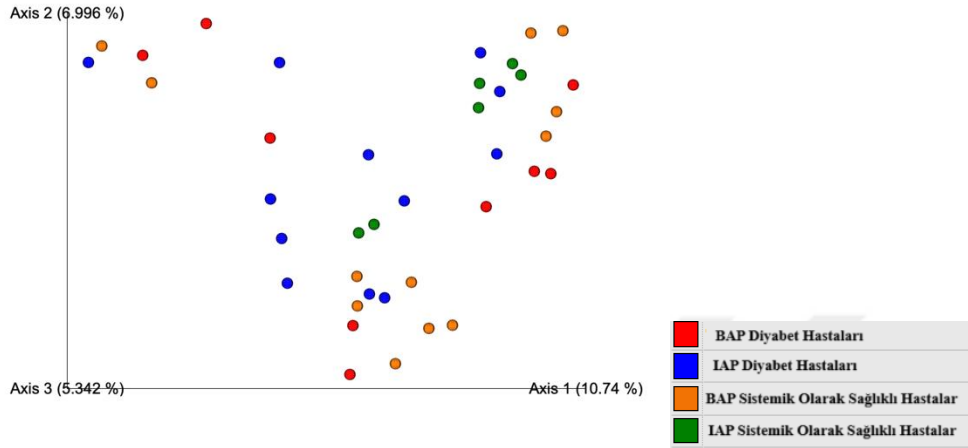
4.3. Beta Çeşitlilik ve PCoA koordinasyon Analizleri

Bray-Curtis indeksi ile diyabetli hastaların birincil ve ısrarcı apikal periodontitisli örneklerin filogenetik uzaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.02$). Bolluk bazlı Bray-Curtis PCoA koordinat analizi Şekil 22’de gösterildi.



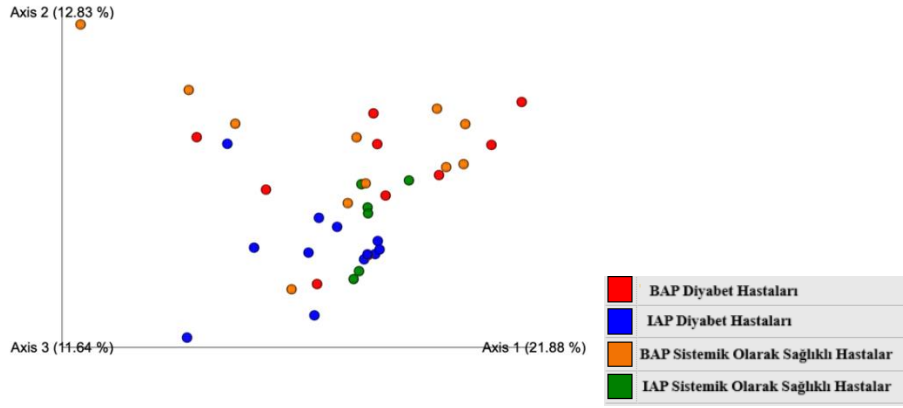
Şekil 21. Bray-Curtis indeksine dayalı grupların mikrobiyotaya topluluk yapılarının koordinat analizi

Jaccard indeksi ile gruplardaki mikrobiyota topluluk yapılarının birbirine yakın alanlarda olduğu tespit edildi ve filogenetik uzaklıklarının arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.23$). Varlık/yokluk bazlı Jaccard PCoA koordinat analizi Şekil 23'te gösterildi.



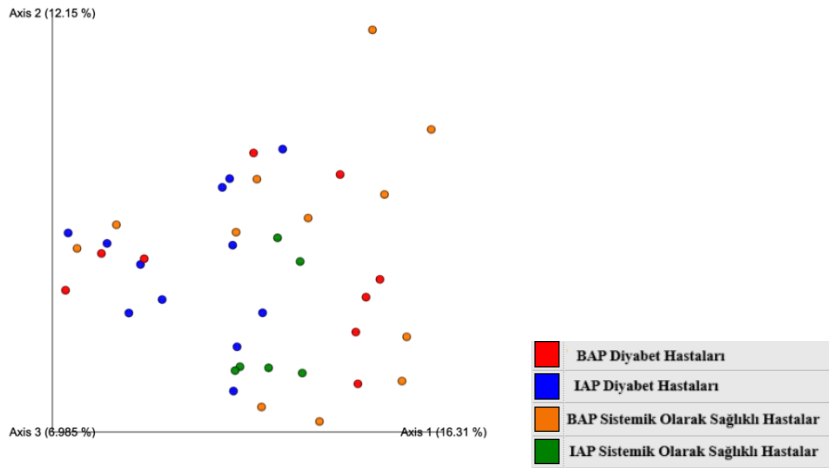
Şekil 22. Jaccard indeksine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının koordinat analizi

Weighted Unifrac mesafe matrisi ile gruplar arasında fark tespit edildi ($p=0.02$). Diyabetli hastaların birincil ve ısrarcı apikal periodontitisli örneklerin mikrobiyal kompozisyonlarının ve diyabetli hastaların ısrarcı apikal periodontitisli ve sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisli örneklerinin mikrobiyal kompozisyonlarının filogenetik uzaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırasıyla, $p=0.02$ ve $p=0.01$). Filogenetik bolluk bazlı Weighted Unifrac PCoA koordinat analizi Şekil 24'te gösterildi.



Şekil 23. Weighted Unifrac mesafe matrisine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının koordinat analizi

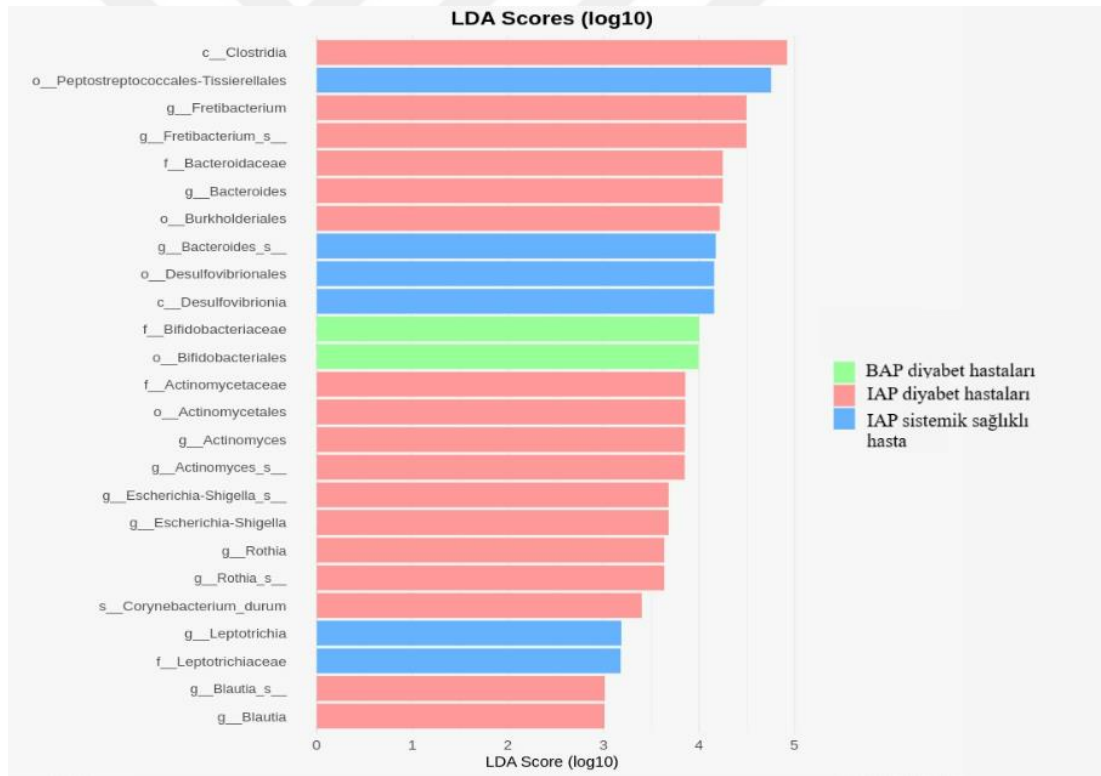
Unweighted Unifrac mesafe matrisi ile diyabetli hastaların ısrarcı apikal periodontitisli ve sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisli örneklerinin mikrobiyal kompozisyonlarının filogenetik uzaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.02$) Filogenetik varlık/yokluk bazlı Weighted Unifrac PCoA koordinat analizi Şekil 25'te gösterildi.



Şekil 24. UnWeighted Unifrac mesafe matrisine dayalı grupların mikrobiyota topluluk yapılarının ana koordinat analizi

4.4. LEfse Analizi

Diyabet hastalığına sahip ısrarcı apikal periodontitisli hastalarda farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *p.Synergistota*, *g.Fretibacterium*, *g.Bacteroides*, *g.Actinomyces*, *g.Escherichia shagella*, *g.Rothia* ve *g.Blautia* olarak belirlendi. Bu taksonlar diyabet hastalığına sahip ısrarcı apikal periodontitisli hastalardan alınan örneklerde belirgin oranda fazla bulundu (LDA>1). Diyabet hastalığına sahip birincil apikal periodontitisli hastalarda farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *f.Bifidobacteraceae* ve *o. Bifidobacteratess* olarak belirlendi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların ısrarcı apikal periodontitisinde farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *p.spirochaetota*, *g.Bacteroides*, *g.Leptotrichiaceae* olarak belirlendi. (LDA>1) (Şekil 26).



