



ANTİK İNSAN İSKELETLERİNDEN ELDE EDİLEN MİKROBİYAL PROFİLLERİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURSENA GENÇ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
HAZİRAN- 2025**

ANTİK İNSAN İSKELETLERİNDEN ELDE EDİLEN MİKROBİYAL PROFİLLERİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURSENA GENÇ
ORCID ID: 0009-0000-4426-2019

MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN VE JÜRİ ÜYELERİ

DANIŞMAN	: DR. ÖĞR. ÜYESİ EMRAH KIRDÖK (ORCID: 0000-0003-0500-1208)
JÜRİ ÜYESİ	: DR. ÖĞR. ÜYESİ GÜLŞAH MERVE KILINÇ
JÜRİ ÜYESİ	: DR. ÖĞR. ÜYESİ MELDA MERAL ÖCAL

MERSİN
HAZİRAN- 2025

ÖZET

ANTİK İNSAN İSKELETLERİNDEN ELDE EDİLEN MİKROBİYAL PROFİLLERİN İNCELENMESİ

Arkeolojik insan iskelet örneklerinden elde edilen DNA dizilerinin, taksonomik açıdan incelenmesi, araştırmacıların paleoçevreleri, antik insan ağız mikrobiyotasını ve dünyada salgınlara neden olan patojenlerin evrimini anlamalarına yardımcı olmuştur. Bu çalışmada, antik insan iskeletlerinden elde edilen örneklerdeki, antik mikrobiyal profilin tanımlanması ve doku spesifik mikrobiyal farklılıkların incelenmesi amaçlanmıştır. Antik insan iskeletlerinden elde edilen sementum, dentin, uzun kemik ve kafatası örnekleri kullanılarak bu örnekler içerisindeki antik mikrobiyal profil tespit edilmiş ve doku spesifik mikrobiyal farklılıklar incelenmiştir. Bu çalışma kapsamında, aşağıdaki hedeflerin gerçekleştirilmiştir:

1. İncelenen örneklerde bulunan mikrobiyal profilin tespiti
2. Tespit edilen mikrobiyal profil içerisindeki antik mikrobiyal organizmaların belirlenmesi ve tartışılması
3. Dentin ve Sementum dokularının sahip olduğu mikrobiyal farklılıkların alfa ve beta çeşitlilik yöntemleri ile belirlenmesi
4. Dentin ve Sementum dokularına özgü mikrobiyal organizmaların tespiti

Çalışmada toplam 14 tane örnekten, 4 doku incelenmiş ve uygulanan aMeta protokolünün ardından, antik olma potansiyeline sahip 319 tane mikrobiyal organizma tespit edilmiştir. Hesaplanan antiklik skorları incelendiğinde, en az 8 antiklik skoruna sahip 19 mikroorganizma ve bir tane ökaryot tespit edilmiştir. Tanımlanan antik bakterilerden bazıları, geçmiş çalışmalarda da antik ağız mikrobiyotası ile ilişkilendirilmiş türlerdir. Diş kaynaklı örneklerde özellikle dentin dokusunda daha fazla ağız bakterisi saptanmış, sementum dokusunda ise bu bakterilerin görece daha az bulunduğu belirlenmiştir. Ancak dentin ve sementum örnekleri arasında mikrobiyal çeşitlilik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Ağız Mikrobiyolojisi, Antik DNA, Mikrobiyal Çeşitlilik.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emrah KIRDÖK, Mersin Üniversitesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

EXAMINATION OF MICROBIAL PROFILES OBTAINED FROM ANCIENT HUMAN SKELETONS

Taxonomic analysis of microbial DNA sequences from archaeological human specimens helps researchers understand paleoenvironments, ancient human oral microbiota and the evolution of pathogens that cause epidemics around the world. This study aimed to define the ancient microbial profile and examine tissue-specific microbial differences in a set of ancient human skeletons. Using cementum, dentin, long bone and skull samples obtained from the set of ancient human skeletons, we identified the ancient microbial profile and examined the tissue-specific microbial differences. Within the scope of this study, the following objectives were planned to be achieved:

1. Identification of the microbial profile in the sample set
2. Authentication and examination of ancient microbial organisms within the detected microbial profile
3. Determination of microbial differences in dentin and cementum tissues using alpha and beta diversity methods.
4. Detection of microbial organisms specific to dentin and cementum tissues

In this study, four different tissues from a total of 14 samples were examined using the aMeta protocol, and 319 potential ancient microbial organisms were identified. Using the authentication scores, we identified 19 bacteria and one eukaryote that both have an authentication score of at least 8. Some of the ancient bacteria identified are species that have also been associated with ancient oral microbiota in past studies. In tooth-derived samples, more oral bacteria were detected, especially in the dentin tissue, and it was determined that these bacteria were found relatively less in the cementum. However, no statistically significant difference was observed in terms of microbial diversity between dentin and cementum samples.

Keywords: Oral Microbiology, Ancient DNA, Microbial Diversity.

Advisor: Assistant Professor Dr. Emrah KIRDÖK, Department of Biotechnology, Mersin University, Mersin.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan örnekleri işleyerek DNA kütüphanelerini oluşturup kullanımımıza sunan Dr. Maja Krzewinska'ya teşekkürlerimi sunarım.

Veri analizlerinde kullanılan İsveç süper bilgisayar altyapısı için destek sunan ilgili birimlere, kazı ve örnekleme süreçlerinde emeği geçen arkeologlara ve tüm saha ekibine teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan, yönlendirmeleri ve desteğiyle her zaman yanımda olan, anlayışı ve samimi yaklaşımıyla bana güven veren değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Emrah KIRDÖK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunma sürecimde katkı ve değerlendirmeleriyle bana yol gösteren jüri üyeleri Dr. Öğr. Üyesi Gülşah Merve KILINÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Melda Meral ÖCAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecimde desteğini her daim hissettiren, bilgi ve tecrübeleriyle yol arkadaşlığını eksik etmeyen değerli meslektaşım Furkan Kürşat ÖZER'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca bana her koşulda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, varlıklarıyla güç veren kıymetli aileme; annem Bedia KOCATÜRK'e, babam Murat KOCATÜRK'e, kardeşlerim Almira Sare ve Yeliz KOCATÜRK'e, ayrıca sevgileri ve destekleriyle yanımda olan kayınvalidem Saadet GENÇ ve kayınbabam Erdal GENÇ'e gönülden teşekkür ederim.

En zor zamanlarımda yanımda olan, mutluluğumu paylaşarak çoğaltan, varlığıyla hayatıma anlam katan hayat arkadaşım, sevgili eşim Arif Can GENÇ'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, desteği ve dostluğuyla güç veren kıymetli arkadaşım Gülsün ARSLAN'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
DENKLEMLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Antik DNA	1
1.2. Antik Metagenomik	2
1.3. Yeni Nesil Dizileme Teknikleri	2
1.4. Antik DNA: Hasarlı bir örnek	3
1.5. Diş Anatomisi	5
1.6. Antik Ağız Mikrobiyotası	6
1.7. Diş Yüzeyinde Bulunan Bakteriler	11
1.8. Pulpada Bulunan Bakteriler	13
1.9. Sistemik Hastalıklar ve Ağız Mikrobiyomu	14
1.10. Bakteriyemi ve Etkili Olduğu Bölgeler	14
2. METARYEL ve YÖNTEM	17
2.1. Örneklem	17
2.2. aMETA ile Taksonomik Sınıflandırma	19
2.2.1. Mikrobiyal İçerik Tespiti	20
2.2.2. Mikroorganizma Otantikasyonu	21
2.3. Dokulardaki Tür Çeşitliliğinin Belirlenmesi (Alfa Çeşitlilik)	22
2.3.1. Shannon İndeksi	23
2.3.2. Simpson İndeksi	23
2.3.3. Ters Simpson İndeksi	23
2.4. Dokulardaki Tür Farklılıklarının İncelenmesi (Beta Çeşitlilik)	24
2.4.1. Bray Curtis Analizi	24
2.4.2. Birincil Öz Bileşen Tahlili (PCA)	24
2.5. Dentin ve Sementum Örneklerinde Alfa Çeşitlilik Farkının Test Edilmesi	24
2.6. Dentin ve Sementum Örneklerinde Anlamlı Değişen Mikroorganizmaların Tespiti	25
3. SONUÇLAR	27
3.1. Örneklerde Tespit Edilen Antik Bakteriler	27
3.2. Örnekler İçerisindeki Tür Çeşitliliği (Alfa Çeşitlilik)	32
3.3. Doku Örneklerinde Mikrobiyal Farklılıkların Belirlenmesi	35
3.4. Dentin ve Sementum Örneklerine Özgü Mikroorganizmaların İncelenmesi	39
3.5. İnsan DNA'sı Oranları ve Antik DNA Korunumu Üzerine Değerlendirme	41
4. TARTIŞMA	43
4.1. Örneklerde Tespit Edilen Antik Mikroorganizmalar	43
4.2. Alfa ve Beta Çeşitliliği Bulguları	47
4.3. Dentin ve Sementum Dokularının Mikroorganizma Profilleri	48
5. SONUÇ	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	73

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Ağız boşluğundan sıklıkla izole edilen bakteriler	12
Tablo 1.1. (Devamı) Ağız boşluğundan sıklıkla izole edilen bakteriler	13
Tablo 2.1. Çalışma kapsamında DNA dizilemesi için gönderilen örnekler	17
Tablo 2.1. (Devamı) Çalışma kapsamında DNA dizilemesi için gönderilen örnekler	18
Tablo 2.1. (Devamı) Çalışma kapsamında DNA dizilemesi için gönderilen örnekler	19
Tablo 3.1. Tespit edilen antik mikroorganizmaların genel özellikleri	28
Tablo 3.1. (Devamı) Tespit edilen antik mikroorganizmaların genel özellikleri	29
Tablo 3.2. İnsan DNA'sı oranları	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Dişin anatomik yapısı ve sahip olduğu bölgeler	6
Şekil 2.1. aMETA: Antik metagenomik profillemeye iş akışı genel bakışı	20
Şekil 2.2. Bir mikroorganizmayı tespit etmek için hem okuma derinliği hem de genom kapsamı	20
Şekil 3.1. Tespit edilen organizmaların örneklerle göre dağılımı	27
Şekil 3.2. İncelenen krz045 örneğinden elde edilen <i>Aggregatibacter aphrophilus</i> bakterisine ait otantikasyon grafiği	30
Şekil 3.3. İncelenen krz045 örneğinden elde edilen <i>Cupriavidus metallidurans</i> bakterisine ait otantikasyon grafiği	31
Şekil 3.4. İncelenen krz045 örneğinden elde edilen <i>Spirometra erinaceieuropaei</i> canlısına ait otantikasyon grafiği	32
Şekil 3.5. Dokulardan elde edilen tür matrisleri incelendiğinde elde edilen shannon çeşitlilik değerlerini gösteren kutu grafiği	33
Şekil 3.6. Dokuların simpson çeşitlilik değerlerini gösteren kutu grafiği	34
Şekil 3.7. Dokuların ters simpson değerlerini gösteren kutu grafiği	35
Şekil 3.8. Örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliğin PCA ile incelenmesi: Grafikte, PC1 ve PC2 eksenleri yer almaktadır.	36
Şekil 3.9. Örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliğin PCA ile incelenmesi: Grafikte, PC1 ve PC3 eksenleri yer almaktadır.	37
Şekil 3.10. Örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliğin PCA ile incelenmesi: Bu grafik, PC2 ve PC3 eksenleri boyunca örneklerin dağılımını göstermektedir	38
Şekil 3.11. PCA analizlerindeki toplam gözlenen varyasyon miktarı	39
Şekil 3.12. Deseq analizi sonucunda elde edilen dentin ve sementum örneklerinde fazla miktarda tespit edilen mikroorganizmalar	40
Şekil 3.13. DeSeq2 paketi ile, dentin ve sementum örneklerinde anlamlı olarak bulunan mikroorganizmaların tespiti	41

DENKLEMLER DİZİNİ

	Sayfa
Denklem 2.1. Shannon indeks hesaplaması.	23
Denklem 2.2. Simpson indeks hesaplaması.	23
Denklem 2.3. Bray Curtis uzaklığının hesaplanması	24



SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma/Simge	Tanım
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
aDNA	Antik DNA
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
HOMD	İnsan ağız mikrobiyotası veri tabanı
PCA	Birincil Öz Bileşen Tahli
mtDNA	Mitokondriyal DNA



1. GİRİŞ

1.1. Antik DNA

Antik DNA, arkeolojik kazılardan elde edilen, fosilleşmemiş biyolojik örneklerin (diş, kemik, diş taşı vb) işlenmesi sonucunda (DNA saflaştırılması), elde edilmiş DNA dizilerine verilen isimdir (Pääbo vd., 2004). Bu örneklerden elde edilen DNA dizileri, yeni nesil dizileme teknikleri ile dizilenerek, biyoinformatik yöntemler ile analizler edilmektedir (Orlando vd., 2021).

Antik DNA çalışmaları ilk olarak 1984 yılında, quagga adında nesli tükenmiş bir zebra türünden elde edilen DNA materyalinden 229 baz çiftlik bir parçanın dizilenmesiyle başlamıştır (Barnes vd., 2007; Higuchi vd., 1984; Orlando vd., 2021; Rizzi vd., 2012). Bu çalışma sonucunda DNA, saklanan genetik bilginin uygun koşullarda korunarak, uzun yıllar bozulmadan kalabildiği anlaşılmış ve soyu tükenmiş türlerden DNA elde edilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir (Dabney vd., 2013; Orlando vd., 2021).

Yapılan bu ilk antik DNA çalışmaları, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak bu yöntem, yalnızca belirli ve sınırlı sayıdaki DNA fragmentlerini çoğaltırken, antik olmayan DNA dizilerini de çoğaltabilir. Bu da yanlışlıkla, modern DNA dizilerinin çoğaltılmasına neden olabilir (Knapp ve Hofreiter, 2010; Rizzi vd., 2012). İlerleyen yıllarda, yeni nesil dizileme teknolojilerinde yaşanan gelişim sayesinde, antik DNA araştırmalarında yeni bir dönem başlamıştır. Bu teknolojiler sayesinde, hedefe yönelik çoğaltma yapılmaksızın çevresel ya da organizmaya ait tüm DNA dizileri yüksek hassasiyetle dizilenebilir hâle gelmiştir. Böylece antik organizmalardan çok daha fazla miktarda ve daha çeşitli DNA dizisi elde edilebilmekte; DNA moleküllerinde meydana gelen karakteristik hasarlar daha iyi tanımlanmakta ve hatta bu veriler modern kontaminasyonu ayırt etmek için kullanılabilir. Ayrıca, yeni nesil dizileme teknolojileri sayesinde antik bireylere ait tam mitokondriyal ve çekirdek genomları elde edilmiştir (Briggs vd., 2007; Dabney vd., 2013; Green vd., 2010).

İncelenen antik örneklerden elde edilen DNA dizilerinin karakterizasyonu sayesinde organizmanın cinsiyeti, sahip olduğu potansiyel hastalıklar, canlının mikrobiyotası, beslenme biçimleri, organizmanın demografik yapısı ve yakın türler arasındaki akrabalık ilişkileri tespit edilebilmektedir. Bu çalışmalarda genel olarak kemikler, petröz kemikler ve diş örnekleri kullanılsa da kurumuş yumuşak doku, saç, koprolit ve bitki kalıntıları da kullanılabilir (Orlando vd., 2021). Ancak diş dokuları, sahip olduğu mineralize yapı sayesinde, çevresel etkenlere daha dayanıklı oldukları için genetik bilgiyi daha uzun süre saklayabilir. Bu da diş örneklerini antik DNA elde etmek için kullanılan en önemli materyallerden bir tanesi olmasını sağlamıştır. Ayrıca diş örnekleri kullanıldığında hem insan DNA'sı hem de sistemik dolaşımda bulunan patojenik bakterilere ait DNA dizileri elde edilebilir (Kazarina vd., 2021; Willmann vd., 2018).

1.2. Antik Metagenomik

Metagenomik, çevresel bir örnekte bulunan mikroorganizma kaynaklı DNA içeriğini incelemeye ve ortamda bulunan mikroorganizmaları karakterize etmeyi hedefleyen bir bilim dalıdır. Çevresel bir örnekten alınan DNA dizileri yeni nesil dizileme teknolojileri ile toplu bir şekilde dizilenmekte ve kültüre bağımlı olmadan mikroorganizmaları karakterize edilmektedir. Çevresel örnekten elde edilen DNA dizileri daha sonra mikroorganizma genomlarını içeren, referans genom veri tabanları ile karşılaştırılmakta ve bu sayede her okumanın, hangi mikroorganizmaya ait olduğu tespit edilmektedir (Bal vd., 2022; Handelsman, 2004; Wooley vd., 2010).

Antik metagenomik ise, arkeolojik örneklerin sahip olduğu mikroorganizma içeriğini inceleyen ve son yıllarda hızlı gelişme göstermiş bir bilim dalıdır. Bu yöntemde temel amaç çevresel örneklerden veya arkeolojik canlı kalıntılarından elde edilen DNA'nın metagenomik yöntemlerle analiz edilmesidir. Eski kemikler, dişler, diş taşı, dışkı ve tortular gibi biyolojik örneklerden alınan DNA dizilenmesi yoluyla, geçmişteki mikrobiyal toplulukları ve onların çevresel etkileşimlerini anlamaya çalışır. Antik metagenomik ile eski hastalıklar ve patojenlerin tespiti ile antik mikropların incelenerek tarihsel salgınların nedeni belirlenebilir. Antik metagenomik çalışmalarında karşılaşılan zorluklar arasında DNA'nın bozulmuş olması, kontaminasyon riski ve sınırlı örnekler yer almaktadır. Arkeolojik materyaller sınırlı olduğu için sınırlı örnekler bulunmaktadır ve bu da dikkatli analiz gerektirmektedir (Der Sarkissian vd., 2021).