Şekil 25. Örneklerin LDA skorlarının histogramı

5. TARTIŞMA

Apikal periodontitis, farklı hücre tiplerinin ve inflamatuvar mediatörlerin periapekte toplanmasıyla oluşan hem doğal hem adaptif bağışıklık sistemlerinin etkinleştirilmesi sonucu periapikal dokunun yıkımına ve ardından periapikal lezyonun oluşmasına sebep olan periapikal doku hastalığıdır. Bu nedenle, apikal periodontitis kök kanal sistemi mikrobiyotası, mikrobiyal virülen etkenler ve konak immün cevabı arasındaki kompleks etkileşimin bir sonucu olarak meydana gelmektedir (84). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile endodontik enfeksiyon ve KVH, otoimmün hastalıklar, Diabetes Mellitus gibi bazı sistemik hastalıklar arasında çift yönlü bir etkileşim olduğu ortaya konmuştur (84, 187). Diabetes Mellitus, insülin salgılanması ve/veya insülin etki mekanizmasındaki hasar kaynaklı ortaya çıkan, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerle karakterize toplumda en sık görülen sistemik kronik metabolik hastalıklardan biridir. Diş pulpasının bütünlüğü üzerinde doğrudan etkiye sahip olan, yara iyileşmesinde zorluklara ve sistemik ve oral belirtilere neden olan hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır (188). Literatürde ağız sağlığı ve Diabetes Mellitus arasındaki ilişki sıklıkla periodontal hastalıklarla ilişkili olarak daha çok araştırılmıştır. Bununla birlikte, endodontik bağlamda deneysel ve klinik çalışmalar, kontrolsüz diyabet hastalarında periapikal lezyonların prevalansının daha yüksek olduğunu da göstermektedir (13, 123, 124). Diyabetli hastalarda özellikle kontrol altında olmayan diyabet varlığında oral bakteri sayısının sağlıklı bireylere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (189). Diyabetli hastaların kök kanal tedavisinin ara seanslarında görülen artan flare-up sıklığının ise kök kanal sistemindeki daha virülen mikroorganizmaların varlığıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (190). Literatürde tip 2 diyabet hastaları ve apikal periodontitis arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların sonucunda ise apikal periodontitis ile Diabetes Mellitus arasında anlamlı bir ilişki olduğu, diyabetli hastalarda diyabetli olmayan hastalara göre daha yüksek apikal periodontitis prevalansı görüldüğü tespit edilmiştir (191-193). Bu yüzden bu tez çalışmasına apikal periodontitis ve Diabetes Mellitus arasındaki ilişkiyi daha doğru tespit edebilmek amacıyla diyabet hastalığı dışında sistemik hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Kök kanalından alınan örneklerde bulunan mikroorganizmaları tespit etmek için kapalı uçlu bir yöntem olan kültür yöntemi ve hem açık hem kapalı uçlu yöntem

olan moleküler yöntemler sıklıkla kullanılmıştır. Kültür yöntemi ile biyofilmlerdeki çoklu türlerin tespitinin yapılamaması, ortamdaki en baskın türün tespitine olanak sağlaması gibi kısıtlılıkları bulunması nedeniyle endodontik mikrobiyotanın bileşimi hakkında derin bir analiz sağlayamamaktadır (127). Endodontik enfeksiyonlardaki mikrobiyal analiz için kullanılan moleküler yöntemlerden PCR-dayalı amplifikasyon metotlarının gelişimi ile geleneksel kültüre dayalı uygulamaların limitasyonlarının üstesinden gelinmiş olsa da çoklu türlerin tespitinde belirli mikroorganizmaları çoğaltabilen özel primerlerin kullanılması sebebiyle bazı kısıtlamaları mevcuttur. Yeni nesil dizileme ile bu kısıtlamalar da aşılmış ve kök kanallarındaki yüksek bakteri çeşitliliğini tespit edilmesine izin verecek diagnostik performans büyük ölçüde iyileştirilmiştir. Pirosekanslama ve Illumina esaslı dizileme yöntemlerinin uygulanmaya başlanmasıyla endodontik mikrobiyotada yüksek bir mikrobiyolojik çeşitlilik tespit edilmiş ve cins seviyesinde sağlıklı veriler ortaya çıkmıştır (194). Bu sebeple bu tez çalışmasında yeni nesil dizileme yöntemi olan Illumina Miseq cihazı ile analiz yöntemi seçilmiştir.

Mikrobiyal örnekleme, rDNA dizilemesinin niteliği ve endodontik mikrobiyotanın belirlenmesi için temel unsurdur. Kriyopulverizasyon ile örnek alma yöntemi son zamanlarda yapılan çalışmalarda kökün apikal 1/3'lük kısmında mikrobiyal komüniteyi belirlemek için daha sık tercih edilmeye başlanmıştır. Bu yöntem ana kök kanalından uzak bölgelerdeki ve kök kanalının apikal kısmındaki bakterileri tespit etme avantajları nedeniyle kullanılmaktadır. Bu örnek alma yönteminin dezavantajı ise *in-vivo* örnek almaya izin vermemesi ve diş toz haline getirilirken dezenfeksiyon sağlanma güçlüğüdür (177). Steril kağıt koniler ile örnek alma yöntemi özellikle biyofilm ve planktonik bakterileri örneklemek için kullanıldığında, kök kanalının apikal kısmına ulaşmadaki kısıtlılıkları ve isthmuslar gibi anatomik varyasyonlar sebebiyle eleştirilmektedir (195). Endodontik eğelerle kök kanal duvarlardan tıraşlama ile örnek alma yöntemi ise steril kâğıt konilerle örnek alma yönteminin bazı kısıtlılıklarının aşılmasını sağlayabilir. Aslında, eğelerle örnekleme kök kanalının apikal kısmına erişimi mümkün kılmakta ve böylece apikal mikrobiyomun örneklenmesine imkan sunmaktadır (169). Eğelerle örnek alma yöntemi, örnekleme işleminden kaynaklanan gecikme olmadığından ve kâğıt konilere göre yerleştirilmesi ve uygulanması daha kolay olduğundan örnek alma işlemi daha rahat uygulanmaktadır. Ancak eğeler ile alınan örneklerin kök kanalının hangi

bölgesinden alındığı belirlenememektedir. Donnermeyer ve ark. (181) yaptıkları çalışmada eğelerle alınan örnekler kâğıt konilerle alınan örneklere kıyasla biraz daha yüksek çeşitlilik sağlamış olsa da anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir. Senges ve ark.'nın yaptığı çalışmada kök kanal dolgu materyali olan gütaperkanın biyofilm formasyonunu ve bakterilerin adezyonunu kolaylaştırdığını tespit etmişler ve bu nedenle mikrobiyolojik çalışmalarda kök kanal dolgusundan da örnek alınmasının gerekliliğini vurgulamışlardır (196). Bu çalışmayı destekler nitelikte Karygianni ve ark. yaptıkları çalışmada kâğıt koniler ile aldıkları örneklerle birlikte kanallardan söktüğü gütaperkaları da incelemişlerdir (197). Bu inceleme sonucunda obtürasyon materyalinin örneklenmesinin ikincil/ısrarcı apikal periodontitis enfeksiyonlarının gerçek mikrobiyal florası hakkında daha net bir fikir vermesi açısından önemli olduğunu bildirmiştir. Bu tez çalışmasında da bu çalışmaların ışığında steril kâğıt koni ile örnek alımı sırasında herhangi bir çözücü kullanılmamış olup sökülen eski gütaperka materyali kâğıt konilerle birlikte eppendorf tüplerin içerisine konularak analiz edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 21'i diyabet hastası 18'i sistemik olarak sağlıklı 39 hastadan alınan 39 örnekte mikrobiyal DNA analizi yapıldı. Örneklerin mikrobiyal analizi 16S rRNA geninin V3-V4 değişken bölgeleri Illumina Miseq platformu kullanılarak sekanslandı.

Çalışmaya dahil edilen diyabet hastalarının 9'u birincil apikal periodontitis 12'si ikincil/ısrarcı apikal periodontitis tanısına sahipti. Diyabetli hastalardan alınan örneklerde; 22 filum, 237 cins, 148 tür tespit edildi. Diyabet hastalarının birincil apikal periodontitisinden alınan örneklerde en çok bulunan filumlar sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* olarak tespit edildi. Diyabet hastalarının ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan filumlar sırasıyla *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* olarak tespit edildi. Diyabet hastalarının birincil apikal periodontitisin de en çok bulunan cinsler sırasıyla *Prevotella*, *Alloiococcus*, *Porphyromonas*, *Phocaeicola* ve *Pseudomonas* olarak tespit edildi. Diyabet hastalarının ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan cinsler *Pseudomonas*, *Alloiococcus*, *Prevotella*, *Fretibacterium* ve *Phocaeicola* olarak tespit edildi. Literatürde diyabet hastalarının birincil ve ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinde yer alan mikroorganizmaların tespit edildiği ve karşılaştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Alloiococcus, diyabet hastalarının birincil ve ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinde en fazla bulunan ikinci cins olarak tespit edildi. Literatürdeki daha önceki kök kanal enfeksiyonlarındaki mikroorganizmaların incelendiği çalışmalarda bu bakteri cinsine rastlanılmamıştır. Tang ve ark. (198) diyabet hastalarının tükürüklerinden aldıkları örneklerin analizi ile oral mikrobiyotayı inceledikleri çalışmalarında *Alloiococcus* cinsini tespit etmişlerdir. Ancak bu bakteri cinsinin diyabet hastalığı ve apikal periodontitis ile ilişkisinin değerlendirilebilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Literatürde diyabetli hastaların kök kanallarındaki mikroorganizmaların araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (14-16, 190).

Fouad ve ark. (14) 24 adet nekrotik pulpaya sahip kök kanallarından 10 bakteriyel patojeni tanımlamak için PCR yöntemini kullanılarak yaptıkları çalışma ile aynı zamanda diyabet hastalarındaki mikroorganizmaları tanımlamayı amaçlamışlardır. İzole edilmesi beklenen 10 mikroorganizma nekrotik kök kanallarında sıklıkla bulunan *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros* ve *Streptococcus* türleri (199), ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarından sık izole edilen *Enterococcus* türleri (4), endodontik enfeksiyonlardan sık bulunan *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Porphyromonas endodontalis* (45, 47) ve PCR yöntemiyle izole edilebilen *T. denticola* ve *B. forsythus* türlerini (162) tespit etmeyi amaçlamıştır. 24 hastanın 6'sının diyabet hastalığına sahip olduğu ve sadece 2 örnekte *P. gingivalis* olduğu tespit edilmiştir. Diyabet ile *P. endodontalis* ve *P. gingivalis* arasında pozitif bir ilişki bulunsa da sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında 21 diyabet hastasından alınan örneklerin 1'inde göreceli olarak düşük oranda *P. gingivalis* tespit edildi.