Dişler ve diş taşları, yüksek mineral içeriği sayesinde çevresel faktörlere karşı daha dayanıklıdır. Bu durum özellikle pulpası korunmuş dişlerde ve diş taşı içinde eski DNA'nın iyi korunmasına olanak tanır (Adler vd., 2011; Granehall vd., 2021; Mann vd., 2018).

Diş taşı, zamanla diş plağının mineralizasyonu sonucu oluşur ve tarihsel mikrobiyomun izlerini barındıran bir arşiv gibi iş görür. Antik diş taşlarının metagenomik analizleri, eski insanların ağız sağlığı, hastalıklar ve diyetleri hakkında önemli bilgiler sağlar. İnsanların beslenme alışkanlıklarının belirlenmesinde de etkilidir. Elde edilen bu sonuçlar, tarıma geçişin ve diyet değişimlerinin izlenmesine kadar uzanabilir (Adler vd., 2011; Granehall vd., 2021; Moore ve Weyrich, 2021).

1.3. Yeni Nesil Dizileme Teknikleri

Antik DNA analizlerinde büyük bir ilerleme sağlayan PCR icadı (1980'lerin sonları), araştırmaların zaman derinliğini birkaç on bin yıl kadar genişletmiştir (Mullis vd., 1986). Ancak, çalışmalar çoğunlukla mtDNA'dan elde edilen kısa DNA parçalarıyla sınırlı kalmıştır. Ardından yeni nesil dizileme teknolojilerinin geliştirilmesi (2005), antik DNA araştırmalarında devrim yaratmış ve çok daha büyük genomik veri setlerinin elde edilmesine olanak tanımıştır. Örnek vermek gerekirse, 2006 yılında Poinar ve ekibi tarafından soyu tükenmiş yünlü mamutun 13 milyon baz çiftlik genomu dizilendi (Poinar vd., 2006). Bu ilerleme, yünlü mamut, Neandertal, Denisova ve 4500 yıllık bir Paleo-Eskimo

bireyinin yüksek kaliteli genomlarının dizilenmesi ile devam etmiştir. Birçok çalışmada, antik örneklerden dizi verileri elde etmek için yeni nesil dizileme teknolojisi kullanılmıştır (Green vd., 2010; Knapp ve Hofreiter, 2010; Reich vd., 2010; Rizzi vd., 2012).

Yeni nesil dizileme teknolojileri, antik DNA çalışmalarında bozulmuş ve parçalanmış DNA örneklerini, yüksek hassasiyet ile analiz ederek daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlar. Ayrıca kontaminasyon riskini de azaltarak daha doğru sonuçlar elde eder ve büyük veri setlerini paralel olarak işleyerek analiz süreçlerini hızlandırmaktadır. Bu teknoloji evrimsel süreçleri gözlemlemeyi sağlarken, insan türünün kökenlerinin anlaşılmasına da önemli katkılar sunmaktadır (Knapp ve Hofreiter, 2010; Rizzi vd., 2012).

Yeni nesil dizileme süreci şu şekilde işlemektedir: Antik DNA fragmentlerine, dizileme işlemi sırasında bağlanması için adaptörler eklenmektedir. DNA parçalarının dizileme sırasında bağlandığı yüzey içerisinde mikroskobik kuyucuklar ve bu kuyucukların içinde de adaptörlerin melezleşebileceği oligonükleotitler bulunmaktadır. Adaptörler ile oligonükleotitler eşleşir ve bu sayede adaptöre bağlanmış her DNA fragmenti kuyucuğun içerisine immobilize olur. Daha sonra yüzeyde immobilize olmuş bu DNA molekülleri çoğaltılır ve dizileme reaksiyonları gerçekleştirilir. Yeni nesil dizileme teknolojilerinde, her bazın eklenmesi sırasında oluşan floresan sinyaller kaydedilir ve bu sayede diziler okunur (Cantacessi vd., 2010; Knapp ve Hofreiter, 2010; J. Li vd., 2016).

Bu teknikte DNA dizilemesi şu şekilde gerçekleşmektedir. DNA polimerizasyonu normal şartlar altında 3'OH ucundan gerçekleşir. Eğer 3'OH ucu engellenmişse, polimerizasyon gerçekleşemez ve uzama durur. Bu çalışma yönteminde her nükleotidin 3' ucunda bir tane engelleyici vardır. Ayrıca, eklenecek her nükleotid molekülünde de renk veren bir floresan boya bulunmakta ve her nükleotid farklı bir renk ile temsil edilmektedir. Örneğin uzayan ipliğe bir nükleotid eklendiğinde, 3'OH ucundaki engelleyici molekül yüzünden PCR tepkimesi durmaktadır. Bu sırada eklenen nükleotid, floresan ışığa yardımıyla tespit edilmektedir. Sonraki nükleotidin eklenmesi için, 3'OH ucundaki engelleyici kaldırılır ve bir kez daha polimerizasyon gerçekleştirilir. Bu nükleotidde de 3'OH ucunda engelleyici olduğu için, bir sonraki nükleotidin eklenmesi engellenir ve floresan ışığa ile, hangi nükleotidin eklendiği tespit edilir. Engelleyici molekül tekrar kaldırılır ve bu süreç bu şekilde devam eder. Bahsedilen bu işlem, bütün kuyularda aynı anda gerçekleşmektedir. Dolayısıyla paralel olarak milyonlarca DNA parçasının aynı anda dizilenmesini mümkün kılar (Cantacessi vd., 2010; Knapp ve Hofreiter, 2010; J. Li vd., 2016).

1.4. Antik DNA: Hasarlı bir örnek

Bir canlı öldüğünde ilk olarak hücresel bütünlük bozulur ve organeller içerisinde bulunan hidrolitik enzimler açığa çıkmaya başlar. DNA ve diğer hücresel bileşenleri bu hidrolitik enzimler tarafından parçalanmaya başlar ve bu işlemi doku ve vücut bütünlüğünün bozulması takip eder. Bağışıklık sistemi artık ortadan kalktığı için, canlının sahip olduğu mikrobiyota, rahatlıkla dokular arası bölgeyi işgal ederek, salgıladığı hidrolitik enzimlerle, çürüme sürecini devam ettirir. Bununla birlikte

çevresel mikroorganizmalar da canlı bedenini işgal eder ve bu bozulma sürecine destek olur (Dabney vd., 2013). Hücrelerde bulunan hidrolitik enzimler, DNA materyalini kesmeye başlar. Bu süreçte fragmentasyon ismi verilir ve bu işlemin ardından DNA dizleri 30- 100 baz çifti uzunluğunda parçalara bölünür. Bu parçalanma süreci çoğunlukla pürin bazlarının olduğu bölgelerden gerçekleştiği için depürinasyon olarak adlandırılmaktadır. Öncelikle azotlu organik baz ve beş karbonlu şeker arasında bulunan organik baza göre guanin ya da adenin arasında bulunan *N-glikozid* bağı parçalanır ve baz içermeyen (abazik) bölge oluşmaktadır. Ardından beta eliminasyon ile DNA ipliği kesilmektedir. Bunun sonucunda da tek iplikli 3'-aldehidik ve 5'- fosfat uçları açığa çıkmaktadır (Dabney vd., 2013).

Arkeolojik süreç içerisinde uçlarda bulunan, sitozin nükleotidlerinin amin grupları koparak, urasil nükleotidine dönüşür. Bu süreçte deaminasyon ismi verilir ve bu hasarlar yeni nesil dizileme teknolojilerinin ardından, 5' uçta C > T ve 3' uçta G > A dönüşümü şeklinde tespit edilir. Yani antik DNA dizileri genel olarak fragmente olmuş ve deaminasyon hasarları içeren bir doğaya sahiptir (Dabney vd., 2013).

Bu fragmentasyon ve deaminasyon süreçleri çoğunlukla çevresel etkenlere bağlıdır. Sıcak havalarda DNA bozulması daha hızlı gerçekleşmektedir. Çünkü yüksek sıcaklık, DNA molekülünün yapısını doğrudan etkileyen kimyasal ve biyolojik süreçleri hızlandırmaktadır. Bu yüzden soğuk ve kuru ortamlar, DNA'nın korunma süresini uzatmaktadır. Örneğin yaşı, DNA'nın dokuda kalma süresi, hidrolitik ve oksidatif aktiviteler gibi nedenlerden dolayı DNA korunumu azalabilmektedir. (Dalal vd., 2023; Kistler vd., 2017; Mann vd., 2018).

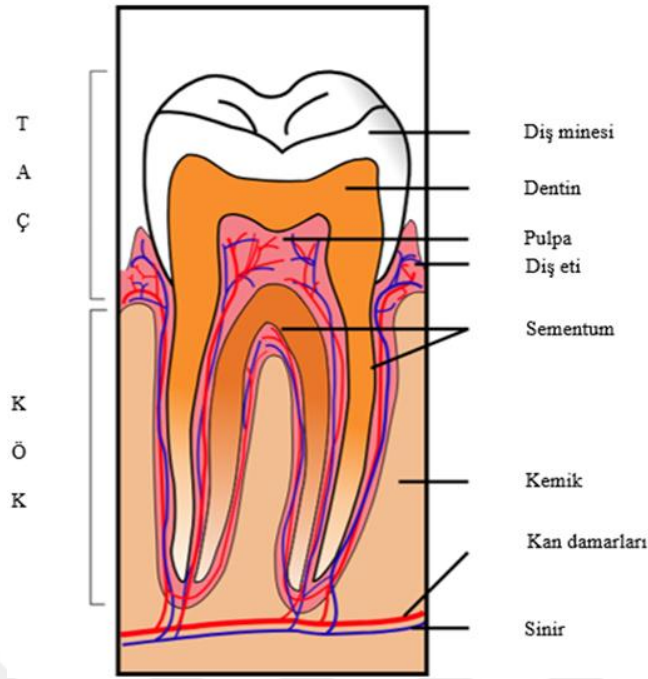
Antik DNA'nın araştırmalarında önemli sorunlardan biri ise kontaminasyondur. Antik DNA bulunduğu az miktarda ve bozulmuş halde olduğu için modern DNA örnekleriyle karışırsa, analiz edilen DNA antik mi yoksa modern DNA mı olduğuna dair şüpheler oluşturabilmektedir. Hem modern insan DNA'sı hem de çevresel mikroorganizmalar antik örnekleri kolayca kontamine edebilir. Özellikle kazı sırasında uygun koruma önlemleri alınmadığında, antik DNA'nın saflığını korumak zor olabilir. Analiz edilen DNA ile bulunduğu andan itibaren, laboratuvar ortamına gelene kadar titizlikle çalışılması oldukça önemlidir. Kazı sırasında, araştırmacıların eldiven, maske kullanarak koruyuculuğa dikkat etmesi gerekmektedir. Alınan örneğin ise steril şartlarda olması oldukça önemlidir. Laboratuvar ortamında, hava temizleme sistemlerini HEPA filtreli (filtreleme ile havada bulunan partiküllerin yüksek düzeyde yok edilmesi) kullanmaktadır ve laboratuvarlar, UV yüzey ışınlaması ve temizleyicilerle dezenfekte edilmektedir (Dalal vd., 2023; Yang ve Watt, 2005). Antik örneklerden elde edilen DNA'nın büyük bir kısmı, toprak, bakteri ve diğer organizmalardan gelen çevresel DNA ile karışmış halde bulunur. Buna ek olarak, geçen zaman içinde DNA molekülleri parçalanır, kısılır ve çeşitli kimyasal hasarlara uğrar. Bu süreçler, analiz edilebilir DNA miktarını ve genetik çeşitliliği önemli ölçüde azaltır. Sonuç olarak, antik DNA üzerinde yapılan genetik analizlerin doğruluğu düşebilir ve verilerin güvenilirliği sınırlanabilir. (Dalal vd., 2023).

1.5. Diş Anatomisi

Antik DNA çalışmalarında, dişler, sağlam yapıları ve koruma özellikleri nedeniyle sıkça tercih edilir. Dişler, çevresel faktörlere karşı daha dayanıklıdır ve bu da DNA dizilerinin bozulmadan korunma olasılığını artırır. Dişlerin farklı bölümleri, antik DNA çalışmaları için kullanılabilir. Taç, dişin görünen kısmıdır ve dişin şeklini ve işlevini belirler. Diş eti ise dişin çevresini kaplayan yumuşak doku tabakasıdır, diş destekler ve korur. Diş minesi, dişin en dış yüzeyini kaplayan sert, mineralleşmiş tabakadır ve diş çürümeye ve dış etkenlere karşı korumaktır. Dentin ise diş minesinin altında bulunan sert bir dokudur. Büyük oranda hidroksiapatit (kalsiyum fosfat kristalleri) içerir ve bu yüksek mineral yoğunluğu sayesinde diş çürümeye ve dış etkenlere karşı korur (Boskey, 2007). Yaklaşık %95-98 inorganik madde, %1 organik madde ve %4 sudan oluşmakta olup, mineye göre daha az mineralize olmakla birlikte, yaklaşık %70 inorganik madde (hidroksiapatit), %20 organik madde (çoğunlukla kolajen) ve %10 sudan oluşur. Dentin, minenin altında yer almasına rağmen, minenin üzerindeki çatlaklarda veya çürümelerde hassasiyet hissini iletebilecek kadar duyarlıdır. Pulpa, dişin merkezinde yer alan yumuşak doku bölgesidir ve kan damarları, sinir lifleri ve bağ dokusundan oluşur. Diş gelişimi sırasında pulpa, dişin büyümesini ve beslenmesini sağlar. Kök, dişin diş eti altında kalan bölümüdür. Kökler, diş çene kemiğine sabitleyen bağ dokusu ve liflerle çevrilidir. Kök kanalı, dişin içinde bulunan ve pulpayı çevreleyen boşluktur (ALShami vd., 2019; Boskey, 2007; Tran-Hung vd., 2007).

Sementum ise, kök yüzeyini kaplayan ince, sert doku tabakasıdır. Dentin gibi hidroksiapatit içerir ancak mineralizasyon seviyesi daha düşüktür (%65 inorganik madde, %23 organik madde ve %12 su). Sementum, dişin çene kemiğine tutunmasına yardımcı olur. Dişler, çene kemiği içerisinde bulunur ve çene kemiği, dişleri destekleyen bir yapıdır. Pulpa çeşitli boyutlarda kan damarlarını içerir. Bu kan damarları, pulpanın beslenmesini sağlar ve pulpanın iç yapısına oksijen ve besin maddelerinin taşınmasını destekler. Pulpa, dişin duyuşal işlevini sağlayan sinir liflerini içerir. Dişin sıcaklık, soğukluk, ağrı gibi dış etkenlere karşı hassasiyetini ileten yapıdır. Aynı zamanda dişin çevresindeki dokulardan gelen uyarıları da iletebilir (ALShami vd., 2019; Boskey, 2007; Tran-Hung vd., 2007).

Dentin, çevresel kontaminasyona karşı daha dayanıklı olduğu için iyi korunmuş DNA içermektedir. Pulpa, damar ve sinir dokularını içerdiğinden dolayı DNA bulunma olasılığı daha fazladır. Pulpa, damar ve sinir dokularını içerdiğinden dolayı, dişteki en çok DNA bulunduran dokudur. Dişin iç kısmında yer aldığı için dış etkilere karşı korunaklıdır. Ancak yumuşak doku yapısı nedeniyle zamanla bozulabilir ve özellikle hastalıklara bağlı olarak DNA kalitesi değişebilir. Diş minesi, insan vücudundaki en sert doku olmasına rağmen, diş minesinde DNA miktarı genellikle çok düşüktür. Diş minesinin sert yapısı, DNA'nın çevresel faktörlerden korunmasına yardımcı olur. Dişler, hem sert yapıları sayesinde çevresel faktörlerden korunmuş bakterileri içerebilir hem de kan dolaşımından gelen bakterileri tutabilecek damar ve kanal yapısına sahiptir. Bu nedenle, sistemik dolaşımdaki bakteriler dişlerden elde edilebilir (Adler vd., 2011; Higgins ve Austin, 2013).



Şekil 1.1. Dişin anatomik yapısı ve sahip olduğu bölgeler (*Forensic Odontology*, 2018) (Türkçe'ye tercüme edilerek kullanılmıştır).

1.6. Antik Ağız Mikrobiyotası

Ağız mikrobiyolojisi, ağız boşluğundaki mikroorganizmaları inceleyen ve bu organizmaların çalışmalarını yürüten bir bilim dalıdır. Ağızdaki mikroorganizmaların vücudun başka bölgeleri ile etkileşimini incelemektedir. Tüm insan vücudu göze alındığında, ağız boşluğu en yüksek bakteri çeşitliliğine sahip bölgedir. Bu mikroorganizmaların oluşturduğu hastalıklar arasında en yaygını diş çürükleri ve diş eti hastalıklarıdır (Özan vd., 2015). Diş çürükleri, bazı bakteriler tarafından üretilen asit sonucunda mine, dentin ve sementum dokularının yıkımı ile karakterize olarak meydana gelmektedir (Alpöz ve Eronat, 2012).

Daha kolay örneklenmesi açısından ve ağızdaki hastalıkların en fazla sebebinin olması nedeniyle insan ağız mikrobiyotası ile ilgili çalışmalar oldukça fazladır. Bu çalışmalar sonucunda ise insan ağızında yaklaşık 600 farklı bakteri türü olduğu anlaşılmıştır (Chen vd., 2010).

İnsan DNA'sı, vücudumuzun biyolojik yapısını ve işleyişini belirlerken, insan mikrobiyotası ise vücudumuzda yaşayan mikroorganizmaların bütünüdür. Yeni nesil dizileme teknolojisi, çevredeki tüm genetik materyali çoğaltarak analiz ettiği için insan DNA'sı ile mikrobiyota genomlarını birlikte tespit edebilir (Adler vd., 2013; Warinner vd., 2014).