Fouad ve ark. (15) yaptıkları çalışmada ısrarcı endodontik enfeksiyonlardaki *Enterococcus spp.* varlığını PCR yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Yapılan çalışmada 37 hastanın 8'inde (%22) *Enterococcus spp.* tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmadaki 37 hastanın 6'sı diyabet hastası ve 6 diyabet hastasının 2 tanesinde (%33) *Enterococcus spp.* tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında bu çalışmanın sonucuyla benzer olarak 21 diyabet hastasının 4'ünde (%19) *Enterococcus spp.* varlığı tespit edildi.

Endodontik enfeksiyonlarda sık bulunan *Eubacterium* ve *Streptococcus* varlığını PCR yöntemi kullanılarak araştırılan çalışmada (16) 22 hastanın 16'sı (%73) *Eubacterium* açısından pozitif bulunmuştur. *Eubacterium* türleri içerisinde en fazla bulunan ise *Eubacterium infirmum* (16 hastanın 9'u) olduğu tespit edilmiştir ve *Eubacterium infirmum* endodontik enfeksiyonlarda ilk kez raporlanmıştır. 22 hastanın 9'unda ise *Streptococcus* tespit edilmiştir. *Streptococcus* türleri içerisinde *Streptococcus miller* en fazla bulunan tür olmuştur. Aynı zamanda bu 22 hastanın 5'inde diyabet tanısı bulunmaktadır. Yapılan çalışmada *Eubacterium* spp. varlığının diyabet hastalığıyla arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Bu tez çalışmasında da bu çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak 21 diyabet hastasının 14'ünde (%66) *Eubacterium* pozitif bulunmuştur. *Eubacterium* türleri içerisinde en fazla bulunanlar ise *Eubacterium infirmum* (21 hastanın 14'ü) ve *Eubacterium minutum* (21 hastanın 7'si) olduğu tespit edildi. 21 diyabet hastasının 16'sında *Streptococcus* tespit edildi. *Streptococcus* türleri içerisinde *Streptococcus anginosus* en fazla bulunan tür oldu.

Endodontik enfeksiyonlarla ilişkili mikrobiyal komünitenin belirlenmesi standart tedavi prosedürlerinin oluşturulması için yapılacak ilk basamaktır. Yapılan moleküler çalışmalar, farklı coğrafyalarda yaşayan ve aynı endodontik enfeksiyon türüne sahip bireylerde bulunan mikrobiyotanın, bakteriyel türlerin dağılımı ve sayısı yönünden anlamlı farklılıklar tespit edilebileceğini bildirmişlerdir (200). Kök kanal enfeksiyonlarının temel sebebi bakteriler olmasına rağmen virüsler, mantarlar ve arkealar da bu enfeksiyonların etiolojisinde rol oynamaktadır. Bu tez çalışmasında sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil ve ikincil/ısrarcı apikal periodontitisi arasında taksonomik kompozisyonun karşılaştırılmasında anlamlı bir fark olmadığı bulundu. Hong ve ark. (201) ve Keskin ve ark. (33) yaptıkları çalışmalarda bu sonucu destekler niteliktedir. Literatürde ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında birincil kök kanal enfeksiyonlarına göre daha az sayıda ve daha az cins bakteri bulunduğunu, birincil kök kanal enfeksiyonlarının daha kompleks bir yapıda olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (202, 203). Tzanetakı ve ark. ise ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonlarında daha yüksek bir çeşitlilik bildirdi (204). Bu tutarsızlıkların çalışmalarda farklı yeni nesil dizileme yöntemi kullanılmasından ve örneklem büyüklüğünün farklılığı kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmaya dahil edilen sistemik olarak sağlıklı hastaların 6'sı birincil apikal periodontitis, 12'si ikincil/ısrarcı apikal periodontitis tanısına sahipti. Sistemik olarak sağlıklı hastalardan alınan örneklerde; 18 filum, 158 cins ve 116 tür tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisinden alınan örneklerde en çok bulunan filumlar sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* olarak tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan filumlar sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, olarak tespit edildi. Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre sistemik olarak sağlıklı hastaların hem birincil hem ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli dişlerden alınan örneklerde en fazla bulunan filum *Bacteroidetes* olarak tespit edildi. Brito ve ark. (205) ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli 15 diştten aldıkları örnekleri Illumina Miseq ile analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda Bacteroidetes en fazla bulunan filum, *Firmicutes* en fazla bulunan ikinci filum olarak tespit edilmiştir. Hong ve ark. (201), 10 birincil ve 8 ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli hastadan kağıt koni ile alınan örnekleri YND yöntemi olan pirosekanslama ile analiz etmişlerdir. Çalışmalarında bu tez çalışmasının sonuçlarıyla uyumlu olarak *Bacteroidetes*'i (%29.6) en fazla bulunan filum olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada *Firmicutes*'i (%23.2) en fazla bulunan ikinci filum olarak bildirmişlerdir. Tzanetakis ve ark. (204) kağıt koni ile aldıkları örnekleri pirosekanslama yöntemiyle analizi sonucu birincil ve ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli değerlendirdikleri çalışmalarında her iki periodontitis grubunda en fazla bulunan filum *Bacteroidetes* olarak tespit etmişlerdir. En fazla bulunan ikinci filumu *Firmicutes* olarak bildirmişlerdir. Li ve ark. (11) 7 adet birincil apikal periodontitisli hastadan alınan örneği pirosekanslama ile analizi sonucu *Bacteroidetes* filumunu %59.4 oranla en sık bulunan filum olduğunu bildirmişlerdir.

Tawfik ve ark. (206) birincil apikal periodontitise neden olan mikroorganizmaların tespiti için *in vivo* örnek alınmasının ardından Illumina MiSeq cihazı ile örneklerin analiz edildiği 19 hastanın dahil edildiği bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda en sık bulunan filum olarak *Firmicutes* tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasıyla benzer olarak aynı örnek alma yöntemi ve aynı dizileme yöntemi kullanılmasına rağmen farklı sonuç elde edilmesinin nedeni çalışmaların farklı coğrafi bölgelerde yürütülmeleri, bireyler arası muhtemel mikrobiyaya farklılıkları neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Özok ve ark. birincil apikal periodontitisli 23 hastadan kriyopulverizasyon ile aldıkları örnekleri inceledikleri çalışmalarında en

fazla sayıda bulunan bakteri filumu olarak Firmicutes'i rapor etmişlerdir (169). Bu çalışmada farklı dizileme yöntemlerinin kullanılması, farklı örnek alma yönteminin kullanılması ve 16S rRNA'nın farklı hiperdeğişken bölgesini (V5-V6) kullanılmış olması sonuçtaki farklılığın kaynağı olabilir Santos ve ark. (207) 8 kronik apikal periodontitisli ve 9 semptomatik apikal apselli hastalardan kağıt kon ile alınan örnekleri pirosekanslama aracılığıyla analiz ettikleri çalışmada en fazla bulunan filum *Firmicutes* olmuştur. Bu tez çalışmasına semptomatik dişler dahil edilmediği ve farklı çalışma grupları oluşturulduğu için ve farklı dizileme yöntemi kullanılmış olması sonuçtaki farklılığın kaynağı olabilir.

Siqueira ve ark. (208) yaptıkları çalışmada ikincil/ısrarcı apikal periodontitisi bulunan 10 hastadan kriyopulverizasyon ile aldıkları örnekleri Illumina MiSeq cihazı ile analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Proteobacteria* en fazla bulunan filum olmuştur. Sanchez-Sanhueza ve ark. (209) ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli 24 hastadan aldıkları örnekleri Illumina MiSeq cihazı ile analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Proteobacteria* en fazla bulunan filum olmuştur. Bu tez çalışmasında ise *Proteobacteria* en sık görülen üçüncü filum olarak tespit edildi. Sonuçlar arasındaki bu farklılık farklı örnek alma yönteminin kullanılması ve çalışmanın farklı coğrafi bölgelerde yürütülmesi olabileceğini düşünmekteyiz.

Literatürdeki çeşitli çalışmalar incelendiğinde hem birincil hem ikincil/ısrarcı apikal periodontitisli hastalardan alınan örneklerde farklı sıralamalarda olsa dahi en sık bulunan 3 filum *Bacteroidetes*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* olduğu görülmektedir.

Sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisin de en çok bulunan cinsler sırasıyla *Prevotella*, *Veillonella*, ve *Haemophilus* ve *Phocaeicola* olarak tespit edildi. Sistemik olarak sağlıklı hastaların ikincil/ısrarcı apikal periodontitisinden alınan örneklerde ise en çok bulunan cinsler *Pseudomonas*, *Treponema*, *Fusobacterium*, ve *Prevotella* olarak tespit edildi.

Siquera ve ark. (208) ikincil/kalıcı apikal periodontitisli 10 hastadan kriyopulverizasyonla aldıkları örnekler Illumina MiSeq cihazında incelenmiştir. *Pseudomonas* ve *Fusobacterium* en fazla bulunan cinsler olarak tespit edildi.

Zapata ve ark. (202) yaptıkları çalışmada birincil apikal periodontitise sahip 39 diş, ikincil/ısrarcı apikal periodontitise sahip 40 diş çalışmaya dahil edilmiştir.

Örnekler Illumina Miseq cihazında incelenmiştir. Birincil apikal periodontitiste *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Lactucaseibacillus* ve *Dialister* türleri daha fazla bulunmuştur. İkincil/ısrarcı apikal periodontitiste *Fusobacterium* en baskın görülen bakteri türüdür.