İnsan ağız mikrobiyotası veri tabanı, HOMD, Ulusal Diş ve Kraniyofasiyal Araştırma Enstitüsü'nden Ağız Mikrobiyomu ve Metagenom Vakfı kapsamında oluşturulmuştur (Chen vd., 2010). HOMD, ağızda bulunan mikroorganizma türlerini kapsamlı olarak açıklayan ve özellikleri hakkında bilgiler veren bir veri tabanıdır. HOMD, 16S rRNA dizilimi kullanılarak, türlerin dizileri ve oral genom

verileri analiz etmede araçların sağlanması amaçlanmaktadır. Yeni türlerin tanımlanabilmesi için 16S rRNA dizilimi ya da klon kütüphanelerinin 16S rRNA analizini kullanmıştır (Chen vd., 2010).

Antik diş örnekleri, geçmiş toplumların genetik yapısını, çevresel etkenleri, sağlık durumunu ve ağız mikrobiyotasını anlamada önemli bir kaynak olarak kullanılmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalar, diş pulpası, petröz kemik ve diş taşı gibi farklı diş dokularından elde edilen antik DNA analizlerine odaklanmıştır. Farklı araştırmalar, antik ağız mikrobiyotasının anlaşılmasına katkı sağlayarak hem patojenlerin tespiti hem de ağız mikrobiyomundaki değişikliklerin incelenmesi açısından önemli ilerlemeler sunmuştur (Der Sarkissian vd., 2021; Margaryan vd., 2018; Rascovan vd., 2016; Weyrich, 2021).

Antik ağız mikrobiyotası, en çok incelenen konuların başında gelmektedir. Genel olarak dişler (Margaryan vd., 2018; Rascovan vd., 2016), diş taşları (Weyrich vd., 2015) ve çiğnenmiş huş ağacı reçinesi (Jensen vd., 2019; Kashuba vd., 2019; Kırdök vd., 2024) gibi örnekler ağız mikrobiyotası çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Dişlerden elde edilen DNA'nın miktarı ve kalitesi, dişin yapısal özellikleri ve bireyin yaşı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Özellikle tam gelişmiş ve sağlam kalıcı dişler, daha kalın mineralize dokuları sayesinde DNA'yı daha iyi koruyabilmektedir. Buna karşılık, süt dişleri veya henüz gelişimini tamamlamamış dişlerde DNA korunumu daha düşüktür. Bu nedenle, antik DNA çalışmalarında kullanılacak dişlerin dikkatli seçilmesi, elde edilecek verinin kalitesini doğrudan etkileyebilir. (Leskovar ve Pajnič, 2023).

Antik kemik ve dişlerden DNA izolasyon yöntemleri, özellikle kontaminasyon riskinin azaltılması ve korunmuş endojen DNA'nın verimli şekilde elde edilmesi için tasarlanmıştır. Rohland ve Hofreiter (2007), bu süreç için standartlaştırılmış bir protokol sunarak diş ve kemik materyalinden antik DNA izolasyonunun temel aşamalarını açıklamıştır. Protokole göre, öncelikle dişin yüzeyi yüzeysel kontaminantlardan arındırılır. Daha sonra, numunenin bir parçası kesilir veya çıkarılır. Ve bu materyal, bir havan veya tokmakla ince toz haline getirilir. DNA'nın serbest bırakılması için örnek, sindirme solüsyonu içinde inkübe edilir ve ardından saflaştırılır. Bu yöntem, modern kontaminasyonun en aza indirildiği ve antik DNA'nın mümkün olan en yüksek saflıkta izole edilebildiği güvenilir laboratuvar teknikleri arasında yer almaktadır. (Rohland ve Hofreiter, 2007).

Hansen ve arkadaşları (2017), petröz kemik ve diş örneklerinden elde edilen DNA miktarlarını karşılaştırmış ve petröz kemiklerin genellikle daha fazla endojen DNA içerdiğini, ancak diş örneklerinin de mikrobiyal çeşitlilik açısından önemli olduğunu belirtmiştir. Margaryan ve arkadaşları (2018), vebadan ölen bireylere ait petröz kemik ve diş örneklerini analiz etmiş ve *Y. pestis* DNA'sının sadece diş örneklerinde tespit edildiğini, bunun da dişlerin patojenik DNA koruma açısından önemini gösterdiğini vurgulamıştır. Son olarak, Mann ve arkadaşları (2018), diş taşı ve dentin örneklerindeki DNA içeriğini inceleyerek, diş taşının büyük oranda mikrobiyal DNA içerdiğini ve insan DNA'sının diş taşında oldukça parçalanmış olduğunu ortaya koymuştur (Drancourt vd., 2005; Hansen vd., 2017; Mann vd., 2018; Margaryan vd., 2018; Rascovan vd., 2016).

Bu çalışmalar sonucunda, antik diş örneklerinin geçmişteki hastalıkların tespiti, ağız mikrobiyomundaki değişikliklerin anlaşılması ve patojenlerin korunma mekanizmalarının belirlenmesi açısından önemli veriler sunduğu belirlenmiştir. Özellikle diş pulpası ve diş taşı gibi dokuların, çevresel etkileşimlerden bağımsız olarak uzun süre DNA koruyabildiği gösterilmiştir (Drancourt vd., 1998; Hansen vd., 2017; Mann vd., 2018; Margaryan vd., 2018; Rascovan vd., 2016).

Drancourt ve arkadaşları (1998), tarafından yapılan çalışmada Fransa'nın Toulon kentindeki bir orta çağ mezarlığından çıkarılan yedi antik iskelete ait yedi çıkmamış diş, negatif kontrol olarak kullanıldı. Bu iskeletlerde bulaşıcı hastalığın makroskopik belirtileri görülmedi ve veba hastalığına yakalandıklarına dair antropolojik bir kanıtın olmadığı görülmüştür. Fransa'nın Provence bölgesindeki 16. ve 18. yüzyıla ait mezarlardan çıkarılan ve vebadan ölmüş olduğu düşünülen bireylerden alınan 12 gömülü diş örneğinde dikkatli yüzey temizliği sonrası diş pulpası çıkarılarak DNA saflaştırması yapılmıştır. Toplam 12 örneğin altısında *Yersinia pestis*'e özgü DNA tespit edilmiştir (Drancourt vd., 1998).

Rascovan ve arkadaşları (2016), antik ve modern diş pulpa örneklerinin 16S ampikon metagenomik analizini gerçekleştirerek, farklı coğrafi bölgelerden ve zaman dilimlerinden gelen örneklerle özgü mikrobiyal toplulukların bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca antik ve modern diş pulpalar, diş taşı ve diğer ağız mikrobiyota örneklerinden daha farklı bir mikrobiyal profile sahip olduğu gösterilmiştir. Modern kök kanalı örnekleri ve modern diş pulpaları eski diş pulpa örnekleriyle karşılaştırıldığında, topluluklar arasındaki farklar az anlamlı olduğu görüldü. Benzer şekilde ezilerek toz haline getirilmiş dişler de eski diş pulpaları ile karşılaştırıldığında az anlamlıdır. Genel olarak bu sonuçlar, diş pulpası örneklerinin, diğer ağız boşluğu örneklerinden farklı olan ve ölümden yüzyıllar sonra bile tespit edilebilecek farklı mikrobiyal topluluklar içerdiğini ortaya koymaktadır. Çalışma farklı zaman dilimlerine ve coğrafi bölgelere ait antik ve modern diş pulpa örneklerini analiz ederek, bunların diğer ağız örneklerinden farklı mikrobiyal topluluklar gösterdiğini buldu. Örneğin, Nijerya'daki antik diş pulpaları, yalnızca bu örneklerde bulunan ve bu popülasyonların ağız mikrobiyomlarındaki özelliklerden kaynaklanabilecek birkaç cins gösterdi. (Rascovan vd., 2016).

Dişlerden ve petröz kemiklerden patojenik ve mikrobiyal antik DNA elde etme potansiyelini karşılaştırmak için, daha önce veba (*Yersinia pestis*) taşıdığı gösterilen beş antik iskeletten yeni örneklem alınarak, DNA saflaştırması yapıldı (Margaryan vd., 2018). Bununla birlikte, dört bireyden hem petröz kemik hem de diş örneği alındı, ancak son birey için ise yalnızca bir diş mevcuttu. Çalışmada, diş örneklerinin petröz kemiklere kıyasla daha yüksek mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu durum, dişlerin çevresel ve ağız kaynaklı mikroorganizmalarla daha fazla temas halinde olmasıyla açıklanabilir. Vebayla enfekte olmuş bireylere ait beş petröz kemikte hiçbirinde saptanabilir düzeyde *Y. pestis* DNA'sı tespit edilemedi. Ancak aynı bireylerin diş dokularında veba etkenine rastlandığı görüldü. Sonuç olarak diş örneklerinin hem mikrobiyal içeriği hem de kan yoluyla dolaşan patojenik organizmaları koruduğu gösterilmiştir (Margaryan vd., 2018; Rasmussen vd., 2015).

Orta Çağ Avrupa'sına ait yedi kazı alanından toplanan ve MS 100-1200 aralığına tarihlenen 161 insan dişi üzerinde yapılan bir çalışmada ise dizilerin büyük çoğunluğunun bakteri-arke kökenli (yaklaşık %75) olduğunu göstermiştir. Çalışmada toplam 25 bakteri ve 4 arke sınıfı belirlenmiş; *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Clostridia* ile arkelerde *Methanobacteria* en yaygın grupları oluşturduğu görülmüştür. Örneklerin yaklaşık üçte ikisinde, antik DNA'ya özgü deaminasyon izleri sergileyen insan ilişkili, ağız kaynaklı *Corynebacterium matruchotii*, *Lautropia mirabilis*, *Tannerella spp.*, *Desulfobulbus spp.*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Propionibacterium spp.* ile arke grubundan *Methanobrevibacter smithii* gibi mikroorganizmalar tespit edildi (Philips vd., 2017).

Mann ve arkadaşlarının (2018) çalışmasında, dünya çapında dağıtılmış 48 bireyden alınan eşleştirilmiş diş taşı ve dentin örneklerinden elde edilen shotgun dizilimi verileri metagenomik bir yaklaşım kullanılarak karşılaştırıldı. Bu çalışmada, diş taşı örneklerinden elde edilen DNA'nın büyük bir kısmının mikrobiyal kökenli olduğu ve özellikle ağız mikrobiyomuna ait mikroorganizmaları temsil ettiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, diş taşıdaki insan DNA'sı oranı düşük (%0,08) bulunmuştur. Dentin örneklerinde ise insan DNA'sı içeriği değişkenlik göstermiş (ortalama %13,70) ve bazı örneklerde (%15,21) oral bakterilerin toplam DNA'nın %20'sinden fazlasını oluşturduğu gözlemlenmiştir. Diş taşıdaki insan DNA'sı oldukça parçalanmış olup, diş taşıdaki mikrobiyal DNA ve dentin örneklerindeki insan DNA'sına kıyasla daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, mikrobiyal DNA parçalanma örüntülerinin GC içeriğiyle ilişkili olduğu, ancak hücresel yapıyla bağlantılı olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada, periodontal hastalıklarla ilişkilendirilen "kırmızı kompleks" bakterileri (Mohanty vd., 2019) olan *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* ve *Treponema denticola* gibi patojenler ve bizim çalışmamızda da bulunan *Parvimonas micra* dental kalkülüs örneklerinde tespit edilmiştir. (Mann vd., 2018).

Başka bir çalışmada ise Abusir el-Meleq arkeolojik alanında elde edilmiş 119 mumyalanmış bireye ait 133 örnek incelendi; bunlar kemik, diş, yumuşak doku ve ayrıca beş diş taşı örneğini kapsıyordu. Radyokarbon ve bağlamsal tarihlleme ile örneklerin yaklaşık MÖ 2196–2045 tarihlerinden başlayarak Roma Dönemi'nin sonuna (MS 395) kadar uzanan geniş bir zaman aralığını kapsamaktadır. Diş ve diş taşları incelendiğinde ağız kommensal mikrobiyota elemanları saptandı: Kırmızı kompleks üyeleri *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Treponema denticola* ile *Filifactor alocis*, *Olsenella uli* ve bazı örneklerde *Streptococcus mutans*. Ayrıca incelenen dokularda *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Mycobacterium leprae* genomları ve hepatit B virüsü (HBV) gibi patojenler belirlendi (Neukamm vd., 2020).

Çalışmada Fransa'da Geç Neolitik-Erken Tunç Çağı toplu gömülerinden elde edilen 30 petröz kemiği, 5 kafatası kemiği ve 18 diş (toplam 53 örnek) taranmıştır. Örneklerde en az %10 insan DNA oranını geçen 26 ekstraktın 10 tanesinin diş kökenli olduğu görülmüştür. Radyokarbon sonuçları, malzemenin MÖ 3400-1600 dönemlerine tarihlendiğini göstermiştir. Metagenomik profiller kemiklerde ağırlıklı çevresel bakterilere işaret ederken, Mont-Aimé yapılarından elde edilen üç dişte okunmuş dizilerin %4,8-39,5'ini oluşturan tipik ağız mikropları saptandı: Bunların başlıcaları çürük etkeni

Streptococcus mutans ile periodontal patojenler *Treponema denticola*, *Porphyromonas endodontalis* ve *Campylobacter rectus* olduğu tespit edilmiştir. Ancak diş örneklerinde oral bakteriler dışında sistemik hastalık yapıcı patojen genomuna rastlanmadı. Bu çalışma kapsamında, dişlerin hem daha yüksek endojen insan DNA'sı taşıması hem de dişe özgü oral bakteri bolluğu sağlaması nedeniyle petrozal ve diğer kemiklere göre belirgin bir üstünlük sergilediğini göstermiştir (Seguin-Orlando vd., 2021)

Başka bir çalışma kapsamında Grotta di Pietra Sant'Angelo'daki tek bireyden alınan iki diş örneği incelendi: bir azı dişinin dentininden genom-ölçekli aDNA çıkarılırken alt kesici dişteki dental kalkülüs, antik ağız mikrobiyotası karakterizasyonu için kullanıldı. Karbon 14 verileri bu bireyin Orta Neolitik döneminde (yaklaşık olarak MÖ 5200-4900) yaşamış olabileceğini gösterdi. Diş taşı örneği incelendiğinde periodontal "kırmızı kompleks" (*Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*) ile *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Corynebacterium*, *Olsenella*, ayrıca arkeal *Methanobrevibacter oralis* yerleşik ağız mikrobiyota elemanları elde edildi. Ayrıca proteom ve metagenom verileri fırsatçı patojen sayılan *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium* ve *Eikenella corrodens* mikroorganizmalarına ait diziler olduğu tespit etti. Ancak diş örnekleri dahil olmak üzere, sistemik hastalık etkenleriyle ilişkili dizilere rastlanmadı. Araştırmacılar, diş taşının hem konak DNA'sını hem de periodontal patojenleri, dişlere göre daha fazla koruduğunu ortaya koymuş (Fontani vd., 2023).

Başka bir çalışmada ise, Letonya'daki iki Demir Çağı mezarlığından alınan insan diş ve kemik örneklerini (hem uzun kemikler hem de diş taç ve kökleri) rastgele dizileme temelli metagenomik yöntemle incelenmiştir. Bu örneklerin hepsi M.S. 7-11. yüzyıl aralığına tarihlenmiştir. Dişlerden ve kemiklerden okunan metagenomlarda baskın olarak toprak kökenli bakteriler görülse de diş örneklerinde ağız mikrobiyotasına ait dizilerin daha fazla korunmuş olduğu görülmüştür. Ayrıca dişlerden elde edilen mikroorganizma içeriği incelendiğinde, alfa çeşitlilik açısından kemik örneklerine göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte antik DNA örüntülerine ait bakterilerin, dişlerde daha fazla olduğu görüldü. Bu dişlerde: *Propionibacterium acidifaciens*, *Rothia aeria*, *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans* ile üç farklı *Actinomyces* oral taksonuna ait mikroorganizma tespit edilmiştir. Ayrıca toprakta yaşayabilen fakat insanlarda fırsatçı enfeksiyon yapabilen bazı patojen türler tespit edildi: *Brucella anthropi*, *Salmonella enterica*, üç farklı *Rhodanobacter* türü, *Rhodopseudomonas palustris*, *Cupriavidus metallidurans*, *Burkholderia pseudomallei* ve *Bordetella pertussis*. Sonuç olarak, dişlerin hem daha yüksek mikrobiyal çeşitlilik sergilediği hem de antik ağız mikrobiyotasına ait dizileri ve patojenleri daha iyi şekilde koruduğu görülmüştür (Kımsis vd., 2023).

Başka bir çalışmada 18. yüzyılda (1719-1787) yaşamış Anna Catharina Bischoff'a ait mumyadan beyin dokusu, dura mater, kafatası kemiği, diş, bağırsak dokusu gibi birden fazla doku örneği ve toprak kontrolleri üzerinde rastgele dizileme tekniğine dayalı metagenomik araştırma yapıldı. Diş örneklerinin ağız florasını en iyi koruyan doku oldu: *Prevotella denticola*, *Actinomyces dentalis* ve periodontal "kırmızı kompleks"in üyeleri *Treponema socranskii*, *T. denticola*, *T. maltophilum*

saptanırken diğer dokularda bu bakteriler görülmedi. Ancak beyin dokusunda toplam mikrobiyal okumaların %80'inden fazlasını oluşturan bir tüberküloz yapma yeteneği olmayan tüberküloz genomu *de novo* metagenom birleştirme tekniği ile oluşturuldu. Bu çalışmada diş, ağız mikrobiyotası elemanlarını koruma açısından diğer örneklerle göre belirgin bir üstünlük göstermiştir (Sarhan vd., 2023).

Bu çalışma kapsamında MÖ 2280-2140'a tarihlenen bu tek bireyin diş örnekleri kullanılarak ağız mikrobiyotasına ait *Tannerella forsythia*'nın birbirinden farklı iki suşu, *Treponema denticola* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi periodontal bakteriler tespit edilmiştir. Bununla birlikte diş kökünde antik kayıtlarda neredeyse hiç görülmeyen çürük etkeni *Streptococcus mutans* dizileri yüksek bollukta yakalanarak türün bilinen ilk tam antik genomlarından bir tanesi oluşturuldu. Ayrıca da dişlerin, özellikle kök dokusunun, diş taşına benzer mikrobiyom koruma yeteneğine sahip olduğunu ve *S. mutans* gibi asidojenik bakterileri diş taşlarına oranla daha iyi saklayabildiğini gösterdi (Jackson vd., 2024).

1.7. Diş Yüzeyinde Bulunan Bakteriler

Mutans streptokok bakteriler arasında bulunan, *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* bakteri türleri diş çürüklerinde sıklıkla görülen bakteriler arasında yer almaktadır (Sales vd., 2018). J. Clarke, 1924'te diş yüzeylerinin üzerinde bulunan çürüklerden *S. mutans* bakterisini izole etmiştir (Lemos vd., 2019). İnsan ağızında yaşayan bu gram pozitif bakteri türleri, diş plağı ve tükürükten izole edilmektedir. *S. mutans*, *S. sobrinus* türüne göre daha fazla izole edilmektedir. Dişin sert yüzeylerinde biyofilm tabakası oluşturan bakterilerdir (Alpöz ve Eronat, 2012; Lemos vd., 2019; Sales vd., 2018).

Ağız boşluğunun küçük olması ve besin az olması nedeni ile biyofilm tabakası oluşturan bakteriler rekabet halindedirler. *S. mutans* bakteri türü diş yüzeyinde fazla sayıda bulunduğu zaman *Streptococcus sanguinis* bakteri türü daha az bulunmaktadır. Bu bakterilerin gelişmesi durumu, ağız boşluğunda bulunan besin çokluğuna göre de değişkenlik göstermektedir (Türkmen vd., 2016). *S. sanguinis*, diş yüzeyinde bulunan bakteri türleri arasında yer almaktadır. Ağız mukoza yüzeylerinde ve tükürükten de izole edilebilmektedir. Bu bakteri türü *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakteri türlerinin aksine hastalığa neden olmaz. *S. sanguinis* türünün, diş sağlığında önemli etkileri vardır. *S. mutans* ve *S. sanguinis* bakteri türleri arasında ters ilişki olmasından dolayı da biri diğerinin etkisini zayıflatma eğilimindedir (Zhu vd., 2018).

Streptococcus gordonii bakteri türü de *S. mutans* ile rekabet eden bakteriler arasındadır (Türkmen vd., 2016). *S. gordonii*, insan vücudunun bazı bölgelerinde bulunan bir bakteridir. Ciltte, ağız boşluğunda, üst solunum yolunda ve bağırsakta bulunan ortak bakteriler arasındadır. Aynı zamanda çevresel bir bakteri olmakla birlikte su, toprak, bitki ve yiyeceklerde yaşamaktadır. Fazla olarak ağız boşluğunda yaşayan, patojen özelliği olmayan bir bakteridir. Fakat, fırsatçı bir bakteri olmasından kaynaklı olarak bazı hastalıklarla da ilişkili olabilir. Ağızda bulunan *S. gordonii*, diğer bakterilerle

birleşerek periodontal hastalıklara ve diş çürükleri oluşumuna yardımcı bir bakteri türü olabilir (O.-J. Park vd., 2020).

Porphyromonas gingivalis, ağız boşluğunda bulunmaktadır. Genel olarak bir bakteri yardımı ile diş yüzeylerine yapışırlar. Bu duruma katkı sağlayan bakteriler *Streptococcus salivarius* ve *Actinomyces viscosus* bakterileridir. *P. gingivalis*, periodontal hastalıklara neden olarak enfeksiyon oluşturmaktadır (Nelson vd., 2003; Türkmen vd., 2016).

Lactobacillus casei bakteri türü de dişlerde biyofilm tabakası oluşturmaktadır. Diş yüzeyine tutunabilmesini sağlayan bakteri ise *S. mutans* türüdür. Yine bu bakteri türü de diş çürüklerinin oluşmasına neden olur (Türkmen vd., 2016).

Tablo 1.1: Ağız boşluğundan sıklıkla izole edilen bakteriler (Özan vd., 2015).

Genus	Tür
Anaerobik bakteri	
Gram-negatif çomaklar	
<i>Porphyromonas</i>	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>P. cationiae</i>
<i>Prevotella</i>	<i>P. oralis</i> , <i>P. oris</i> , <i>P. buccae</i> , <i>P. corporis</i> , <i>P. denticola</i> , <i>P. loescheii</i> , <i>P. intermedia</i>
<i>Fusobacterium</i>	<i>F. nucleatum</i> spp. <i>nucleatum</i> , spp. <i>vincentii</i> , spp. <i>polymorphum</i>
<i>Mitsuokella</i>	<i>M. dentalis</i>
<i>Selomonas</i>	<i>S. sputigena</i> , <i>S. noxia</i>
<i>Campylobacter</i>	<i>C. sputorum</i> , <i>C. rectus</i> , <i>C. curvus</i>
<i>Treponema</i>	<i>T. denticola</i> , <i>T. vincentii</i> , <i>T. socranskii</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. forsythus</i>
Gram-pozitif çomaklar	
<i>Eubacterium</i>	<i>E. alactolyticum</i> , <i>E. lentum</i> , <i>E. yurii</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. acnes</i> , <i>P. propionicus</i> , <i>P. jensenii</i> , <i>P. granulosum</i> , <i>P. avidum</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. cateniforme</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. oris</i> , <i>L. uli</i> , <i>L. grasserii</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>A. israelii</i> , <i>A. odontolyticus</i> , <i>A. meyeri</i>
<i>Rothia</i>	<i>R. propionica</i>
Gram-negatif kok	
<i>Veillonella</i>	<i>V. parvula</i> , <i>V. alcalescens</i>
Gram-pozitif kok	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P. magnus</i> , <i>P. micros</i> , <i>P. anaerobius</i> , <i>P. prevotii</i>

Tablo 1.1 (Devamı): Ağız boşluğundan sıklıkla izole edilen bakteriler (Özan vd., 2015).

Genus	
Fakültatif anaerobik bakteri	
Gram-negatif çomaklar	
<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i>
<i>Capnocytophaga</i>	<i>C. ochracea, C. sputigena, C. gingivalis, C. haemolytica, C. granulosa</i>
<i>Actinobacillus</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
<i>Haemophilus</i> <i>seignis</i>	<i>H. aphrophilus, H. influenzae, H. parainfluenzae, H. paraphrophilus, H. seignis</i>
Gram-pozitif çomaklar	
<i>Corynebacterium</i>	<i>C. xerosis, C. matruchotii</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>A. naeshlundii, A. viscosus</i>
<i>Rothia</i>	<i>R. dentocariosa</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus, L. brevis, L. buchneri, L. casei, L. salivarius, L. fermentum</i>
Gram-negatif kok	
<i>Neisseria</i>	<i>N. flavescens, N. mucosa, N. sicca, N. subflava</i>
<i>Branhamella</i>	<i>B. catarrhalis</i>
Gram-pozitif kok	
<i>Streptococcus</i>	<i>S. mutans, S. sanguis, S. salivarius, S. sobrinus, S. rattus, S. downei, S. mitis, S. milleri, S. oralis, S. intermedius, S. constellatus</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus, S. epidermidis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis, E. faecium</i>

1.8. Pulpada Bulunan Bakteriler

Dental pulpa, sinir hücreleri ve zengin damar yapısıyla bağ dokudan oluşmaktadır. Dentinle çevrili olan pulpa, kanallar yoluyla dişin destek dokuları ve vücudun geri kalanıyla bağlantılıdır. Pulpada sıklıkla enfeksiyona neden olan bakteriler, koronal, periodontal veya dolaşım yoluyla pulpaya ulaşabilir. Sağlıklı bir pulpa semptom göstermez ve radyografik incelemede patolojik bulguya rastlanmaz. Dental pulpa ve periapikal dokulardaki enfeksiyonlara neden olan bakteriler daha ayrıntılı incelenmiştir. Bu bakterilerin endodontik enfeksiyonlardaki rolünü anlamak, tedavilerin başarısı için kritik öneme sahiptir (Şimşek ve Bulut, 2013).

Pulpa vakalarında yapılan moleküler çalışmalarda, şu bakteri türlerinin daha sık bulunduğu gösterilmiştir: *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Olsenella uli*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas endodontalis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteroidetes cloneX083*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococci*, *Actinomyces odontolyticus* (Aydın ve Mısırlıgil, 2012; Tirali ve Bodur, 2009).

Bu bakteri türleri genel olarak, reversible pulpitis, irreversible pulpitis, asemptomatik irreversible pulpitis, pulpa nekrozu gibi hastalıklara neden olmaktadır (Şimşek ve Bulut, 2013).

1.9. Sistemik Hastalıklar ve Ağız Mikrobiyomu

Kardiyovasküler hastalıklar; kalp krizi, kalp yetmezliği, ritim bozuklukları, damar sertliği, felç gibi durumları kapsar ve ölümlerin önemli bir nedenidir. Ağız sağlığı ile bu hastalıklar arasında doğrudan bir ilişki bulunmuştur. Periodontal tedavilerin kardiyovasküler hastalıkları riskini azalttığı gösterilmiştir. Bu hastalıklarda rol oynayan bakteriler arasında *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* ve *F. nucleatum* gibi türler yer alır. (Gancz ve Weyrich, 2023).

Diyabet, kan şekeri normalleşmesinin düzensiz olduğu bir kronik hastalıktır. Ağız sağlığı ile ilişkili olan hastalıklar arasında diyabet de bulunmaktadır ve yakından ilişkilidir. *Gingivitis* ve *Periodontitis* oranlarının diyabet hastalarında daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Diyabet hastalarındaki periodontal diş hastalıklarının bağışıklığa etkisi gözlemlenerek insülin direncini etkilemektedir (Gancz ve Weyrich, 2023; Pamukçu vd., 2018).

Romatizmal eklem iltihabı, eklem bölgelerinde oluşan, otoimmün bir hastalıktır. Periodontal hastalıklara da bağlı olarak meydana geldiği bilinmektedir. Bu durumun birçok örneği olmakla birlikte bunlardan bir tanesi, 2016 yılında yayınlanan makalede *Konik vd., A. actinomycetemcomitans* mikrobunun RA'ya neden olabileceğini öne sürmüştür (Gancz ve Weyrich, 2023)

Alzheimer hastalığı, hafızayı etkileyen nörolojik bir hastalıktır. Beyin hücrelerinin zamanla zarar görmesi ve ölmesi ile karakterizedir. Diğer hastalıklarda olduğu gibi alzheimer hastalığı da oral mikrobiyota ile ilişkilendirilmiştir. Alzheimer hastalığı, ağız mikropları ve virülans faktörleri ile etkilenecek, kan veya lenf yoluyla beyni etkilemesi sonucu meydana gelmektedir (Gancz ve Weyrich, 2023).

Bu hastalıklar dışında ağız mikrobiyomunun olumsuz etkilenmesi sonucunda ortaya çıkan başka hastalıklar da kanıtlanmıştır; çeşitli kanser hastalıkları, olumsuz gebelikler, ruh sağlığı bozukluğu (Gancz ve Weyrich, 2023).

1.10. Bakteriyemi ve Etkili Olduğu Bölgeler

Ağızda bulunan bakteriler, çeşitli durumlar nedeniyle kana karışabilirler. Bu, genellikle ağız hijyeninin yetersiz olduğu, diş etlerinin iltihaplandığı veya diş çürükleri gibi sorunların olduğu durumlarda meydana gelir. Bakteriler, kan yoluyla vücuda yayıldığında farklı organ ve sistemleri etkileyebilirler. Kan dolaşımında bakteri bulunması durumu bakteriyemi olarak adlandırılır. Bakteriyemi, ağızdan kana karışan bakterilerin vücutta yarattığı enfeksiyonları ifade eder (Smith ve Nehring, 2023; Soylu vd., 2021).

Endokardit, kalp kapakçıklarında bulunan enfeksiyon hastalığıdır. Ağızda bulunan bazı bakteriler, özellikle diş eti hastalıklarına yol açan bakteriler, kan yoluyla kalbe ulaşabilir. Bu, ciddi bir durumdur ve kalp fonksiyonlarını etkileyebilir. Kalp kapakçığı hastalıkları veya yapay kalp kapakçığı hastalıkları oluşmaktadır (Media, 2025).

Bakteriyemi yine beyin enfeksiyonlarına da yol açabilmektedir. Bunun sonucunda alzheimer hastalığı meydana gelmektedir (Gancz ve Weyrich, 2023). Bakteriyemi, organlara zarar verebilir ve enfeksiyonlara yol açabilir; böbrekler, karaciğer ve akciğerlerde enfeksiyonlara neden olabilir (McCabe vd., 1983). Bakteriyemi, ciltte ve yumuşak dokularda enfeksiyonlara yol açabilir ve genellikle bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde daha yaygındır (Smith ve Nehring, 2023).





2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Örneklem

Çalışma kapsamında, dentin, sementum, uzun kemik ve kafatası örnekleri kullanılmıştır (Tablo 2.1). 14 dentin, 16 sementum, 1 uzun kemik örneği ve 3 kafatası (lezyon) örnekleri kullanılmıştır. Bu örnekler, Stockholm Üniversitesi Paleogenetik Merkezi'nde Dr. Maja Krzewinska tarafından işlenmiştir ve DNA dizilemesi için gönderilmiştir. Çalışmamızın bağlamında, bu örneklerden elde edilen DNA kütüphaneleri kullanılmıştır.

Tablo 2.1: Çalışma kapsamında DNA dizilemesi için gönderilen örnekler. Sadece tpl194 örneğinden yeteri kadar DNA elde edilememiştir.

Örnek ismi	İskelet Örneği	Arkeolojik Alan	Tarih	Kod
Tpl002	Sementum	Härnösand, Västernorrland, Sweden	16th - 20th c CE/Early Modern	1
Tpl003	Dentin	Härnösand, Västernorrland, Sweden	16th - 20th c CE/Early Modern	2
Tpl004	Kafatası (lezyon)	Härnösand, Västernorrland, Sweden	16th - 20th c CE/Early Modern	3
Tpl192	Sementum	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	4
Tpl193	Dentin	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	5
Tpl194	Kafatası (lezyon)	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	6
Tpl522	Sementum	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	7
Tpl523	Dentin	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	8
Tpl524	Kafatası (lezyon)	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	9
Tpl525	Uzun kemik	Stradom, Poland Carcow,	16th-17th c CE / Early Modern	10
Grk033	Sementum	Gorky I, Voronezhskaya oblast, Russia	500-300 BCE / Scythian, Iron Age	11
Grk033	Sementum	Gorky I, Voronezhskaya oblast, Russia	500-300 BCE / Scythian, Iron Age	12

Tablo 2.1 (Devamı): Çalışma kapsamında DNA dizilemesi için gönderilen örnekler. Sadece tp1194 örneğinden yeteri kadar DNA elde edilememiştir.

Grk033	Dentin	Gorky I, Voronezhskaya oblast, Russia	500-300 BCE / Scythian, Iron Age	13
Grk033	Dentin	Gorky I, Voronezhskaya oblast, Russia	500-300 BCE / Scythian, Iron Age	14
Krz045	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	15
Krz45	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	16
Krz45	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	17
Krz45	Dentin	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	18
Krz45	Dentin	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	19
Krz45	Dentin	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	20
Krz45	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1515 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	21
Krz102	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1625 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	22
Krz102	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1625 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	23
Krz102	Sementum	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1625 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	24
Krz102	Dentin	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1625 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	25
Krz102	Dentin	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1625 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	26
Krz102	Dentin	Krzyżanowice, Lesser Poland, Poland	1625 BCE / Mierzanowice, Bronze Age	27
Mbv200	Sementum	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	28
Mbv200	Sementum	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	29
Mbv200	Sementum	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	30

Tablo 2.1 (Devamı): Çalışma kapsamında DNA dizilemesi için gönderilen örnekler. Sadece tpl194 örneğinden yeteri kadar DNA elde edilememiştir.

Mbv200	Sementum	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	31
Mbv200	Dentin	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	32
Mbv200	Dentin	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	33
Mbv200	Dentin	Västerhus, Jämtland, Sweden	11th - 15th c CE, Early Medieval	34

2.2. aMETA ile Taksonomik Sınıflandırma

Örneklerden elde edilen fastq dosyaları, aMeta antik metagenomik sınıflandırma protokolü kullanılarak incelenmiştir (Pochon vd., 2023). Bu protokoldeki amaç, bir grup arkeolojik örnekten elde edilen DNA okumalarını taksonomik olarak sınıflandırmak ve antik mikrobiyal canlıları bulmayı hedeflemektir. Bunun için, DNA okumalarının dizisi, taksonomik kategorileri bilinen referans genom veri tabanı ile karşılaştırılır ve bu sayede, her aDNA okumasının potansiyel taksonomik kaynağı tespit edilmeye çalışılır. Bu iş için iki tip analiz yöntemi kullanılmaktadır: Kompozisyon ve hizalama temelli yöntemler:

Kompozisyon temelli yöntemlerde, canlının referans genomu öncelikle *k*-uzunluğunda dizilere ayrılır ve elde edilen *k*-mer dizileri, taksonomik ağaç üzerine yerleştirilir. Bu sürecin sonunda, her taksonomik sınıfa özgü, tekli *k*-mer dizileri elde edilmiş olur. Yani, her *k*-mer dizisi, sadece bir taksonomik sınıf ile ilişkilendirilmiş olur. Bu tekniği kullanan programlar *kraken* ailesi araçlarıdır, *Kraken2* (Wood vd., 2019), *KrakenUniq* (Breitwieser vd., 2018).