Tawfik ve ark. (204) yaptıkları çalışmada cins düzeyinde en fazla bulunan bakteri *Prevotella* olmak üzere *Bacillus*, *Porphyromonas*, *Streptococcus* ve *Bacteroides* en çok bulunan cinsler olmuştur. Aynı zamanda bu çalışmayla uyumlu olarak *Prevotella* en sık bulunan cins olarak tespit edilmiştir.

Donnermeyer ve ark. (181) kâğıt koniler ve eğerler ile 84 kök kanalından örnek aldıkları çalışmalarında örnekleri 16 S rRNA amplikon dizilimini Illumina MiSeq cihazı ile analiz etmişlerdir. *Fusobacterium* ve *Prevotella* grubu her iki örnek alma yönteminde de en fazla bulunan bakteri türü olmuştur.

Enterococcus, gastrointestinal ve genitoüriner sistemlerde sıklıkla görülen mikroorganizmalar arasında olmalarıyla birlikte ağız boşluğunda, periodontitis hastalarında, kök kanal enfeksiyonlarıyla da ilişkili olduğu tespit edilen gram pozitif fakültatif bir mikroorganizma türüdür (210). Bu tez çalışmasında ise 21 diyabet hastasının 4'ünde göreceli olarak düşük oranlarda *Enterococcus spp.* varlığı tespit edildi. Siqueira ve ark. (208) yaptıkları çalışmada 10 adet ikincil/ısrarcı kök kanal enfeksiyonu bulunan dişten kriyopulverizasyon yöntemi ile aldıkları örnekleri Illumina Miseq cihazında analiz etmişlerdir. *Enterococcus spp.* 4 örnekte göreceli düşük bollukta tespit edilmiştir. Keskin ve ark. (33) yaptıkları çalışmada ikincil/ısrarcı endodontik enfeksiyonlarda primer endodontik enfeksiyonlara göre daha fazla sayıda ve daha yüksek oranda *Enterococcus spp.* tespit etmişlerdir. Tzanetakakis ve ark.'nın yaptıkları çalışmada (204) ise *Enterococcus spp.* bulunma oranı %0.01 tespit edilmiştir. Peciulienne ve ark. (211) kronik apikal periodontitisli kök kanal tedavisi bulunan 40 diş ile yaptıkları çalışmada *Enterococcus* kök kanalında bulunma oranlarını %70 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmaların sonuçları arasındaki uyumsuzlukların farklı mikrobiyolojik tekniklerin kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Arkealar, oral mikrobiyomun çok küçük bir kısmını oluştururlar ve oral mikrobiyota için patojen olarak kabul edilmemektedir. Bununla birlikte periodontal

hastalıkla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Bu tez çalışmasında 39 örneğin 5'inde *Methanobrevibacter* arkea türü tespit edilmiştir. Bu 5 örneğin 4'ü ısrarcı apikal periodontitisli hastalara aitken 1'i birincil apikal periodontitis tipine sahipti ve *Methanobrevibacter wolinii* tespit edildi. Lepp ve ark. (212) yaptıkları çalışma ile isimlendirilmiş arkea türü olan *Methanobrevibacter oralis* ve henüz isimlendirilmemiş *Methanobrevibacter* sınıfı üyesi; *M. curvum/congolense* ve *M. mazei* tespit etmişlerdir. Vianna ve ark. yaptıkları çalışmada (32) birincil apikal periodontitise sahip 20 hastanın 5'inde *M. oralis* benzeri filotiplerin tespit etmişlerdir. Jiang ve ark. (213) yaptıkları çalışma ile birincil apikal periodontitisli 42 örneğin 16'sında (%38) , ısrarcı apikal periodontitisli 35 örneğin 6'sında (%17) arkea tespit etmişlerdir. Subramanian ve ark. ısrarcı apikal periodontitisli 34 dişin apikal rezeksiyonu sonrası periapikal lezyonu inceledikleri çalışmalarında 1 örnekte *M. oralis* tespit etmişlerdir (214).

Bu tez çalışmasında alınan örneklerde bakteriyel DNA tespit edildikten sonra mikrobiyomun çeşitlilik ve zenginlik karşılaştırması Alfa tür çeşitlik indeksleri olan Fisher alpha, Faith's PD, Shannon ve Simpson ve tür zenginlik indeksi Chao1 ile değerlendirildi. Diyabetli ve sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil ve ikincil/ısrarcı apikal periodontitislerinin karşılaştırılması sonucu tür çeşitlilik indeksleri Shannon ve Simpson ve tür zenginlik indeksi Chao1 mikrobiyal kompozisyonun benzer olduğunu gösterdi. Faith's PD tür çeşitlilik analizi ile anlamlı fark bulundu. Fisher alpha tür çeşitlilik indeksinde diyabetli hastaların birincil ve ısrarcı apikal periodontitislerinde mikrobiyal çeşitlilik açısından anlamlı fark bulundu.

Bu çalışmada tespit edilen mikrobiyom beta çeşitlilik indeksi Jaccard analiziyle filogenetik uzaklığın gruplar arasında benzer olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir. Bray-Curtis ve Weighted Unifrac indeksleri ile diyabet hastalarının birincil ve ısrarcı apikal periodontitislerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Bu sonuç ve Fisher alpha indeksi sonucu nedeniyle çalışmanın sıfır hipotezlerinden biri olan diyabetli hastaların birincil ve ısrarcı kök kanal enfeksiyonları arasında mikrobiyal komünite açısından fark olmadığı hipotezi reddedilmiştir.

Çalışmanın LEfse analizi sonuçlarına göre diyabet hastalığına sahip ısrarcı apikal periodontitisli hastalarda farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *p.Synergistota*, *g.Fretibacterium*, *g.Bacteroides*, *g.Actinomyces*, *g.Escherichia shagella*, *g.Rothia* ve

g.Blautia olarak belirlendi. Bu taksonlar diyabet hastalığına sahip ısrarcı apikal periodontitisli hastalardan alınan örneklerde belirgin oranda fazla bulundu (LDA>1). Sistemik olarak sağlıklı hastaların ısrarcı apikal periodontitisinde farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *p.spirochaetota*, *g.Bacteroides*, *g.Leptotrichiaceae* olarak belirlendi. Bu taksonlar sistemik olarak sağlıklı ısrarcı apikal periodontitisli hastalardan alınan örneklerde belirgin oranda fazla bulundu (LDA>1).

Bu tez çalışması ile diğer çalışmalar arasında baskın filum ve cins açısından birçok benzerlik mevcuttur ancak bakterilerin göreceli bollukları çalışmaya göre değişmektedir. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar coğrafi farklılıklar, örnekleme büyüklüğünün farklılığından, örnek alma yönteminin farklılığından, farklı dizileme yönteminin kullanılmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Diyabet hastalarının birincil apikal periodontitisinde en baskın filumlar sırasıyla; *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, ısrarcı apikal periodontitisinde en baskın filumlar; *Firmicutes*, *Proteobacteria* ve *Bacteroidetes* olarak tespit edildi.
2. Diyabet hastalarının birincil apikal periodontitisinde en baskın cinsler sırasıyla; *Prevotella*, *Alloiococcus*, *Porphyromonas*, *Phocaeicola* ısrarcı apikal periodontitisinde en baskın cinsler *Pseudomonas*, *Alloiococcus*, *Prevotella* olarak tespit edildi.
3. 5 örnekte *Methanobrevibacter* arkea tespit edildi.
4. Sistemik olarak sağlıklı hastaların birincil apikal periodontitisinde ve ısrarcı apikal periodontitisinde en baskın filumlar sırasıyla; *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* olarak tespit edildi.
5. Sistemik olarak sağlıklı hastalarda birincil apikal periodontitisinde cins düzeyinde *Prevotella*, *Veillonella*, *Haemophilus*, *Phocaeicola*, ısrarcı apikal periodontitisinde *Pseudomonas*, *Treponema*, *Fusobacterium* olarak tespit edildi.
6. Diyabetli ve sistemik olarak sağlıklı hastalardaki birincil apikal periodontitisli dişlerin taksonomik kompozisyonunun çeşitliliği benzer bulundu.
7. Diyabetli ve sistemik olarak sağlıklı hastalardaki ısrarcı apikal periodontitisli dişlerin taksonomik kompozisyonunun çeşitliliği benzer bulundu
8. Diyabetli hastalardaki birincil ve ısrarcı apikal periodontitisli dişlerin mikrobiyal kompozisyonunun alfa (Fisher alpha ve Faith's PD) ve beta çeşitlilik (Bray-Curtis) analizinde farklılık bulundu.
9. Sistemik olarak sağlıklı hastalardaki birincil ve ısrarcı apikal periodontitisli dişlerin taksonomik kompozisyonu benzer bulundu.
10. Diyabet hastalarında sistemik olarak sağlıklı hastalara göre filum, cins ve tür düzeyinde daha fazla bakteri tespit edildi.
11. Birincil apikal periodontitisli dişlerden alınan örneklerde *Bacteroidetes* en baskın filum, *Prevotella* en baskın cins olarak tespit edildi.

12. İkincil/ısrarcı apikal periodontitisli dişlerden alınan örneklerde *Bacteroidetes* en baskın filum, *Pseudomonas* en baskın cins olarak tespit edilmiştir.

13. Diyabetli ısrarcı apikal periodontitis hastalarında farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *p.Synergistota*, *g.Fretibacterium*, *g.Bacteroides*, *g.Actinomyces*, *g.Escherichia shagella*, *g.Rothia* ve *g.Blautia* tespit edildi.

14. Diyabet hastalığına sahip birincil apikal periodontitisli hastalarda farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *f.Bifidobacteraceae* ve *o. Bifidobacteratess* olarak belirlendi.

15. Sistemik olarak sağlıklı hastaların ısrarcı apikal periodontitisinde farklılığı oluşturan biyobelirteçler; *p.spirochaetota*, *g.Bacteroides*, *g.Leptotrichiaceae* olarak belirlendi.