Hizalama temelli yöntemlerde de yine bir referans genom veri tabanı kullanılır. Ancak bu yöntemde, DNA dizileri ve referans genomlar arasındaki benzerlik değerleri, ikili DNA hizalama yöntemi ile incelenir. Sonuç olarak, her aDNA dizisinin, en yüksek benzerlik gösterdiği referans genomlar tespit edilerek, aDNA dizilerinin olası taksonomik sınıfları belirlenir. Bu yaklaşımı kullanan araçlar ise, *Bowtie2* (Langmead ve Salzberg, 2012), *MALT* (Herbig vd., 2016).

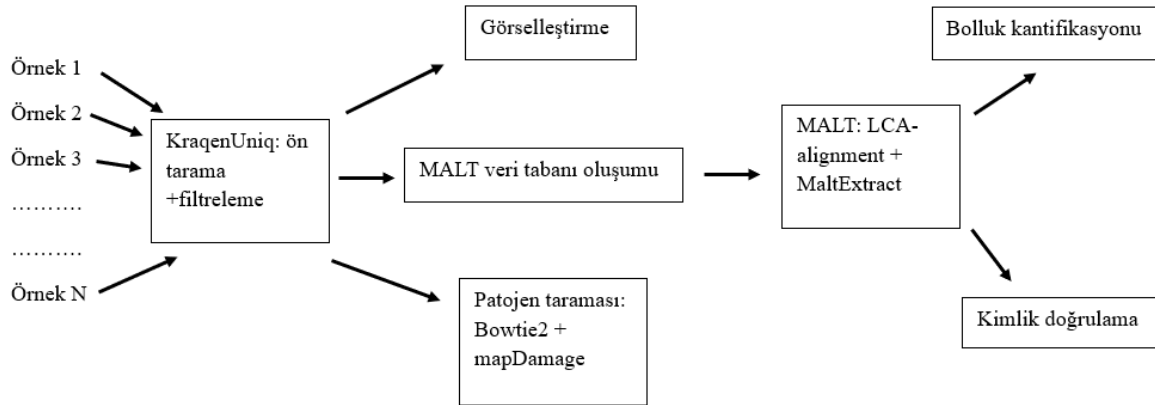
Kompozisyon temelli yöntemler, geniş bir referans genom veri tabanı kullanma imkânı sağladığı için, metagenomik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemlerin, yüksek hatalı pozitif sonuç verdikleri bilinmektedir. Ayrıca, antik DNA hasar örüntülerini tespit etme imkânımız kompozisyon temelli yöntemlerde bulunmamaktadır (Pochon vd., 2023).

Hizalama temelli yöntemler ise, daha hassas olmakla ve antik DNA hasarlarını belirlememize imkân sağlamakla birlikte, biyoinformatik açıdan daha masraflıdır ve büyük referans genom veri tabanları kullanmamızı engellemektedir (Pochon vd., 2023).

Kullanılan metagenomik analiz protokolü, aMeta, bu iki farklı tekniği birleştirmekte ve optimal bir antik patojen tanımlaması yapma imkânı sağlamaktadır. Bu işlem iki adımda gerçekleştirilir (Şekil 2.1):

- Mikrobiyal içeriğin tanımlanması

- Antik mikroorganizmaların otantikasyonu



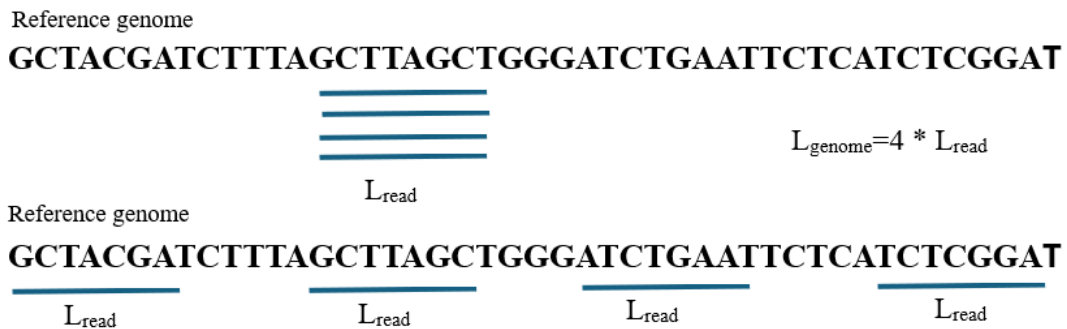
Şekil 2.1: aMETA: Antik metagenomik profillemiş iş akışı genel bakış (Pochon vd., 2023).

2.2.1. Mikrobiyal İçerik Tespiti

İlk adımda, kompozisyon temelli araçlardan biri olan *KraçenUniq* aracı kullanılarak, NCBI NT, NCBI veri tabanında nükleotit içeren organizmalar, mikrobiyal referans genom veri tabanı ile, örneklerdeki mikrobiyal içerik tespit edilir. Bu tespit için iki farklı belirteç kullanılmaktadır:

- Genom derinliği, yani o canlıya ait kaç tane okuma olduğu.
- Genomun yüzde kaçını kapsandığı.

Birinci adımda, *KraçenUniq* aracı bize bir mikrobiyal çokluk matrisi verecektir. Bu çıktı içerisinde, her mikroorganizmanın sahip olduğu okuma derinliği ve genom kapsamı bilgileri kullanılacak ve 200 tane DNA okumasından daha az ve 1000 tane tekil *k*-mer dizisinden daha az diziye sahip olan mikroorganizmalar filtrelenecektir. Bu mikroorganizmalar aslında hatalı pozitif sonuçları temsil etmektedir (Pochon vd., 2023).



Şekil 2.2: Bir mikroorganizmayı tespit etmek için hem okuma derinliği hem de genom kapsamı (Pochon vd., 2023).

2.2.2. Mikroorganizma Otantikasyonu

İkinci adımda ise tespit edilen bakterilerin referans genomları elde edilerek, *MALT* (Herbig vd., 2016) isimli hizalama temelli taksonomik sınıflandırma aracı kullanılarak, yeni bir referans genom veri tabanı oluşturulacaktır. Ardından DNA kütüphaneler bu veri tabanına hizalanacaktır.

Son olarak, bu bakterilere ait otantikasyon skorları elde edilecektir. Bu otantikasyon skorları, aşağıdaki belirteçlere göre hesaplanacaktır:

- Deaminasyon profili
- Dengeli okuma kapsamı dağılımı
- Mutasyon uzaklığı
- Antik DNA okumaları için mutasyon uzaklığı
- Okuma uzunluğu dağılımı
- PMD puanlarının dağılımı
- Atanan okuma sayısı (kapsam derinliği)
- Ortalama nükleotid kimliği (ANI)

Her metagenomik örnekte bulunan antik mikrobiyal türlerin hızı bir görsel değerlendirilmesini sağlamak için geliştirilmiştir. Tüm kalite ölçütlerini incelemek zaman alacağından ve bazen mümkün olmayacağından dolayı, aMeta özel bir puanlama sistemi uygulamaktadır. aMeta'nın bu sistemi *MALT* tarafından sağlanan LCA hizalamaları üzerinde hesaplanan sekiz doğrulama ve kimlik doğrulama ölçütünü verir (Pochon vd., 2023).

Deaminasyon profili, okumalarda deaminasyon görünmediği durumlarda, antik DNA olmadığını göstermektedir. Elde edilen okumalarda deaminasyon profilleri var mı ona bakılmaktadır. Deaminasyon. 5' uçta C> T ve 3' uçta G> A dönüşümü şeklinde tespit edilir. DNA uçlarında C→T (5' ucu) ve G→A (3' ucu) geçiş mutasyonlarının daha yüksek sıklıkta olduğunu göstermektedir. 5' ucunda C→T sıklığı ve 3' ucunda G→A sıklığı %5'i aşıyorsa +1 puan eklenir. Canlıların referans genomlarında büyük oranda tekrarlı bölgeler bulunmaktadır. Bu yüzden okumalar genomun sadece belirli bölgelerinde toplanıyorsa, bu yanlış pozitif bir sonucu işaret edebilir. Okumaların, referans genomun bütününe eşit bir şekilde dağılımı beklenmektedir. İncelenen grafikte ise, genom kapsamının her pencerede homojen bir şekilde dağılımı beklenmelidir. Antik DNA okumalarının referans genomu eşit şekilde kapsanması, mikroorganizmanın varlığını doğrular. Bu durumda +2 puan eklenir. Kapsama dağılımını ölçmek için, referans genom 100 bölüme ayrılarak, ortalama kapsama alanı sifıra yakın olan bölümlerin sayısı alınır. Eğer 100 bölgenin en az 97'sinde kapsama varsa yani hemen hemen tüm bölümlerde birkaç aDNA okuması varsa, toplam puan 3 puan artırılır. Mutasyon uzaklığı, DNA okumasıyla, referans genom arasındaki eşleşmeyen nükleotid miktarını göstermektedir. Mutasyon uzaklığı ne kadar artarsa DNA'yı doğru sınıflandırma ihtimali de o kadar azalmaktadır. Okumaların büyük kısmının küçük mutasyon uzaklıklarına sahip olması beklenmektedir. Tüm okumalar ve hasarlı okumalar, hatasız veya az hatalı şekilde haritalanıyorsa, her biri için +1 puan eklenir. Hasarlı dizilerin en az bir hata içermesi beklenir.

Haritalanan okumaların sayısı, hata sayısı arttıkça azalması gerekmektedir. Okuma uzunluğu dağılımına bakılarak, okumaların hangi bölgelere daha çok yığılmış olduğu gözlemlenmektedir. Antiklerin okuma uzunluğunun daha kısa olması gerekmektedir. Okumaların %90'ı 100 baz çiftinden kısa ise, +1 puan eklenir. İncelenen grafikte azalan bir görüntü elde edilmektedir. PMD puanlama dağılımında, PMDtools aracı kullanılarak, her DNA okumasının antik olup olmadığının olasılığı hesaplanır. Bu skorun 3'ten büyük olduğu durumlarda, okumanın antik olma olasılığı yüksektir. En az %10 okumanın PMD skoru 3'ün üzerinde olup olmadığı değerlendirilir ve eğer 3'ün üzerinde ise, +1 puan eklenir. Kapsama derinliği, 200 DNA okuması eşik değeri ile kontrol edilir. Bu değer, güvenilir deaminasyon profili hesaplamak için okuma sayısının yeterli miktarda olduğunu gösterir. Referans genoma en az 200 okuma haritalandıysa, +1 puan eklenir. Ortalama nükleotid kimliği (ANI) ile okunan DNA dizilerinin, referans genom ile benzerliği hesaplanır. Okunan dizilerin kimlik yüzdelерinin ağırlıklı ortalaması olarak hesaplanır. Eğer ANI metriği, %95'in üzerinde ise, +1 puan eklenir (Pochon vd., 2023).

2.3. Dokulardaki Tür Çeşitliliğinin Belirlenmesi (Alfa Çeşitlilik)

Alfa çeşitlilik, ekoloji ve biyoloji alanlarında sıkça kullanılan bir terimdir ve belirli bir alandaki canlı türlerinin zenginliğini ve bolluğunu ifade eder. Bu kavram, özellikle biyoçeşitlilik çalışmalarında önemli bir yer tutar. Ekoloji ve doğa koruma alanlarında, farklı habitatların tür zenginliğini karşılaştırmak ve çevresel değişikliklerin canlılar üzerindeki etkisini değerlendirmek için önemli bir araçtır. Tarımda, özellikle sürdürülebilirlik açısından, monokültür (tek tür bitkinin geniş alanda yetiştirilmesi) ve polikültür (aynı tarım alanında birden fazla bitki türünün birlikte yetiştirilmesi) sistemler arasındaki biyolojik çeşitliliği ölçmekte kullanılır. Mikrobiyoloji ve insan sağlığı bağlamında ise, başta bağırsak mikrobiyotası olmak üzere vücuttaki mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılır. Diş hekimliği ve ağız sağlığı alanında da alfa çeşitliliğin önemi giderek artmaktadır. Ağız içindeki mikrobiyal çeşitlilik, çürükler ve diş eti hastalıkları gibi sorunların gelişimiyle bağlantılıdır; düşük çeşitlilik, hastalık yapan bakterilerin çoğalmasına yol açabilir (Altieri, 1999; Butcher vd., 2022; Whittaker, 1972).

Alfa çeşitliliği, tek bir örnekteki tür çeşitliliğini ölçer. İncelenen farklı tür sayısına göre, tek bir örneğin çeşitliliğini ölçmektedir. Bu çeşitlilikleri ölçmek için, bazı indeksler kullanılmaktadır. Antik metagenomik çalışmalarda, alfa çeşitlilik indeksleri, geçmiş mikrobiyal toplulukların çeşitliliğini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu indeksler, antik DNA örneklerinden elde edilen verilerin analizinde, mikrobiyal ekosistemlerin zaman içindeki değişimlerini ve evrimsel süreçlerini incelemek için önemli araçlardır (Andermann vd., 2022; Gülsoy ve Özkan, 2008; Kers ve Saccenti, 2022).

2.3.1. Shannon İndeksi

Shannon indeksi, belirli bir topluluktaki türlerin ne kadar çeşitli olduğunu gösterir. Türlerin sayısı ve bollukların eşitliği arttıkça artar. Shannon değeri ne kadar yüksekse, topluluktaki tür çeşitliliği de o kadar yüksektir. Ne kadar düşük olursa da o kadar düşüktür. Bu değer '0' olduğunda, bir türün bulunduğu bir topluluğu belirtmektedir. Eğer bir alandaki türler eşit olarak dağılmışsa Shannon indeksi daha yüksek olur. Ancak birkaç tür daha baskın ise indeks daha düşük olur (Gülsoy ve Özkan, 2008; Hill, 1973; Kers ve Saccenti, 2022; Shannon, 1948) (Denklem 2.1).

$$H = -\sum p_i \cdot \ln p_i \quad (2.1)$$

Denklem 2.1: Shannon indeks hesaplaması. S, toplam tür sayısını; p_i ise i . türün tüm bireyler içindeki oransal bolluğunu ifade eder. i ise topluluktaki her bir türü temsil eder.

2.3.2. Simpson İndeksi

Simpson indeksi, bir topluluktaki iki farklı bireyin, rastgele olarak seçilmesi durumunda, bireylerin aynı türe ait olma olasılıklarını ölçmektedir. Bu indeks bir olasılık olduğundan dolayı, Simpson değeri '0' ile '1' arasında değişmektedir. 0 değeri çeşitliliği belirtirken, '1' değeri çeşitliliği belirtmez. Simpson değeri, ne kadar yüksekse, çeşitlilik de o kadar düşük olmaktadır (Gregorius ve Gillet, 2008; Kers ve Saccenti, 2022; Kiernan, 2013; Simpson, 1949). Simpson indeksi şu şekilde hesaplanmaktadır (Denklem 2.2):

$$D = \sum_{i=1}^S p_i^2 \quad (2.2)$$

Denklem 2.2: Simpson indeks hesaplaması. S, toplam tür sayısını; p_i ise i . türün tüm bireyler içindeki oransal bolluğunu ifade eder. i ise topluluktaki her bir türü temsil eder.

2.3.3. Ters Simpson İndeksi

Ters Simpson indeksi, bir topluluğun tür çeşitliliğini ölçen bir indekstir. Bu değer her zaman 0'dan büyüktür ve topluluktaki hem tür sayısı hem de bu türlerin dağılımındaki çeşitlilik arttıkça değer de yükselir (Gülsoy ve Özkan, 2008; Simpson, 1949).

Simpson indeksi, ekosistemdeki baskın türleri vurgularken, ters Simpson indeksi topluluktaki genel çeşitliliği daha net göstermek için kullanılır. Yüksek bir ters Simpson değeri, daha dengeli bir topluluk yapısını ve yüksek çeşitliliği işaret eder. Düşük bir değer, baskın türlerin sayıca fazla olduğunu ve çeşitliliğin düşük olduğunu gösterir (Kers ve Saccenti, 2022; Simpson, 1949).

2.4. Dokulardaki Tür Farklılıkların İncelenmesi (Beta Çeşitlilik)

Beta çeşitlilik, iki örneğin karşılaştırmasını yapmayı amaçlamaktadır. Örnekler arasındaki farklılıkları karşılaştırmaktadır (Andermann vd., 2022; Baselga, 2010; Gülsoy ve Özkan, 2008; Kers ve Saccenti, 2022).

2.4.1. Bray Curtis Analizi

Bray curtis analizi, iki örnek arasındaki tür popülasyon farklılıklarını ölçmektedir. Örnekler, aynı dokudan olduğu durumda benzer türler olduğu, farklı dokudan olduğu durumda ise farklı türler olduğu gözlemlenmektedir. Bu örnekler birden fazla ortak türe sahip olduğunda benzer türler olduğu anlaşılmaktadır. Örnekler fazla tür taşıdığına, ne kadar ortak tür taşıyorsa, buna ters orantılı bir şekilde bray curtis uzaklığına sahip olmaktadır. Bu uzaklık 0 ile 1 arasında değişmektedir. Her iki örneğin aynı sayıda mikrop taşıması durumunda bray curtis uzaklığı, 0 olmaktadır. Örneklerin hiçbir ortak mikrop taşımadığı durumda ise bray curtis uzaklığı 1 olmaktadır (Bray ve Curtis, 1957; Faith vd., 1987; Kers ve Saccenti, 2022) (Denklem 2.3).

$$BC_{ij} = 1 - \frac{2C_{ij}}{S_i + S_j} \quad (2.3)$$

Denklem 2.3: Bray Curtis uzaklığının hesaplanması BC_{ij} : Bray-Curtis uzaklığını ifade eder. C_{ij} : iki farklı örnekte ortak olan tür sayısı. S_i : sadece i çevresinde bulunan tür sayısı. S_j : sadece j çevresinde bulunan tür sayısı.