7. KAYNAKÇA

1. Nair P. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249-81.
2. Siqueira Jr J, Rôças I. Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res.* 2009;88(11):969-81.
3. Pacheco LN. Etiologia e tratamento das infecções endodônticas. Egas Moniz School of Health & Science (Portugal); 2019.
4. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31(1):1-7.
5. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod.* 2000;26(10):593-5.
6. Khalighinejad N, Aminoshariae MR, Aminoshariae A, Kulild JC, Mickel A, Fouad AF. Association between systemic diseases and apical periodontitis. *J Endod.* 2016;42(10):1427-34.
7. Mindiola MJ, Mickel AK, Sami C, Jones JJ, Lalumandier JA, Nelson SS. Endodontic treatment in an American Indian population: a 10-year retrospective study. *J Endod.* 2006;32(9):828-32.
8. Nocker A, Richter-Heitmann T, Montijn R, Schuren F, Kort R. Discrimination between live and dead cells in bacterial communities from environmental water samples analyzed by 454 pyrosequencing. *Int Microbiol.* 2010;13(2):59-65.
9. Ruvière DB, Leonardo MR, da Silva LAB, Ito IY, Nelson-Filho P. Assessment of the microbiota in root canals of human primary teeth by checkerboard DNA-DNA hybridization. *J Dent Child.* 2007;74(2):118-23.
10. Munson M, Pitt-Ford T, Chong B, Weightman A, Wade W. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res.* 2002;81(11):761-6.
11. Li L, Hsiao W, Nandakumar R, Barbuto S, Mongodin E, Paster B, et al. Analyzing endodontic infections by deep coverage pyrosequencing. *J Dent Res.* 2010;89(9):980-4.
12. López-López J, Jané-Salas E, Estrugo-Devesa A, Velasco-Ortega E, Martín-González J, Segura-Egea JJ. Periapical and endodontic status of type 2 diabetic patients in Catalonia, Spain: a cross-sectional study. *J Endod.* 2011;37(5):598-601.

13. Bender I, Seltzer S, Freedland J. The relationship of systemic diseases to endodontic failures and treatment procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1963;16(9):1102-15.
14. Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, et al. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol.* 2002;40(9):3223-31.
15. Fouad AF, Zerella J, Barry J, Spångberg LS. Molecular detection of Enterococcus species in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(1):112-8.
16. Fouad AF, Kum KY, Clawson M, Barry J, Abenoja C, Zhu Q, et al. Molecular characterization of the presence of Eubacterium spp. and Streptococcus spp. in endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(4):249-55.
17. De la Torre-Luna R, Domínguez-Pérez RA, Guillén-Nepita AL, Ayala-Herrera JL, Martínez-Martínez RE, Romero-Ayala ME, et al. Prevalence of Candida albicans in primary endodontic infections associated with a higher frequency of apical periodontitis in type two diabetes mellitus patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39:131-8.
18. Gomes CC, Guimaraes LS, Pinto LCC, Camargo GAdCG, Valente MIB, Sarquis MIDM. Investigations of the prevalence and virulence of Candida albicans in periodontal and endodontic lesions in diabetic and normoglycemic patients. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(3):274-81.
19. Alekseyev YO, Fazeli R, Yang S, Basran R, Maher T, Miller NS, Remick D. A next-generation sequencing primer—how does it work and what can it do? *Acad Pathol.* 2018;5:2374289518766521.
20. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010;192(19):5002-17.
21. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med.* 2016;8:1-11.
22. Hattori M, Taylor TD. The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Res.* 2009;16(1):1-12.
23. Siqueira J, Rôças IN, Ricucci D, Hülsmann M. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. *Br Dent J.* 2014;216(6):305-12.
24. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J.* 2022;55:512-30.

25. Sabeti M, Valles Y, Nowzari H, Simon J, Kermani-Arab V, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein–Barr virus DNA transcription in endodontic symptomatic lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(2):104-8.
26. Slots J, Sabeti M, Simon JH. Herpesviruses in periapical pathosis: an etiopathogenic relationship? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96(3):327-31.
27. Krom B, Kidwai S, Ten Cate J. Candida and other fungal species: forgotten players of healthy oral microbiota. *J Dent Res.* 2014;93(5):445-51.
28. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Lopes HP, Elias CN, de Uzeda M. Fungal infection of the radicular dentin. *J Endod.* 2002;28(11):770-3.
29. Sen B, Safavi K, Spangberg L. Ege and Farmington: Growth patterns of *Candida albicans* in relation to radicular dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997; 84: 68-73.
30. Waltimo T, Sirén E, Orstavik D, Haapasalo M. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J.* 1999;32(2):94-8.
31. Eckburg PB, Lepp PW, Relman DA. Archaea and their potential role in human disease. *Infect Immun.* 2003;71(2):591-6.
32. Vianna M, Conrads G, Gomes B, Horz H. Identification and quantification of archaea involved in primary endodontic infections. *J Clin Microbiol.* 2006;44(4):1274-82.
33. Keskin C, Demiryürek EÖ, Onuk EE. Pyrosequencing analysis of cryogenically ground samples from primary and secondary/persistent endodontic infections. *J Endod.* 2017;43(8):1309-16.
34. Zarco M, Vess T, Ginsburg G. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis.* 2012;18(2):109-20.
35. Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S. Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(5):384-90.
36. Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto C, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19(2):71-6.
37. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Checkerboard DNA-DNA hybridization analysis of endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89(6):744-8.

38. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992;7(5):257-62.
39. Siqueira Jr JF. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(3):281-93.
40. Rôças I, Siqueira Jr J. Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(11):3599-606.
41. Jung I-Y, Choi B-k, Kum K-Y, Roh B-D, Lee S-J, Lee C-Y, Park D-S. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. *J Endod.* 2000;26(10):599-604.
42. Seltzer S, Farber PA. Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78(5):634-45.
43. Lana M, Ribeiro-Sobrinho A, Stehling R, Garcia G, Silva B, Hamdan J, et al. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16(2):100-5.
44. Dougherty W, Bae K, Watkins B, Baumgartner J. Black-pigmented bacteria in coronal and apical segments of infected root canals. *J Endod.* 1998;24(5):356-8.
45. Gomes B, Drucker D, Lilley J. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J.* 1994;27(6):291-8.
46. Griffiee MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW. The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;50(5):457-61.
47. Baumgartner JC, Falkler WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod.* 1991;17(8):380-3.
48. Bae K-S, Baumgartner JC, Shearer TR, David LL. Occurrence of *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* in infections of endodontic origin. *J Endod.* 1997;23(10):620-3.
49. Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. *J Endod.* 1989;15(1):13-9.
50. MILLER M. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dent Cosmos.* 1984;36:505-28.
51. Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med.* 2013;15:e7.
52. Chan E, McLaughlin R. Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiol Immunol: Mini-review.* 2000;15(1):1-9.

53. Rôças I, Siqueira J, Andrade A, Uzeda M. Oral treponemes in primary root canal infections as detected by nested PCR. *Int Endod J.* 2003;36(1).
54. Brook I, Grimm S, Kielich RB. Bacteriology of acute periapical abscess in children. *J Endod.* 1981;7(8):378-80.
55. Newman MG, Sims TN. The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess. *J Periodontol.* 1979;50(7):350-4.
56. Siqueira Jr JF, Rôças I. Detection of Filifactor alocis in endodontic infections associated with different forms of periradicular diseases. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(4):263-5.
57. Xia T, Baumgartner JC. Occurrence of Actinomyces in infections of endodontic origin. *J Endod.* 2003;29(9):549-52.
58. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Polymerase chain reaction–based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):85-94.
59. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Aboim MC, Rosado AS. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial communities associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(6):741-9.
60. Sakamoto M, Siqueira Jr J, Rôças I, Benno Y. Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(4):275-81.
61. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KR. Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004;30(5):315-20.
62. Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod.* 2008;34(5):537-40.
63. Henriques LCF, de Brito LCN, Tavares WLF, Teles RP, Vieira LQ, Teles FRF, Sobrinho APR. Microbial ecosystem analysis in root canal infections refractory to endodontic treatment. *J Endod.* 2016;42(8):1239-45.
64. Love R. Enterococcus faecalis—a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001;34(5):399-405.
65. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(1):86-93.

66. de Paz LC, Svensäter G, Dahlén G, Bergenholtz G. Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;100(2):232-41.
67. Rôças IN, Siqueira Jr JF. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol.* 2012;50(5):1721-4.
68. Nair PR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(6):348-81.
69. Langeland K. Tissue response to dental caries. *Endod Dent Traumatol.* 1987;3(4):149-71.
70. Buonavoglia A, Zamparini F, Lanave G, Pellegrini F, Diakoudi G, Spinelli A, et al. Endodontic microbial communities in apical periodontitis. *J Endod.* 2023;49(2):178-89.
71. Nair PR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000.* 1997;13(1):121-48.
72. Abbott PV. Classification, diagnosis and clinical manifestations of apical periodontitis. *Endodontic topics.* 2004;8(1):36-54.
73. Graunaite I, Lodiene G, Maciulskiene V. Pathogenesis of apical periodontitis: a literature review. *J Oral Maxillofac Res.* 2011;2(4).
74. Portenier I, Waltimo TM, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*—the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. *Endodontic topics.* 2003;6(1):135-59.
75. Nivens DE, Ohman DE, Williams J, Franklin MJ. Role of alginate and its O acetylation in formation of *Pseudomonas aeruginosa* microcolonies and biofilms. *J Bacteriol.* 2001;183(3):1047-57.
76. Caldwell DE, Atuku E, Wilkie DC, Wivcharuk KP, Karthikeyan S, Korber DR, et al. Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms. *Adv Dent Res.* 1997;11(1):4-13.
77. Ricucci D, Siqueira Jr JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010;36(8):1277-88.
78. Figdor D. Apical periodontitis: a very prevalent problem. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2002;94(6).
79. Miller W. Diseases of the human body which have been traced to the action of mouth-bacteria. *Am J Dent Sci.* 1891;25(7):311.