2.4.2. Birincil Öz Bileşen Tahlili (PCA)

Birincil öz bileşen tahlili (PCA, Principal Component Analysis), büyük boyutlu verileri daha küçük boyuta indirmek için kullanılan bir tekniktir. Mikrobiyal profilleri kullanarak örnekleri birbirinden ayırmak isterken, bütün eksenleri aynı anda görselleştirmek mümkün değildir. PCA, çok boyutlu verileri, bütün verilerin sahip olduğu varyasyonu içeren 3 boyutlu eksene indirgemektedir. Bu sayede oluşturulan öz bileşenlerden ilk üç eksen, tüm veri setinin sahip olduğu varyasyonun büyük bir kısmını içermektedir (Öğündür, 2020; Ringné, 2008).

2.5. Dentin ve Sementum Örneklerinde Alfa Çeşitlilik Farkının Test Edilmesi

İki grubun ortalamaları arasındaki farklılıkları belirlemek için kullanılan istatistiksel bir testtir. İki grup arasındaki anlamlı farklılıklara bakılır ve arasında nasıl bir ilişki olduğu tespit edilir. Bu karşılaştırma sayesinde iki veri setinin popülasyonuna bakılır ve aynı olup olmadığı anlaşılır. *T-test*, birbirinden bağımsız iki farklı koşulun ortalamalarını karşılaştırmak için sıklıkla kullanılan bir

yöntemdir. *T-test*, bir *t* değeri hesaplayarak, gruplardaki farklılıklara göre ortalamalar arasındaki farkı temsil eder. Bunun anlamlı olup olmadığını belirlemek için de *t* dağılımı değeriyle karşılaştırılır (Hayes, 2023).

Dentin ve sementum dokularındaki shannon, simpson, ters simpson değer ortalamaları çok fazla olmamakla birlikte, birbirinden farklı değerler taşımaktadır. Bu farkın anlamlı olup olmadığını tespit etmek için *t-test* kullanılabilir. *T-test* sonucunda, dentin ve sementum örneklerinde, shannon, simpson ve ters simpson çeşitlilikler arasında anlamlı bir fark olmadığı anlaşılmıştır.

2.6. Dentin ve Sementum Örneklerinde Anlamlı Değişen Mikroorganizmaların Tespiti

Dentin ve sementum doku tiplerine özgü olan mikroorganizmaları belirlemek için *DESeq2* (Love vd., 2014) isimli R kütüphanesi kullanılmaktadır. Bu araç, farklı örnek grupları içerisinde çokluklarını anlamlı olarak değişen mikroorganizmaları tespit etmektedir.

DESeq2, karşılaştırmalı çokluk analizi yapmak için kullanılan bir R paketidir (Love vd., 2014). Bu analiz ile veri setinde bulunan farklı koşullar arasındaki mikrobiyal organizmaların çokluk seviyelerindeki farklılıklar analiz edilmektedir. Bu analizin amacı, karşılaştırılan koşullar arasında, istatistiksel olarak karşılaştırmalı bolluk farklılıklarını analiz etmektir (Love vd., 2014; Nearing vd., 2022; Robinson ve Oshlack, 2010).

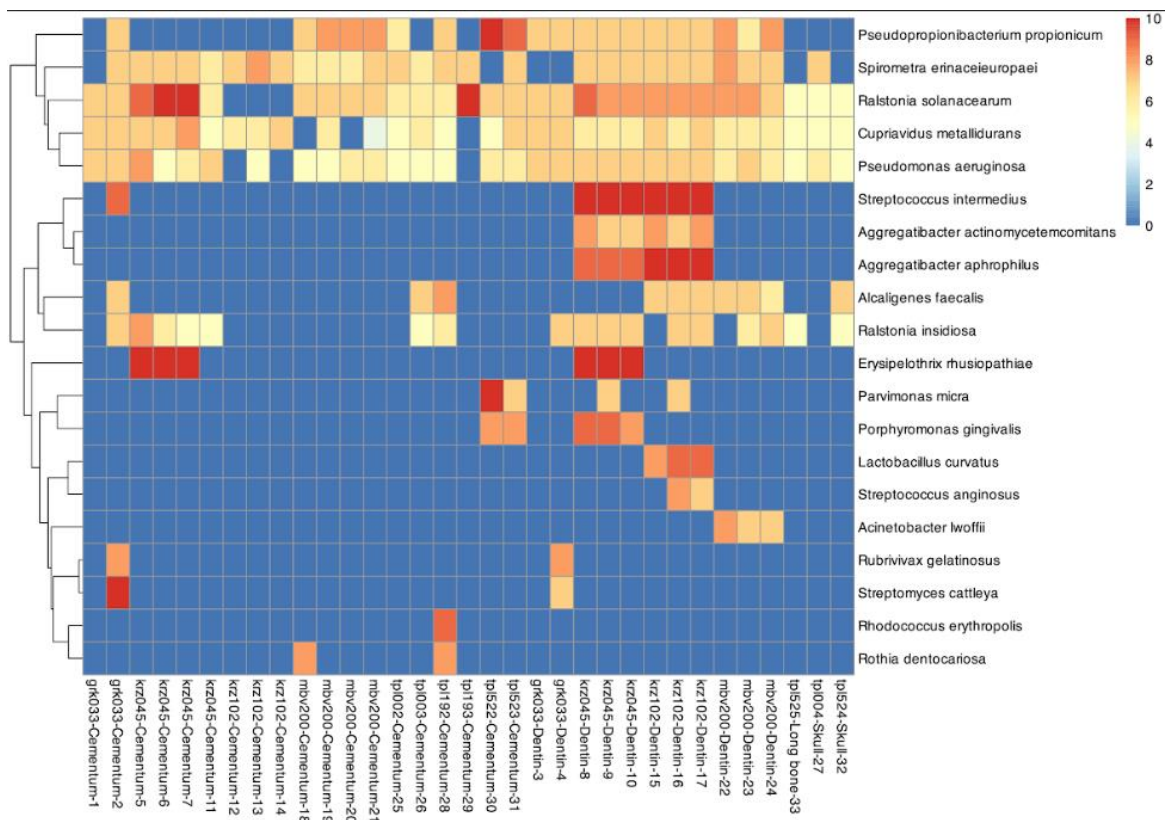
Bu analiz için *KraegenUniq* aracının çıktısı kullanılmıştır. Yani örnekler içerisinde tespit edilen bütün mikroorganizmaları bu analiz için kullandık.



3. SONUÇLAR

3.1. Örneklerde Tespit Edilen Antik Bakteriler

Uygulanan aMeta protokolünün ardından, antik olma potansiyeli bulunan toplam 319 tane mikrobiyal organizma tespit edilmiştir. Bu organizmaların büyük çoğunluğunu bakteriler oluşturmakla birlikte, bunlar arasında bir adet ökaryotik organizma da yer almaktadır. Protokol uyarınca hesaplanan antiklik skorları filtrelendiğinde, en az 8 antiklik skoruna sahip 19 tane bakteri tespit edilmiştir (Şekil 3.1). Ek olarak bir tane de ökaryotik organizma bulunmuştur.



Şekil 3.1: Tespit edilen organizmaların örneklerle göre dağılımı. Yatay eksen çalışmada kullanılan örnekleri temsil etmektedir. Düşey eksen ise örneklerde tespit edilen mikrobiyal organizmaları göstermektedir. Renkler ise, mikrobiyal organizmaların antiklik değerleri göstermektedir (10 en yüksek antiklik skoru, şekilde ise 7'den daha yüksek antiklik skoruna sahip bakteriler görülmektedir).

Bu şekilde yatay eksen de doku örnekleri, dikey eksen de ise bakteri türleri yer almaktadır. Antik ve modern bakteriler renkler ve skorlarla belirtilmektedir. Harita, 7'nin üzerinde olan değerleri göstermektedir. Kırmızı renkler, yani skor değeri 7'nin üzerinde olanlar antik bakterileri belirtmektedir. Çalışma kapsamında, antik olma potansiyeline sahip 20 tane canlı tespit edilmiştir. Bunlardan bir tanesi bir ökaryotik organizma olan *Spirometra erinaceieuropaei* olmuştur. Bunun dışında 19 tane antik mikroorganizma tespit edilmiştir.

Tespit edilen bakterilerden, *Ralstonia solanacearum*, *Cupriavidus metallidurans*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları bütün örneklerde tespit edilmiştir.

Aggregatibacter aphrophilus, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Lactobacillus curvatus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus anginosus*, *Acinetobacter lwoffii* gibi ağız bakterileri, çoğunluk olarak dentin örneklerinde tespit edilmiştir.

Bununla birlikte *Rothia dentocariosa*, *Rhodococcus erythropolis* gibi bakterilerin ise sementum örneklerinde tespit edildiği görülmüştür.

Pseudopropionibacterium propionicum, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Streptomyces cattleya*, *Rubrivivax gelatinosus* türleri ise hem dentin hem de sementum örneklerinde görülmüştür.

Bütün doku tiplerinde bulunan organizmalara baktığımızda ise, *Ralstonia solanacearum*, *Cupriavidus metallidurans*, *Alcaligenes faecalis*, *Ralstonia insidiosa*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmalarını görmekteyiz.

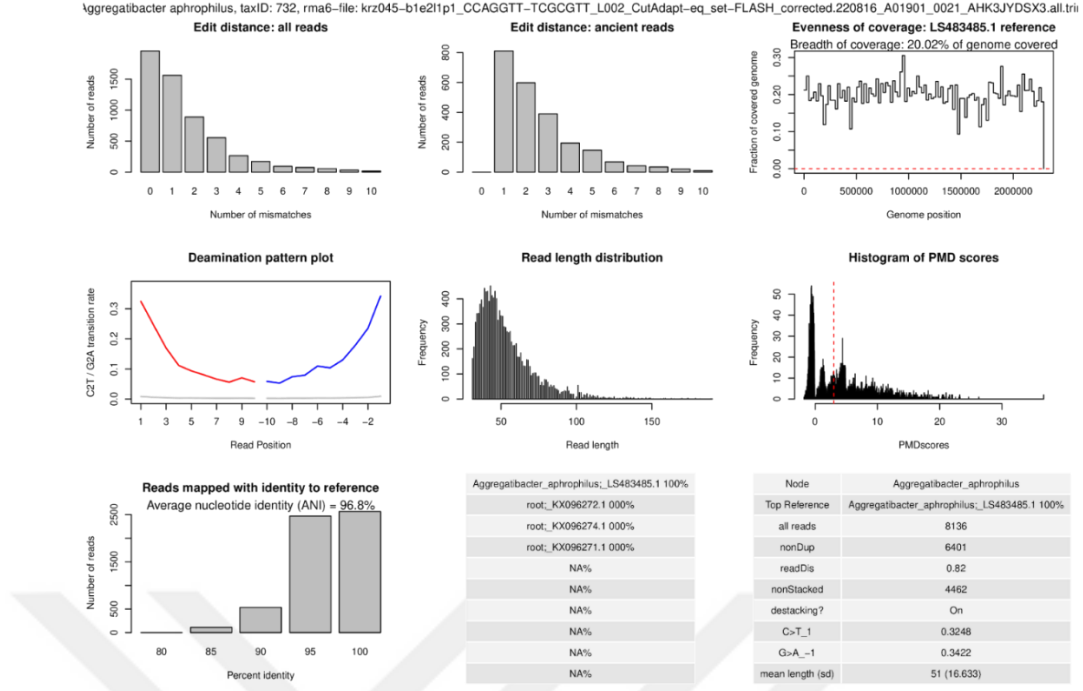
Tablo 3.1: Tespit edilen antik mikroorganizmaların genel özellikleri

Bakteri ismi	Genel özellikleri
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Birçok bitkide solgunluk hastalığına neden olan toprak patojenidir.
<i>Spirometra erinaceieuropaei</i>	Nadiren insanlarda sparganosis'e yol açan, larvaları çevrede de bulunabilen tenya türüdür.
<i>Pseudopropionibacterium propionicum</i>	Ağız florasında bulunan, periapikal enfeksiyonlara ve aktinomikoza yol açabilen bakteridir.
<i>Cupriavidus metallidurans</i>	Ağır metallerle karşı yüksek direnç gösteren çevresel, çevresel kontaminasyon nedeni olan bir bakteridir.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tatlı sularda yaygın bulunan ve bağışıklığı zayıf bireylerde enfeksiyona yol açabilen fırsatçı patojendir.
<i>Streptococcus intermedius</i>	Orofarenks, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemin florasında bulunur. Periodontit, menenjit, endokardit, apse gibi enfeksiyonlara neden olabilir.
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	Ağız florasında bulunan ve endokardit ile periodontal enfeksiyonlara yol açabilen bir bakteridir.
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Ağız mikrobiyotasında bulunur. Periodontal patojendir.
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Çevre ve insan sindirim kanalında bulunur, bağışıklığı zayıf olanlarda enfeksiyon ve postoperatif endoftalmiye neden olabilir.
<i>Ralstonia insidiosa</i>	Güçlü biyofilm oluşturur ve dezenfeksiyon sonrası düşük besinli ortamlarda enfeksiyonlara neden olabilir
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Hayvanlarla temas eden meslek gruplarında insanlarda erizipeloid, yaygın deri enfeksiyonu ve bakteriyemi gibi hastalıklara neden olur
<i>Parvimonas micra</i>	Ağız boşluğu ve diş plaklarında bulunur ve patojenik etkiye sahip bir bakteridir. Aynı zamanda gastrointestinal sistemde de yaşamaktadır.
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Ağız boşluğunda bulunmaktadır. Periodontal hastalıklarda rol oynar.
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Hayvansal ve bitkisel fermente ürünler ile çevresel kaynaklardan izole edilen, laktik asit üretilen fermantasyon kültürü olarak kullanılan çok yönlü bir bakteridir

Tablo 3.1 (Devamı): Tespit edilen antik mikroorganizmaların genel özellikleri

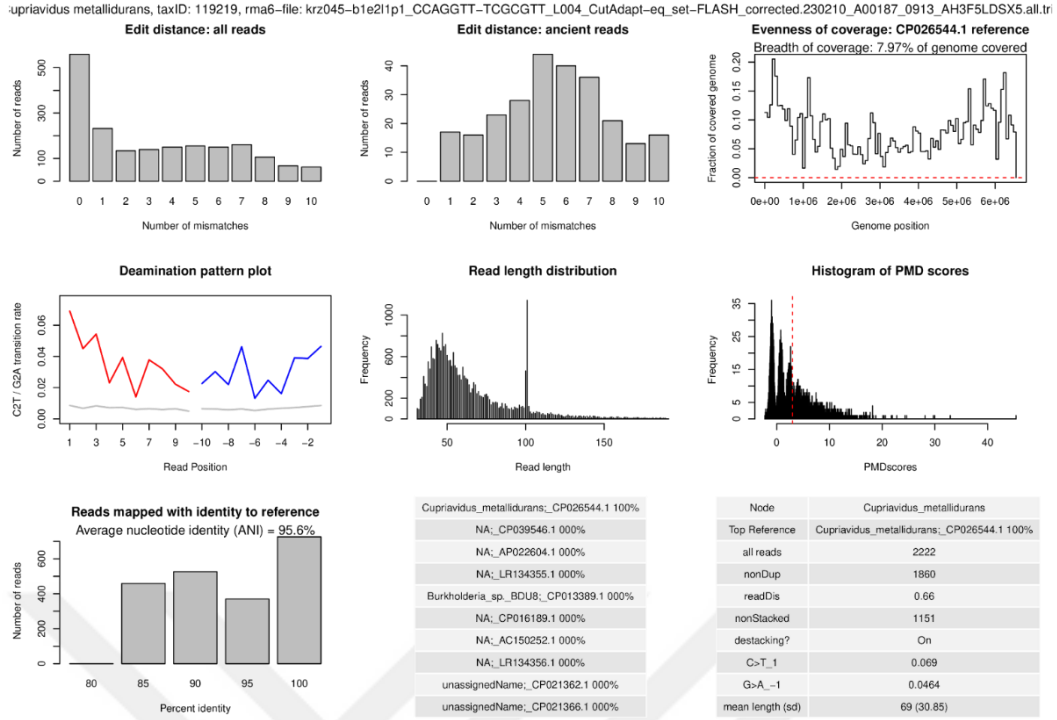
<i>Streptococcus anginosus</i>	S. anginosus grubundaki diğer türlerle birlikte yüzeysel ve derin yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olur
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Sağlıklı kişilerde cilt ve orofarenkste bulunur, bağışıklığı zayıf olanlarda kan dolaşımı enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit ve gastroenterit gibi hastalıklara yol açabilir
<i>Streptomyces cattleya</i>	Doğal antibiyotikler üreten Streptomyces cinsine ait olup, florlu bileşikler sentezleyebilen nadir türlerden biridir
<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	Tatlı su, kanalizasyon, aktif çamur ve gıda atık sularında bulunur
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	Rus Uzay Laboratuvarı Mir'in havasında biriken mikroorganizmalarla birlikte izole edilmiştir
<i>Rothia dentocariosa</i>	Ağız ve solunum yollarında bulunur. Nadir de olsa diş çürükleri ve periodontal hastalıklara yol açabilir.

Elde edilen en iyi bakterilerin aMeta çıktıları incelendiğinde, bu bakterilerin çok iyi istatistiklere sahip oldukları görülmektedir (Şekil 3.2). Krz045 örneğinden elde edilen *Aggregatibacter aphrophilus* otantikasyon grafiğine bakıldığında; mutasyon uzaklıklarının, genom kapsamının, deaminasyon oranlarının, fragment uzunluk dağılımının ve PMD skorlarının karakteristik antik DNA hasarlarını içerdiği görülmüştür. İlk olarak, mutasyon uzaklıklarının azalma eğiliminde olduğu tespit edilmiş ve DNA dizilerinin büyük bir kısmının 0 mutasyon uzaklığıyla hizalandığı görülmüştür. Genom kapsamında baktığımızda ise, genomun yaklaşık %20'lik bir kısmının kapsandığı görülmüştür. Deaminasyon grafiğinde ise, okumaların 5' ve 3' uçlarında C-T ve G-A nükleotid transizyonlarının baskın olduğu görülmüştür. DNA uzunluk dağılımına bakıldığında ise, okumaların büyük bir kısmının uzunluğunun 30- 50 nükleotid arasında olduğu görülmüş ve bu antik DNA dizilerin özgü fragmentasyon profilini yansıtmaktadır.



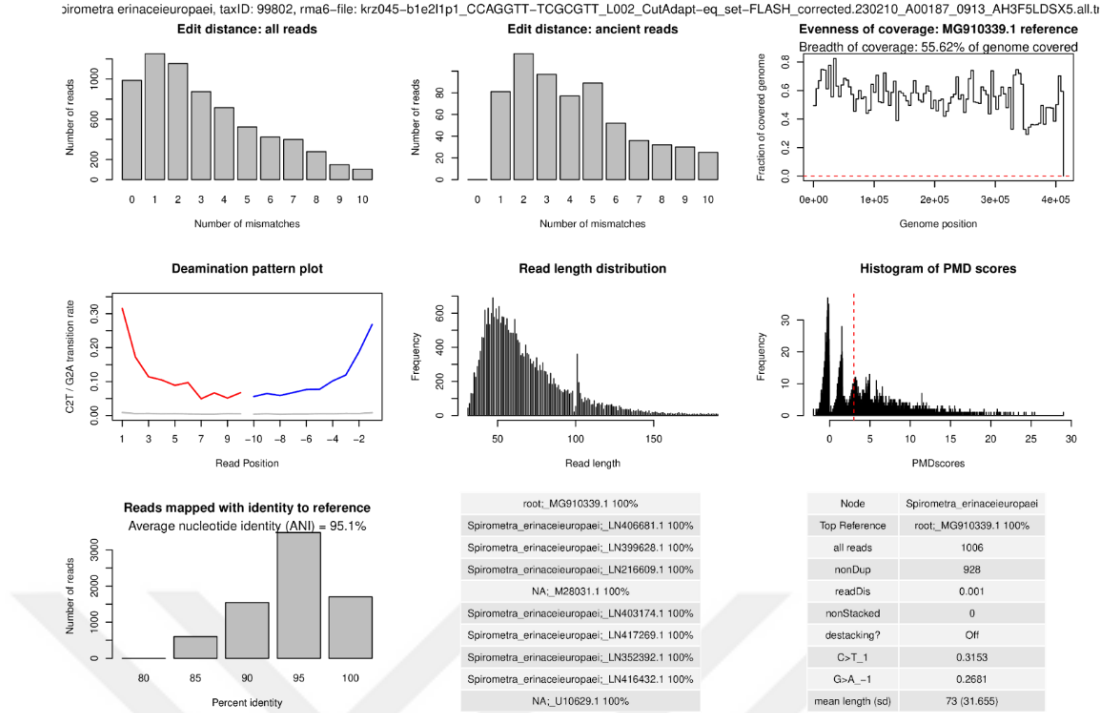
Şekil 3.2: İncelenen krz045 örneğinden elde edilen *Aggregatibacter aphrophilus* bakterisine ait otantikasyon grafiği. Bu canlıda tespit edilen mutasyon (edit) uzaklıkları, genom kapsamı, deaminasyon paternleri, DNA uzunluk dağılımı, PMD histogram grafiği, nükleotid kimliği skorlarını içeren grafik.

Antiklik skoru daha düşük bakterilerden birisine bakarsak (krz045 örneğindeki *Cupriavidus metallidurans*) ise, özellikle mutasyon uzaklıklarında bir farklılık gözümüze çarpmaktadır. DNA okumalarının bir kısmı 0 mutasyon uzaklığı ile hizalanırken, diğer kısmında ise mutasyon miktarlarının arttığı görülmektedir. Ayrıca 5' ve 3' uçlardaki deaminasyon sinyallerinde de dengesizlik göze çarpmaktadır. Okumaların uzunluk dağılımları 30- 50 nükleotid arasında görünse de yaklaşık 100 nükleotid civarında bir grup okuma yoğunlaşmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: İncelenen krz045 örneğindeki *Cupriavidus metallidurans* bakterisine ait otantikasyon grafiği. Bu grafikte mutasyon uzaklıkları ve deaminasyon sinyallerindeki farklar göze çarpmaktadır.

Bununla birlikte *Spirometra erinaceieuropaei* canlısının otantikasyon grafiğini incelersek, mutasyon uzaklıkları dışında çok ideal bir dağılım olduğu görülmektedir. Bu sonuç bize okumaların antik DNA karakteristiklerini kısmen de olduğunu işaret etmektedir (Şekil 3.4).



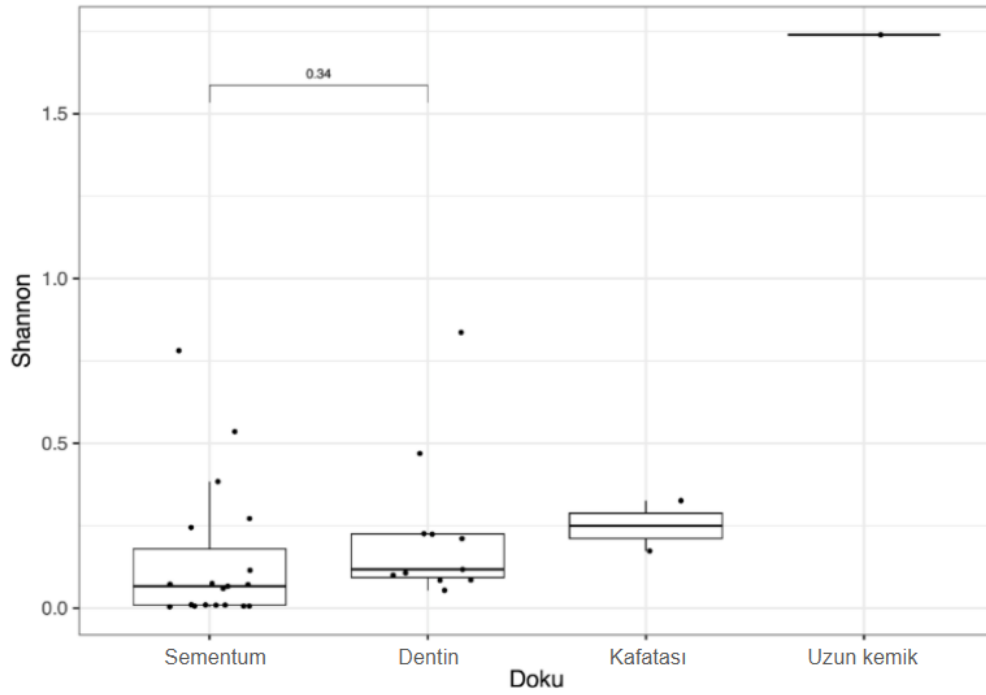
Şekil 3.4: İncelenen krz045 örneğindeki *Spirometra erinaceieuropaei* canlısına ait otantikasyon grafiği. Bu grafikte mutasyon uzaklıkları dışında, antik DNA sinyalleri saptanmıştır.

3.2. Örnekler İçerisindeki Tür Çeşitliliği (Alfa Çeşitlilik)

Shannon değeri, toplulukta bulunan türlerin ne kadar çeşitlilik gösterdiğini vermektedir. Shannon değeri yüksek veya düşük olduğunda tür çeşitliliği de shannon değeri ile doğru orantılı olarak yüksek veya düşük olmaktadır. Değer 0 ise, toplulukta sadece bir türün olduğunu belirtmektedir.

Kutu grafiğinde, her kutu, ilgili doku kategorisi için veri dağılımını göstermektedir. Kutuların içinde çizgiler ortanca değeri, kutuların alt ve üst kenarları ise verinin 1. ve 3. çeyrek değerlerini temsil eder.

Sementum ve dentin dokularında düşük shannon indeksi gözlemlenmektedir. Yani toplulukta tür çeşitliliğinin düşük olduğu görülüyor. Kafatası dokusunda, sementum ve dentine göre biraz daha yüksek bir dağılım mevcuttur. Bu da sementum ve dentine göre daha yüksek bir tür çeşitliliği olduğunu göstermektedir. Uzun kemik dokusunda daha yüksek bir shannon değeri var, yani tür çeşitliliği daha yüksek. Ancak kemik dokuları daha fazla çevresel DNA kontaminasyonuna açık olduğu için ve elimizde bu dokuya ait tek bir örnek olduğu için anlamlı bir sonuç olmayabilir (Şekil 3.5). Sementum ve dentin örneklerindeki shannon indeksi değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

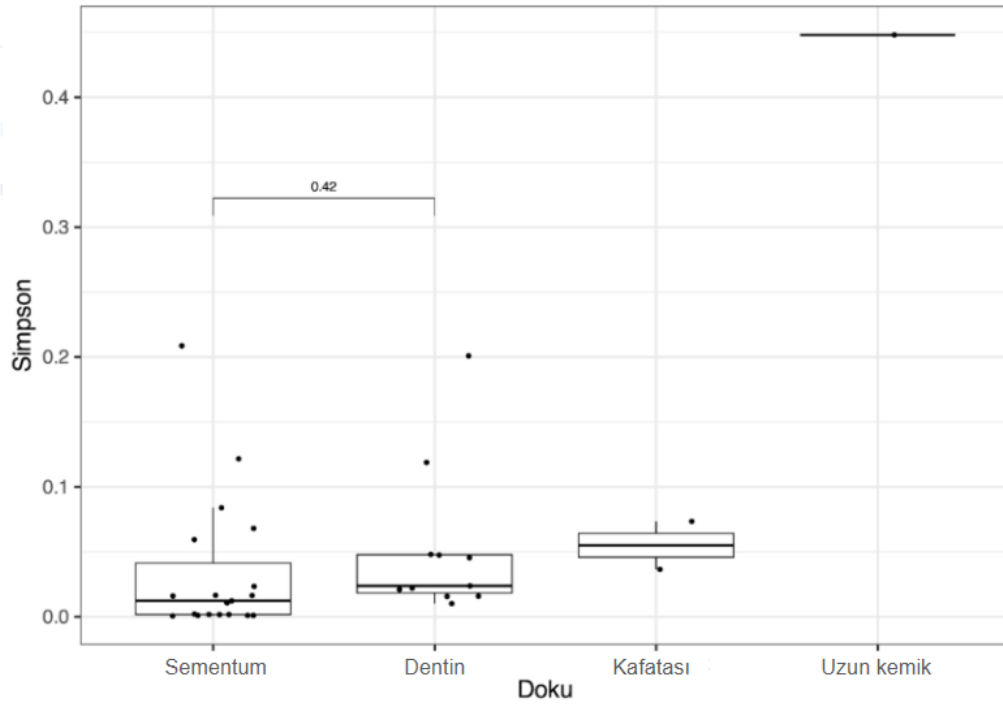


Şekil 3.5: Dokulardan elde edilen tür matrisleri incelendiğinde elde edilen shannon çeşitlilik değerlerini gösteren kutu grafiği. Bu grafikte yatay eksen dokuları gösterirken, düşey eksen shannon değerlerini göstermektedir. Ancak sementum ve dentin arasında mikrobiyal çeşitlilik açısından anlamlı bir fark yoktur ($p=0.34$, $p>0.05$)

Simpson değeri, iki farklı bireyin, rastgele seçilmesi durumunda, bireylerin aynı türe ait olup olmama olasılıklarını göstermektedir. Bu değer 0 ile 1 arasındadır. 0 değeri çeşitlilik belirtirken 1 değeri çeşitliliği belirtmez. Simpson değeri, ne kadar yüksekse, ters orantılı olarak çeşitlilik de o kadar düşüktür.

Sementum ve dentin dokuları düşük simpson indeksine sahip olduğu görünmektedir. Aykırı değerler olsa da çeşitlilik yüksek görünüyor. Kafatası dokusu, sementum ve dentin dokularından daha yüksek bir simpson değeri vermektedir. Çeşitliliğin bu dokulara göre daha düşük olduğu gözlemlenmektedir. Uzun kemik dokusunda tek bir veri noktası var ve simpson değeri oldukça yüksek. Bu da çeşitliliğin diğer dokulara göre daha düşük olduğunu göstermektedir (Şekil 3.6). Bu indis kapsamında da sementum ve dentin örneklerinde anlamlı bir mikrobiyal farklılık tespit edilememiştir.

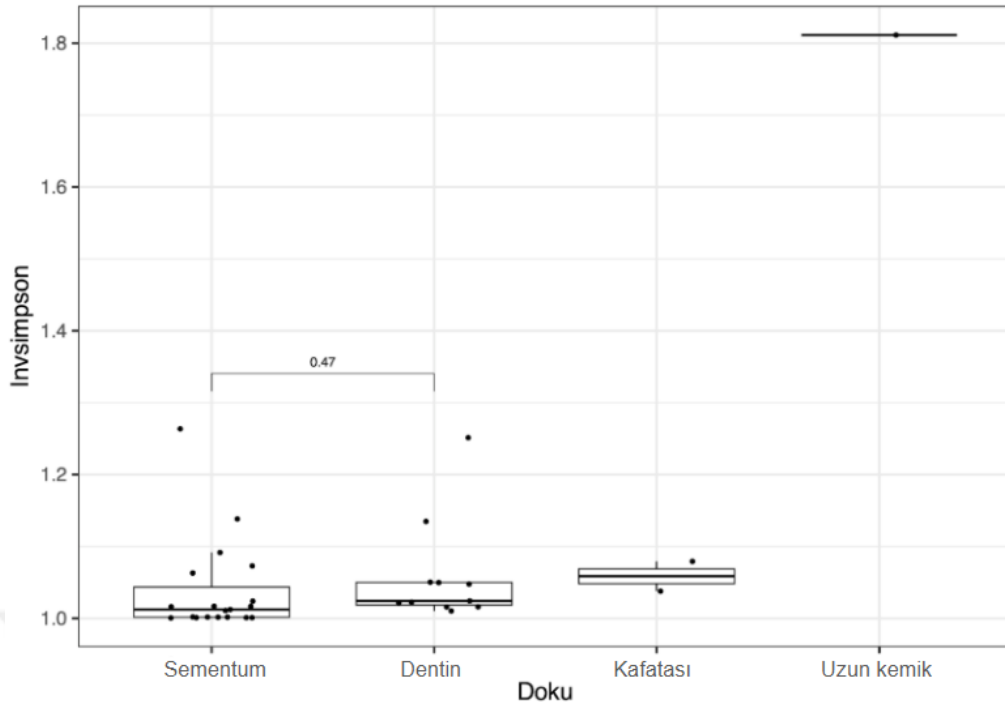
Eğer bu grafik, önceki shannon indeks grafiğiyle karşılaştırılırsa, shannon indeksi, çeşitliliği hesaplarken tüm türlerin sayısını ve oranlarını dikkate alır. Simpson indeksi ise topluluktaki baskın türleri ön plana çıkarır. İki grafikte de kafatası dokusunda tek bir veri noktası bulunduğu dikkat çekiyor. Sementum ve dentin dokularında çeşitlilik, shannon indeksinde düşük, simpson indeksinde yüksektir. Kafatası örneklerinde, simpson indeksi diğer dokulara oranla daha yüksektir, bu da daha dar bir mikrobiyal çeşitlilik olduğunu gösterir.



Şekil 3.6: Dokuların simpson çeşitlilik değerlerini gösteren kutu grafiği. Bu grafikte yatay eksen dokuları, düşey eksen ise simpson çeşitlilik değerlerini göstermektedir. ($p=0.42$, $p>0.05$)

Ters simpson indeksi, bir topluluğun tür çeşitliliğini ölçen bir indekstir. Bu değer her zaman 0'dan büyüktür ve topluluktaki hem tür sayısı hem de bu türlerin dağılımındaki çeşitlilik arttıkça değer de yükselir.

Sementum ve dentin dokuları düşük ters simpson indeksine sahip, yani çeşitlilik oldukça düşük. Uzun kemik örneği dokusunda çeşitlilik en yüksek seviyede gözlenmektedir. Kafatası dokusu, sementum ve dentine göre biraz daha yüksek bir çeşitlilik gösteriyor.



Şekil 3.7: Dokuların ters simpson değerlerini gösteren kutu grafiği. Bu grafikte yatay eksen dokuları, düşey eksen ise ters simpson çeşitlilik değerlerini göstermektedir. ($p=0.47$, $p>0.05$)

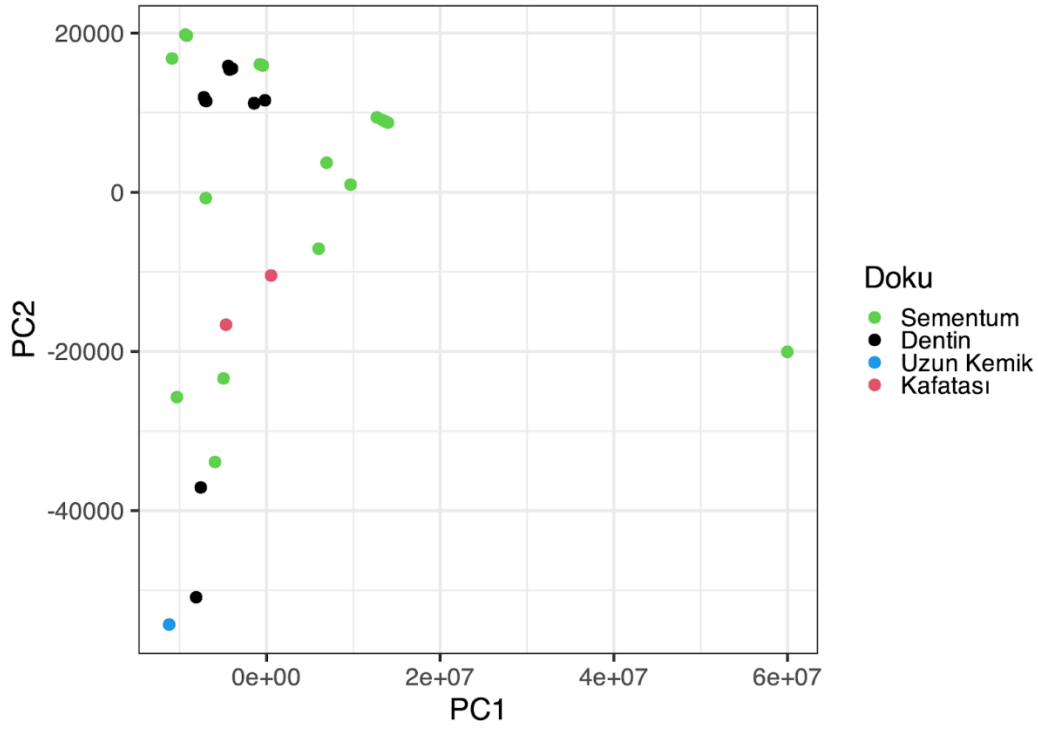
3.3. Doku Örneklerinde Mikrobiyal Farklılıkların Belirlenmesi

PCA, büyük boyutlu olan verileri küçük boyuta indirmek için kullanılan yaklaşımlardan biridir. Bütün eksenler aynı anda görselleştirilemez. PCA, çok boyutlu veriyi alarak üç boyuta indirmektedir. İlk üç eksen veri setinin sahip olduğu varyasyonun büyük bir kısmını içermektedir. Bu adımda, PCA analizini görselleştirme grafiklerinde ilk üç eksen verilmektedir.

PC1 ve PC2 eksenlerinde (Şekil 3.8), dentin ve uzun kemik örnekleri çoğunlukla, PC1 ekseninde sıfıra yakın bir bölgede kümelenmiştir. Uzun kemik örnekleri az sayıda olup PC2 ekseninde negatif değerlere konumlanmıştır. Bu durum, diğer dokulardan farklı ve muhtemelen daha sınırlı mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduklarını düşündürmektedir. Sementum örneklerinden bazıları PC1 ekseninde pozitif yöne doğru belirgin şekilde ayrılmakta ve bu durum, bu örneklerin mikrobiyal profiller açısından diğer dokulardan farklı özellikler taşıyabileceğini göstermektedir.

PC2 eksenini boyunca ise örnekler geniş bir aralıkta dağılmıştır. Bu dağılım, doku türleri arasında PC2 bileşenine göre daha belirgin varyasyonlar bulunduğunu düşündürmektedir. Özellikle dentin ve kafatası örneklerinin PC2 boyunca daha sınırlı bir aralıkta yer aldığı, sementum örneklerinin ise bu bileşende daha heterojen bir dağılım gösterdiği gözlemlenmiştir.

Bu sonuçlar, farklı doku türlerinin mikrobiyal içerik açısından hem benzerlikler hem de belirgin ayrılmalar gösterebileceğini ve sementum dokusunun bu bağlamda daha değişken bir profil sergileyebileceğini ortaya koymaktadır.

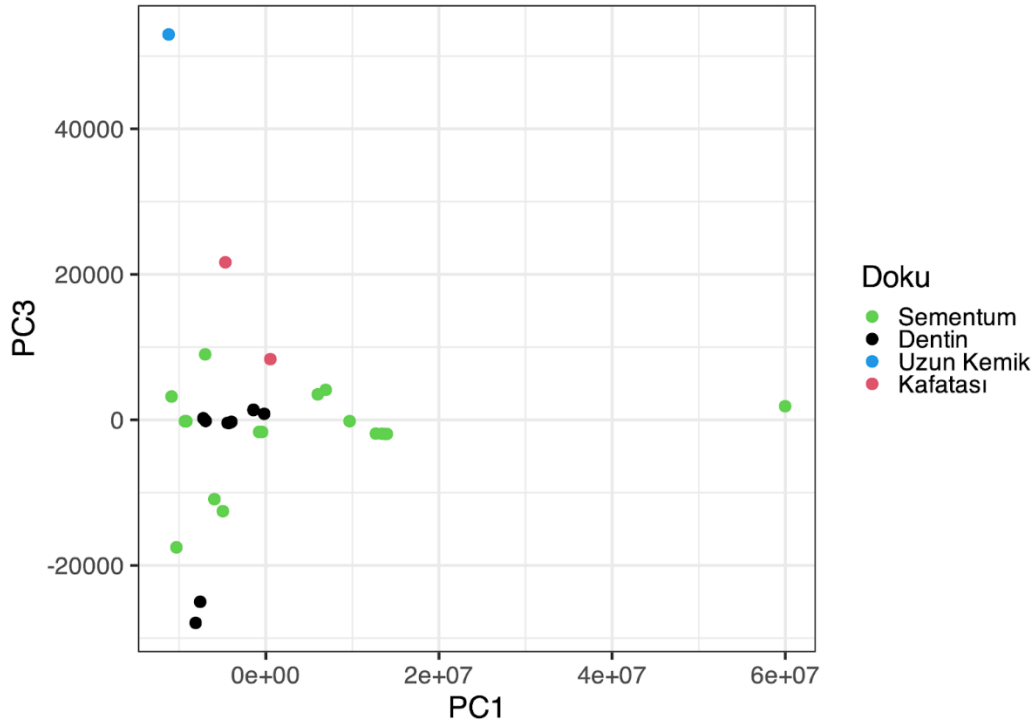


Şekil 3.8: Örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliğin PCA ile incelenmesi: Grafikte, PC1 ve PC2 eksenleri yer almaktadır. Renkli noktalar verinin farklı doku türlerine göre gruplandırılmıştır. Dokular arasındaki benzerlik ve farklılıkları göstermektedir. Yeşil renkler sementum, siyah renkler dentin, mavi renkler uzun kemik, pembe renkler ise kafatası dokularını göstermektedir.

PC1 ve PC3 eksenlerinde (Şekil 3.9), PC1 ekseninde bir önceki grafikte olduğu gibi değişkenlik göstermektedir. Sementum örneklerinin bazıları pozitif yönde diğer dokulardan ayrılmaktadır; dentin örnekleri ise bu ekseninde daha dar bir alanda, sifıra yakın konumlanmıştır.

PC3 ekseninde de geniş bir dağılım var. Özellikle bazı noktalar oldukça yüksek veya düşük PC3 değerlerine sahiptir. Sementum ve dentin dokularının bazı noktaları PC1 ekseninde yoğunlaşmış olarak gözlemlenmektedir. Kafatası ve uzun kemik dokularının bazı noktaları PC3 ekseninde uç değerlere sahiptir.

PC1-PC2 grafiğine kıyasla, burada PC3 kullanıldığı için örneklerinin farklı bir ekseninde nasıl ayrıştığı gözlemlenmektedir. Bazı noktalar, PC3 ekseninde yukarıda veya aşağıda yer alıyor, bu da belirli doku türlerinin farklı bileşenlerde daha fazla varyasyon gösterdiğini işaret etmektedir. Eğer kümelenme varsa, belirli doku türlerini belirgin ayrımlar gösterebilir.

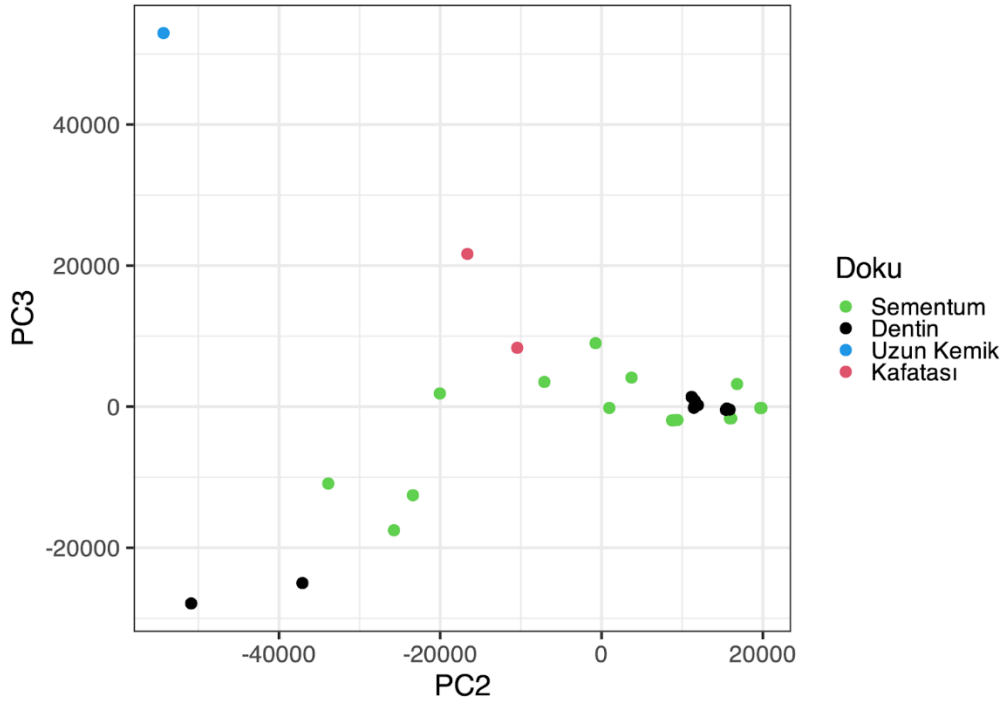


Şekil 3.9: Örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliğin PCA ile incelenmesi: Grafikte, PC1 ve PC3 eksenleri yer almaktadır.

PC2 ve PC3 eksenlerinde (Şekil 3.10), sementum örnekleri, geniş bir alana yayılmış ve en fazla varyasyonu gösteren doku olarak gözlemlenmektedir.

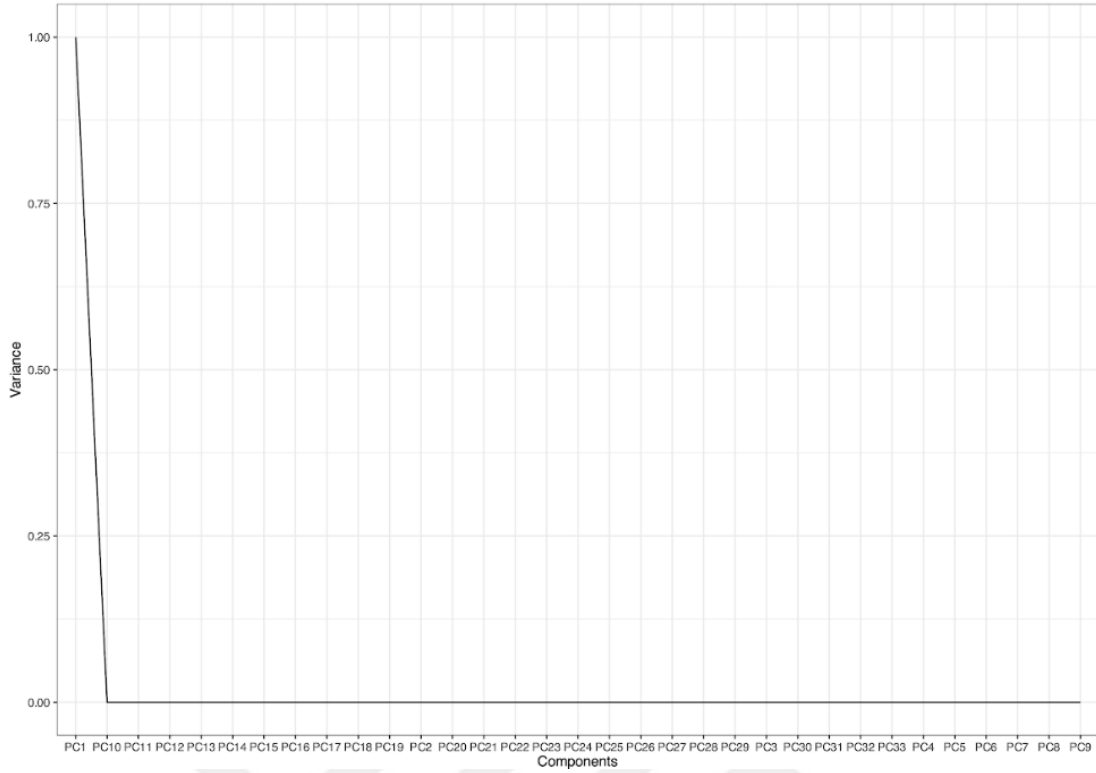
Dentin dokusu, özellikle PC2 ekseninde dar bir aralıkta yoğunlaşmış gibi görünüyor. Bu da PC2 ve PC3 eksenlerine göre daha tutarlı bir varyasyon sergilemektedir.

Uzun kemik örneği, PC3 ekseninde en yüksek değerde yer almakta ve diğer dokulardan belirgin şekilde ayrılmaktadır. Ayrıca bazı kafatası örnekleri de pozitif PC3 değerlerinde konumlanmıştır. Bu durum, bazı doku türlerinin diğerlerinden daha farklı özellikler taşıyabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.10: Örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliğin PCA ile incelenmesi: Bu grafik, PC2 ve PC3 eksenleri boyunca örneklerin dağılımını göstermektedir.

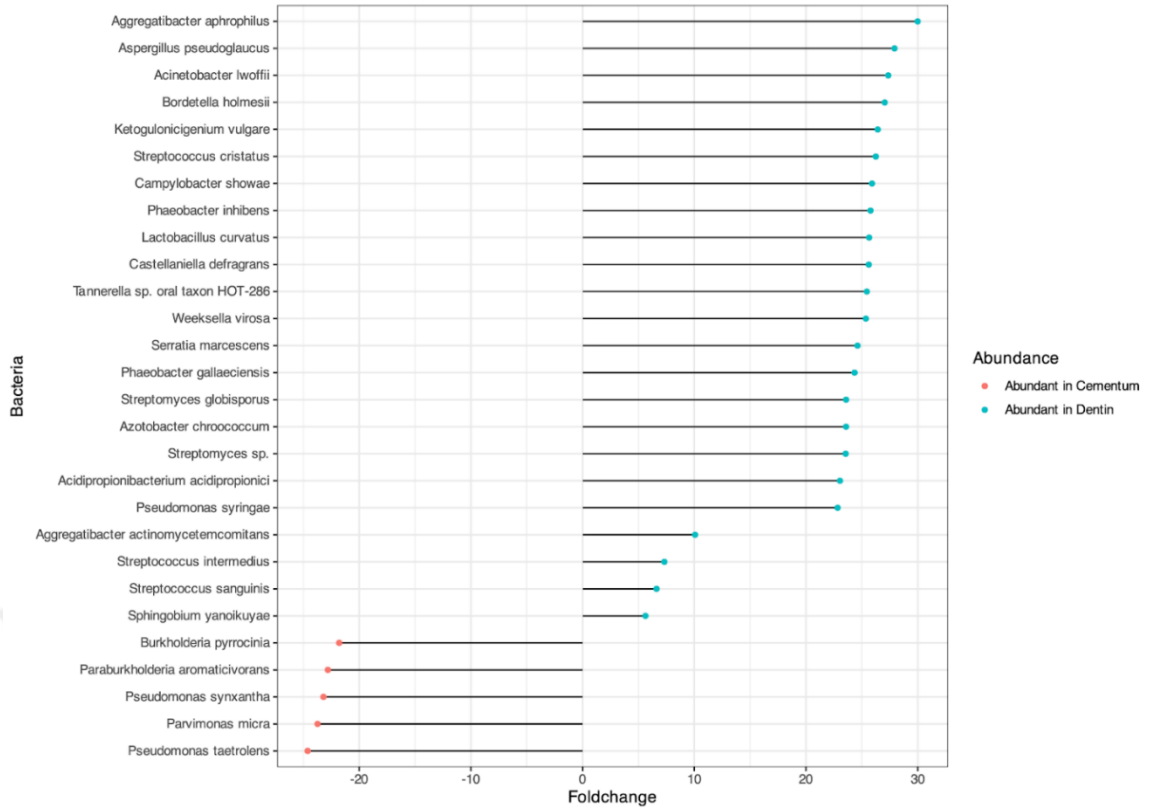
Gerçekleştirilen PCA Analizi sonucunda elde edilen varyans açıklama grafiği (Şekil 3.11), verideki toplam varyasyonun neredeyse tamamının birinci bileşen (PC1) tarafından açıklandığını göstermektedir. PC1'in varyansı yaklaşık %100'e yakın bir oranda temsil etmesi, örnekler arasındaki mikrobiyal farklılıkların büyük ölçüde tek bir eksen üzerinde yoğunlaştığını ortaya koymaktadır. Buna karşın PC2 ve sonraki bileşenlerde varyasyon gözlemlenmemektedir. Bu durum, analiz edilen mikrobiyal profillerin yüksek oranda benzerlik gösterdiğini veya varyasyonun belirgin şekilde tek bir biyolojik ya da çevresel faktöre bağlı olduğunu düşündürmektedir. Aynı zamanda bu sonuç, boyut indirgeme işlemlerinde yalnızca PC1'in kullanılmasıyla veri kaybının minimum düzeyde tutulabileceğini de göstermektedir.



Şekil 3.11: PCA analizlerindeki toplam gözlenen varyasyon miktarı