80. Pasqualini D, Bergandi L, Palumbo L, Borraccino A, Dambra V, Alovisi M, et al. Association among oral health, apical periodontitis, CD14 polymorphisms, and coronary heart disease in middle-aged adults. *J Endod.* 2012;38(12):1570-7.
81. Liljestrand J, Mäntylä P, Paju S, Buhlin K, Kopra K, Persson G, et al. Association of endodontic lesions with coronary artery disease. *J Dent Res.* 2016;95(12):1358-65.
82. Segura-Egea JJ, Jimenez-Moreno E, Calvo-Monroy C, Ríos-Santos JV, Velasco-Ortega E, Sánchez-Domínguez B, et al. Hypertension and dental periapical condition. *J Endod.* 2010;36(11):1800-4.
83. Wang C-H, Chueh L-H, Chen S-C, Feng Y-C, Hsiao CK, Chiang C-P. Impact of diabetes mellitus, hypertension, and coronary artery disease on tooth extraction after nonsurgical endodontic treatment. *J Endod.* 2011;37(1):1-5.
84. Niazi SA, Bakhsh A. Association between endodontic infection, its treatment and systemic health: a narrative review. *Medicina.* 2022;58(7):931.
85. Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L. Anaerobic bacteremia and fungemia in patients undergoing endodontic therapy: an overview. *Ann Periodontol.* 1998;3(1):281-7.
86. Bender I, Seltzer S, Yermish M. The incidence of bacteremia in endodontic manipulation: preliminary report. *J Endod.* 2003;29(11):697-700.
87. Henderson B, Wilson M. Commensal communism and the oral cavity. *J Dent Res.* 1998;77(9):1674-83.
88. Gendron R, Grenier D, Maheu-Robert L-F. The oral cavity as a reservoir of bacterial pathogens for focal infections. *Microbes Infect.* 2000;2(8):897-906.
89. Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, de Queiróz AOS, Ervolino E, Sumida DH, et al. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *J Endod.* 2016;42(5):747-51.
90. Samuel RO, Gomes-Filho JE, Azuma MM, Sumida DH, de Oliveira SHP, Chiba FY, et al. Endodontic infections increase leukocyte and lymphocyte levels in the blood. *Clin Oral Investig.* 2018;22:1395-401.
91. Zhang J, Huang X, Lu B, Zhang C, Cai Z. Can apical periodontitis affect serum levels of CRP, IL-2, and IL-6 as well as induce pathological changes in remote organs? *Clin Oral Investig.* 2016;20:1617-24.

92. Joseph P, Leong D, McKee M, Anand SS, Schwalm J-D, Teo K, et al. Reducing the global burden of cardiovascular disease, part 1: the epidemiology and risk factors. *Circ Res.* 2017;121(6):677-94.
93. Berlin-Broner Y, Febbraio M, Levin L. Association between apical periodontitis and cardiovascular diseases: a systematic review of the literature. *Int Endod J.* 2017;50(9):847-59.
94. Aminoshariae A, Kulild JC, Mickel A, Fouad AF. Association between systemic diseases and endodontic outcome: a systematic review. *J Endod.* 2017;43(4):514-9.
95. Caplan D, Chasen J, Krall E, Cai J, Kang S, Garcia R, et al. Lesions of endodontic origin and risk of coronary heart disease. *J Dent Res.* 2006;85(11):996-1000.
96. An GK, Morse DE, Kunin M, Goldberger RS, Psoter WJ. Association of radiographically diagnosed apical periodontitis and cardiovascular disease: a hospital records-based study. *J Endod* 2016;42(6):916-20.
97. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redán J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens.* 2013;31(10):1925-38.
98. Tinsley JH, South S, Chiasson VL, Mitchell BM. Interleukin-10 reduces inflammation, endothelial dysfunction, and blood pressure in hypertensive pregnant rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2010;298(3):R713-R9.
99. Heimdahl A, Hall G, Hedberg M, Sandberg H, Söder P, Tuner K, Nord C. Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol.* 1990;28(10):2205-9.
100. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *J Intern Med.* 2015;278(4):369-95.
101. Lai Y, Dong C. Therapeutic antibodies that target inflammatory cytokines in autoimmune diseases. *Int Immunol.* 2016;28(4):181-8.
102. McInnes IB, Buckley CD, Isaacs JD. Cytokines in rheumatoid arthritis—shaping the immunological landscape. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(1):63-8.

103. Ideo F, Niazi S, Mezzena S, Mannocci F, Cotti E. Prevalence of apical periodontitis in patients with autoimmune diseases under immunomodulators: a retrospective cohort study. *J Endod.* 2022;48(6):722-9.
104. Cotti E, Mezzena S, Schirru E, Ottonello O, Mura M, Ideo F, et al. Healing of apical periodontitis in patients with inflammatory bowel diseases and under anti-tumor necrosis factor alpha therapy. *J Endod.* 2018;44(12):1777-82.
105. Castellanos-Cosano L, Machuca-Portillo G, Sánchez-Domínguez B, Torrés-Lagares D, López-López J, Segura-Egea JJ. High prevalence of radiolucent periapical lesions amongst patients with inherited coagulation disorders. *Haemophilia.* 2013;19(3):e110-e5.
106. WA P. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993;94(6):646-50.
107. Pestana de Vasconcelos N, Martins IS, Afonso AS, Braga AC, Pina-Vaz I. Osteoporosis and Apical Periodontitis Prevalence: A Systematic Review. *Dent J.* 2024;12(8):272.
108. Cadoni E, Ideo F, Marongiu G, Mezzena S, Frigau L, Mela Q, et al. Periapical status in patients affected by osteoporosis: A retrospective clinical study. *Clin Exp Dent Res.* 2022;8(5):1068-75.
109. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global etiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(2):88-98.
110. Leite RS, Marlow NM, Fernandes JK, Hermayer K. Oral health and type 2 diabetes. *Am J Med Sci.* 2013;345(4):271-3.
111. Yalçın M, Yetkin İ. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kilavuzu-2022. 2022.
112. Bender I, Bender A. Diabetes mellitus and the dental pulp. *J Endod.* 2003;29(6):383-9.
113. Lima S, Grisi D, Kogawa E, Franco O, Peixoto V, Gonçalves-Júnior J, et al. Diabetes mellitus and inflammatory pulpal and periapical disease: a review. *Int Endod J.* 2013;46(8):700-9.
114. Garber SE, Shabahang S, Escher AP, Torabinejad M. The effect of hyperglycemia on pulpal healing in rats. *J Endod.* 2009;35(1):60-2.
115. Balint E, Szabo P, Marshall C, Sprague S. Glucose-induced inhibition of in vitro bone mineralization. *Bone.* 2001;28(1):21-8.

116. Takahashi. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J.* 1998;31(5):311-25.
117. Teixeira-Salum TB, Rodrigues DBR, Gervásio AM, Souza CJ, Rodrigues Jr V, Loyola AM. Distinct Th1, Th2 and Treg cytokines balance in chronic periapical granulomas and radicular cysts. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(3):250-6.
118. Duarte PM, Szeremeske Miranda T, Lima JA, Dias Gonçalves TE, Santos VR, Bastos MF, Ribeiro FV. Expression of immune-inflammatory markers in sites of chronic periodontitis in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2012;83(4):426-34.
119. García-Hernández A, Arzate H, Gil-Chavarría I, Rojo R, Moreno-Fierros L. High glucose concentrations alter the biomineralization process in human osteoblastic cells. *Bone.* 2012;50(1):276-88.
120. Wang J, Li G, Wang Z, Zhang X, Yao L, Wang F, et al. High glucose-induced expression of inflammatory cytokines and reactive oxygen species in cultured astrocytes. *Neuroscience.* 2012;202:58-68.
121. Li D, Deng T, Lv J, Ke J. Advanced glycation end products (AGEs) and their receptor (RAGE) induce apoptosis of periodontal ligament fibroblasts. *Braz J Med Biol Res.* 2014;47(12):1036-43.
122. Ueta E, Osaki T, Yoneda K, Yamamoto T. Prevalence of diabetes mellitus in odontogenic infections and oral candidiasis: an analysis of neutrophil suppression. *J Oral Pathol Med.* 1993;22(4):168-74.
123. Fouad AF, Burleson J. The effect of diabetes mellitus on endodontic treatment outcome: data from an electronic patient record. *J Am Dent Assoc.* 2003;134(1):43-51.
124. Segura-Egea JJ, Jiménez-Pinzón A, Ríos-Santos JV, Velasco-Ortega E, Cisneros-Cabello R, Poyato-Ferrera M. High prevalence of apical periodontitis amongst type 2 diabetic patients. *Int Endod J.* 2005;38(8):564-9.
125. Aktemur TS, Cömert F. Relationship Between Diabetes Mellitus and Root Canal Infections. *Bulent Ecevit University;* 2023.
126. Engelkirk PG, Duben-Engelkirk J, Dowell Jr V. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology: Star Publishing Co., Belmont, Calif; 1992.
127. Siqueira Jr J, Rôças I. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 1—current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod.* 2005;31(6):411-23.

128. Siqueira Jr JF, Rôças IN. As-yet-uncultivated oral bacteria: breadth and association with oral and extra-oral diseases. *J Oral Microbiol.* 2013;5(1):21077.
129. Paster BJ, Dewhirst FE. Molecular microbial diagnosis. *Periodontol* 2000. 2009;51:38.
130. Khehra N, Padda I, Swift C. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. StatPearls. StatPearls Publishing: Treasure Island, FL; 2024.
131. Singh J, Birbian N, Sinha S, Goswami A. A critical review on PCR, its types and applications. *Int J Adv Res Biol Sci.* 2014;1(7):65-80.
132. Sachse K. Specificity and performance of diagnostic PCR assays. PCR detection of microbial pathogens. *Mol Biotechnol.* 2004;26(1):61-80.
133. Green MR, Sambrook J. Nested polymerase chain reaction (PCR). *Cold Spring Harb Protoc.* 2019;2019(2):pdb. prot095182.
134. Pinheiro ET, Candeiro GT, Teixeira SR, Shin RC, Prado LC, Gavini G, Mayer MP. RNA-based assay demonstrated *Enterococcus faecalis* metabolic activity after chemomechanical procedures. *J Endod.* 2015;41(9):1441-4.
135. Carvalho AP, Nardello LC, Fernandes FS, Bruno FP, Paz LR, Iglecias EF, et al. Effects of contemporary irrigant activation schemes and subsequent placement of an interim dressing on bacterial presence and activity in root canals associated with asymptomatic apical periodontitis. *J Clin Med.* 2020;9(3):854.
136. Kralik P, Ricchi M. A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: definitions, parameters, and everything. *Front Microbiol.* 2017;8:108.
137. McChlery SM, Clarke SC. The use of hydrolysis and hairpin probes in real-time PCR. *Mol Biotechnol.* 2003;25:267-73.
138. Arya M, Shergill IS, Williamson M, Gommersall L, Arya N, Patel HR. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Rev Mol Diagn.* 2005;5(2):209-19.
139. Nehdi A, Samman N, Aguilar-Sánchez V, Farah A, Yurdusev E, Boudjelal M, Perreault J. Novel strategies to optimize the amplification of single-stranded DNA. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:401.
140. Sanchez JA, Pierce KE, Rice JE, Wangh LJ. Linear-After-The-Exponential (LATE)-PCR: An advanced method of asymmetric PCR and its uses in quantitative real-time analysis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(7):1933-8.
141. Malke H. *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice.* *Int J Med Microbiol.* 2004;294(4):224.

142. Amann RI, Ludwig W, Schleifer K-H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev.* 1995;59(1):143-69.
143. Moter A, Göbel UB. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. *J Microbiol Methods.* 2000;41(2):85-112.
144. Socransky S, Smith C, Martin L, Paster B, Dewhirst F, Levin A. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques.* 1994;17(4):788-92.
145. Colombo APV, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, et al. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol.* 2009;80(9):1421-32.
146. Ward DM, Weller R, Bateson MM. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature.* 1990;345(6270):63-5.
147. Hunkapiller T, Kaiser R, Koop B, Hood L. Large-scale and automated DNA sequence determination. *Science.* 1991;254(5028):59-67.
148. Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM. Overview of next-generation sequencing technologies. *Curr Protoc Mol Biol.* 2018;122(1):e59.
149. Ronaghi M, Uhlén M, Nyren P. A sequencing method based on real-time pyrophosphate. *Science.* 1998;281(5375):363-5.
150. Church GM. Genomes for all. *Scientific American.* 2006;294(1):46-55.
151. Drmanac R, Drmanac S, Chui G, Diaz R, Hou A, Jin H, et al. Sequencing by hybridization (SBH): advantages, achievements, and opportunities. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2002:75-101.
152. Hanna GJ, Johnson VA, Kuritzkes DR, Richman DD, Martinez-Picado J, Sutton L, et al. Comparison of sequencing by hybridization and cycle sequencing for genotyping of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *J Clin Microbiol.* 2000;38(7):2715-21.
153. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet.* 2016;17(6):333-51.
154. Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, et al. Comparison of next-generation sequencing systems. *BioMed research international.* 2012;2012(1):251364.
155. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM, Schultz J, Mileski W, Davey M, et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature.* 2011;475(7356):348-52.

156. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(2):255-73.
157. Bergenholtz G. Micro-Organism From Necrotic Pulp of Traumatized Teeth. *Odontol Revy.* 1974;25(4):347-58
158. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps: Umeå University; 1976.
159. Möller Jr Å. Microbiological Examination of Root Canals and Periapical Tissues of Human Teeth (Methodological studies). *Odontol Tidskr.* 1966.
160. Siqueira Jr J, Rôças I, Paiva S, Magalhães K, Guimarães-Pinto T. Cultivable bacteria in infected root canals as identified by 16S rRNA gene sequencing. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(4):266-71.
161. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003;36(1):1-11.
162. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod.* 1997;23(7):433-8.
163. Siqueira Jr J, Rôças I, Favieri A, Santos K. Detection of *Treponema denticola* in endodontic infections by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol: Short communication.* 2000;15(5):335-7.
164. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(6):870-8.
165. Siqueira Jr JF, Rôças IN. The microbiota of acute apical abscesses. *J Dent Res.* 2009;88(1):61-5.
166. George N, Flamiatos E, Kawasaki K, Kim N, Carriere C, Phan B, et al. Oral microbiota species in acute apical endodontic abscesses. *J Oral Microbiol.* 2016;8(1):30989.
167. Lim S-M, Lee T-K, Kim E-J, Park J-H, Lee Y, Bae K-S, Kum K-Y. Microbial profile of asymptomatic and symptomatic teeth with primary endodontic infections by pyrosequencing. *Journal of Korean Academy of Conservative Dentistry.* 2011;36(6):498-505.

168. Nardello LC, Amado PP, Franco DC, Cazares RX, Nogales CG, Mayer MP, et al. Next-generation sequencing to assess potentially active bacteria in endodontic infections. *J Endod.* 2020;46(8):1105-12.
169. Özok A, Persoon I, Huse S, Keijser B, Wesselink P, Crielaard W, Zaura E. Ecology of the microbiome of the infected root canal system: a comparison between apical and coronal root segments. *Int Endod J.* 2012;45(6):530-41.
170. Keijser B, Zaura E, Huse S, Van Der Vossen J, Schuren F, Montijn R, et al. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res.* 2008;87(11):1016-20.
171. Lazarevic V, Whiteson K, Huse S, Hernandez D, Farinelli L, Østerås M, et al. Metagenomic study of the oral microbiota by Illumina high-throughput sequencing. *J Microbiol Methods.* 2009;79(3):266-71.
172. Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science.* 2003;300(5617):286-90.
173. Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M. What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field. *Methods Inf Med.* 2001;40(04):346-58.
174. Griffen AL, Beall CJ, Firestone ND, Gross EL, DiFranco JM, Hardman JH, et al. CORE: a phylogenetically-curated 16S rDNA database of the core oral microbiome. *PloS one.* 2011;6(4):e19051.
175. Chen T, Yu W-H, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database.* 2010;2010.
176. Glöckner FO, Yilmaz P, Quast C, Gerken J, Beccati A, Ciuprina A, et al. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. *J Biotechnol.* 2017;261:169-76.
177. Tran KT, Torabinejad M, Shabahang S, Retamozo B, Aprecio RM, Chen J-W. Comparison of efficacy of pulverization and sterile paper point techniques for sampling root canals. *J Endod.* 2013;39(8):1057-9.
178. Sathorn C, Parashos P, Messer HH. How useful is root canal culturing in predicting treatment outcome? *J Endod.* 2007;33(3):220-5.
179. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral pathol.* 1984;58(5):589-99.
180. Haapasalo M, Ristavik D (1987) In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66(13):75-9.


181. Donnermeyer D, Matern J, Prior K, Ibing M, Hagenfeld D, Schäfer E, et al. A Methodological Study on Microbial In Vivo Sampling Methods of Root Canal Microbiota for Next-Generation Gene Sequencing Analysis. *J Endod.* 2025;51(2):164-71
182. Sweet D, Hildebrand D, Phillips D. Identification of a skeleton using DNA from teeth and a PAP smear. *J Forensic Sci.* 1999;44(3):630-3.
183. Sweet D, Hildebrand D. Recovery of DNA from human teeth by cryogenic grinding. *J Forensic Sci.* 1998;43(6):1199-202.
184. Pretty I, Sweet D. A look at forensic dentistry–Part 1: The role of teeth in the determination of human identity. *Br Dent J.* 2001;190(7):359-66.
185. Ørstavik D, Kerekes K, Eriksen HM. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol.* 1986;2(1):20-34.
186. Amaral RR, Braga T, Siqueira Jr JF, Rôças IN, da Costa Rachid CTC, Oliveira AGG, et al. Root canal microbiome associated with asymptomatic apical periodontitis as determined by high-throughput sequencing. *J Endod.* 2022;48(4):487-95.
187. Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. *Int Endod J.* 2015;48(10):933-51.
188. Vernillo AT. Dental considerations for the treatment of patients with diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc.* 2003;134:24S-33S.
189. Shillitoe E, Weinstock R, Kim T, Simon H, Planer J, Noonan S, Cooney R. The oral microflora in obesity and type-2 diabetes. *J Oral Microbiol.* 2012;4(1):19013.
190. Fouad AF. Diabetes mellitus as a modulating factor of endodontic infections. *J Dent Educ.* 2003;67(4):459-67.
191. Arya S, Duhan J, Tewari S, Sangwan P, Ghalaut V, Aggarwal S. Healing of apical periodontitis after nonsurgical treatment in patients with type 2 diabetes. *J Endod.* 2017;43(10):1623-7.
192. Perez-Losada FdL, Estrugo-Devesa A, Castellanos-Cosano L, Segura-Egea JJ, López-López J, Velasco-Ortega E. Apical periodontitis and diabetes mellitus type 2: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Med.* 2020;9(2):540.
193. Marica A, Chirla R, Porumb M, Sipos LR, Iurcov ROC, Cavalu S. Impact of type 2 diabetes mellitus on the prevalence of apical periodontitis in endodontically treated and untreated teeth. *J Med Life.* 2024;17(10):918.

194. Siqueira Jr JF, Rôças IN. A critical analysis of research methods and experimental models to study the root canal microbiome. *Int Endod J.* 2022;55:46-71.
195. Manoil D, Al-Manei K, Belibasakis GN. A systematic review of the root canal microbiota associated with apical periodontitis: lessons from next-generation sequencing. *PROTEOMICS–Clin Appl.* 2020;14(3):1900060.
196. Senges C, Wrbas K-T, Altenburger M, Follo M, Spitzmüller B, Wittmer A, et al. Bacterial and *Candida albicans* adhesion on different root canal filling materials and sealers. *J Endod.* 2011;37(9):1247-52.
197. Karygianni L, Anderson A, Tennert C, Kollmar K, Altenburger M, Hellwig E, Al-Ahmad A. Supplementary sampling of obturation materials enhances microbial analysis of endodontic treatment failures: a proof of principle study. *Clin Oral Investig.* 2015;19:319-27.
198. Tang L, Ding K, Li M, Chao X, Sun T, Guo Y, et al. Differences in oral microbiota associated with type 2 diabetes mellitus between the Dai and Han populations. *J Oral Microbiol.* 2025;17(1):2442420.
199. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78(4):522-30.
200. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Distinctive features of the microbiota associated with different forms of apical periodontitis. *J Oral Microbiol.* 2009;1(1):2009.
201. Hong B-Y, Lee T-K, Lim S-M, Chang SW, Park J, Han SH, et al. Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing. *J Endod.* 2013;39(9):1136-40.
202. Ordinola-Zapata R, Costalonga M, Nixdorf D, Dietz M, Schuweiler D, Lima BP, Staley C. Taxonomic abundance in primary and secondary root canal infections. *Int Endod J.* 2023;56(2):278-88.
203. Bouillaguet S, Manoil D, Girard M, Louis J, Gaïa N, Leo S, et al. Root microbiota in primary and secondary apical periodontitis. *Front Microbiol.* 2018;9:2374.
204. Tzanetakis GN, Azcarate-Peril MA, Zachaki S, Panopoulos P, Kontakiotis EG, Madianos PN, Divaris K. Comparison of bacterial community composition of primary and persistent endodontic infections using pyrosequencing. *J Endod.* 2015;41(8):1226-33.

205. De Brito LCN, Doolittle-Hall J, Lee C-T, Moss K, Bambirra Júnior W, Tavares WLF, et al. The apical root canal system microbial communities determined by next-generation sequencing. *Sci Rep.* 2020;10(1):10932.
206. Tawfik SA, Azab MM, Ahmed AAA, Fayyad DM. Illumina MiSeq sequencing for preliminary analysis of microbiome causing primary endodontic infections in Egypt. *Int J Microbiol.* 2018;2018(1):2837328.
207. Santos AL, Siqueira Jr JF, Rôças IN, Jesus EC, Rosado AS, Tiedje JM. Comparing the bacterial diversity of acute and chronic dental root canal infections. *Plos one.* 2011;6(11):e28088.
208. Siqueira Jr JF, Antunes HS, Rôças IN, Rachid CT, Alves FR. Microbiome in the apical root canal system of teeth with post-treatment apical periodontitis. *PloS one.* 2016;11(9):e0162887.
209. Sánchez-Sanhueza G, Bello-Toledo H, González-Rocha G, Gonçalves A, Valenzuela V, Gallardo-Escárate C. Metagenomic study of bacterial microbiota in persistent endodontic infections using next-generation sequencing. *Int Endod J.* 2018;51(12):1336-48.
210. Murray BE. The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev.* 1990;3(1):46-65.
211. Peciuliene V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001;34(6):429-34.
212. Lepp PW, Brinig MM, Ouverney CC, Palm K, Armitage GC, Relman DA. Methanogenic Archaea and human periodontal disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(16):6176-81.
213. Jiang Y, Xia W, Li C, Jiang W, Liang J. Preliminary study of the presence and association of bacteria and archaea in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2009;42(12):1096-103.
214. Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod.* 2009;35(7):950-7.

8.EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

**T.C.**
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanlığı

TOPLANTI TARİHİ : 04/10/2023
TOPLANTI NO : 2023/18

KARARLAR :

13- Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER'in sorumluluğunda yürütülecek olan "Diyabetli Hastaların Kök Kanal Enfeksiyonlarındaki Mikrobiyal Komünite" konulu çalışmanın Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I | G İ B İ D İ R

Prof. Dr. Günnur ÖZBAKİŞ DENGİZ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Zonguldak BEC Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 67600 KOZLUZU ZONGULDAK,
Tel: 0 372 261 12 60 Fax: 0 372 261 02 65

Ek 2. İntihal Beyan Formu



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
İNTİHAL RAPORU BEYAN FORMU



DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Endodonti Anabilim Dalında yürütülen "Diyabetli Hastaların Kök Kanal Enfeksiyonlarındaki Mikrobiyal Komünite" başlıklı tez için akademik intihal engelleme programında yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdadır.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 24/02/2025

Öğrenci Adı-Soyadı

Arş. Gör. Nazife Maide DAYICAN

İmza

[Redacted Signature]

Danışman Adı-Soyadı

Prof. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER

İmza

[Redacted Signature]

BENZERLİK ORANLARI: %11

Ek: İntihal tespit programı çıktısı

Ek.3. İntihal Raporu

ORJİNALLİK RAPORU

% **11**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **7**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **3**
YAYINLAR

% **6**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Bülent Ecevit Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%3
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%3
3	Submitted to Eskisehir Osmangazi University Öğrenci Ödevi	%1
4	slidetodoc.com İnternet Kaynağı	%1
5	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<%1
7	www.endodontikongre.com İnternet Kaynağı	<%1
8	Songür, Efsun. "Enfekte Süt Dişi Kök Kanalında Yer Alan Seçilmiş Odontopatojenik Mikroorganizmalara Karşı Ozonun Etkinliğinin in Vitro ve in Vivo Koşullarda	<%1

Değerlendirilmesi", Ankara Üniversitesi
(Turkey), 2024

Yayın

9	acikerisim.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
10	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
11	Submitted to Istanbul Medipol Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
12	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
13	journals.lww.com İnternet Kaynağı	<% 1
14	Polat, Ezgi. "Muhasebe Meslek Mensuplarının Müşteri Kârlılık Analizi ve bir Model Önerisi", Anadolu University (Turkey), 2022 Yayın	<% 1
15	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi	<% 1
16	Submitted to University of Wisconsin Extension Öğrenci Ödevi	<% 1
17	Buyukbayrak, Ayhan. "Cocukluk Cagindaki uriner Sistem enfeksiyonlarinda Risk	<% 1

faktorlerinin Incelenmesi", Marmara
Universitesi (Turkey), 2021

Yayın

18 ard.bmj.com <% 1
Internet Kaynağı

19 openaccess.hacettepe.edu.tr <% 1
Internet Kaynağı

20 Cakir, Ece. "Ozon Gazi Uygulanmis Koyun Sutu
orneklerinin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik
Ozelliklerinde Meydana Gelen Degisimlerin
Belirlenmesi", Necmettin Erbakan University
(Turkey)
Yayın

21 ER, Özgür, ÇANAKÇI, Burhan Can, TUNCAY,
Öznur and KAHRAMAN, Yasemin.
"*PERİAPİKAL LEZYONLU DİŞLERDE CANDİDA
ALBİCANS'İN ELEKTRONİK-BURUN
TEKNOLOJİSİ VE", Fırat Üniversitesi, 2017.
Yayın

22 www.ncbi.nlm.nih.gov <% 1
Internet Kaynağı

23 Çalışkan, Cansu. "Juvenil Idiopatik Artritli
Çocuklarda Dental ve Periodontal Durumların
Klinik ve Biyokimyasal Olarak
Değerlendirilmesi", Marmara Üniversitesi
(Turkey), 2023
Yayın

24	Kiziltekin, Rana. "Sendromsuz dudak damak yarıklı hastalarda MSX1 gen polimorfizminin yarık bölgesindeki etkinliğinin incelenmesi", İzmir Katip Celebi University (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
25	Zengin, Muhittin. "Yüksek Nemli Mısırla Beslenen Kuzularda Bacillus Licheniformis Kullanımının Besi Performansı, Kan Parametreleri, Rumen Fermentasyonu ve Mikrobiyotası Üzerine Etkileri", Balıkesir University (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
26	jcm.asm.org İnternet Kaynağı	<% 1
27	vdoc.pub İnternet Kaynağı	<% 1
28	www.duvar yayinlari.com İnternet Kaynağı	<% 1
29	Hancock, H.H.. "Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population", Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology, 200105 Yayın	<% 1
30	Ronald Ordinola-Zapata, Massimo Costalonga, Donald Nixdorf, Matthew Dietz et	<% 1

Ek.4. Tez Yazım Değerlendirme Formu

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Endodonti Anabilim Dalında yürütülen “Diyabetli Hastaların Kök Kanal Enfeksiyonlarındaki Mikrobiyal Komünite” başlıklı ve uzmanlık öğrencisi Nazife Maide DAYICAN tarafından hazırlanan uzmanlık tezinde;

- DIŞ KAPAK SAYFASI
- İÇ KAPAK SAYFASI
- TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI
- ÖNSÖZ SAYFASI
- TÜRKÇE ÖZET
- İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)
- İÇİNDEKİLER
- SİMGELER ve KISALTMALAR
- ŞEKİL DİZİNİ (Gerekli ise)
- TABLO DİZİNİ (Gerekli ise)
- GİRİŞ
- GENEL BİLGİLER
- GEREÇ ve YÖNTEM
- BULGULAR
- TARTIŞMA
- SONUÇLAR
- KAYNAKLAR
- EKLER (Etik kurul onayı vb.)
- ÖZGEÇMİŞ
- İNTİHAL RAPORU
- FORMATLA İLGİLİ DİĞER HUSUSLAR (Alt bölümler, Latince isimler,

Ondalık ayrıçlar, Metin içerisindeki göndermeler ve kaynak göstermeler, Alıntılar, Dipnotlar, Simgeler ve kısaltmalar vb.)

Tez yazım kılavuzunda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususlar tarafımdan kontrol edilmiştir.

Danışmanın Adı-Soyadı: Prof. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER

Tarih: 21.03.2025

İmza:

Kontrol Eden

Adı-Soyadı: Doç. Dr. Gediz GEDUK

Tarih: 21.03.2025

İmza:

9.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nazife Maide DAYICAN

Doğum Yeri/ Tarihi:

Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim Bilgileri: Kırkkonaklar Anadolu Lisesi

Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Çalıştığı Kurum: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Endodonti Anabilim Dalı

E-posta: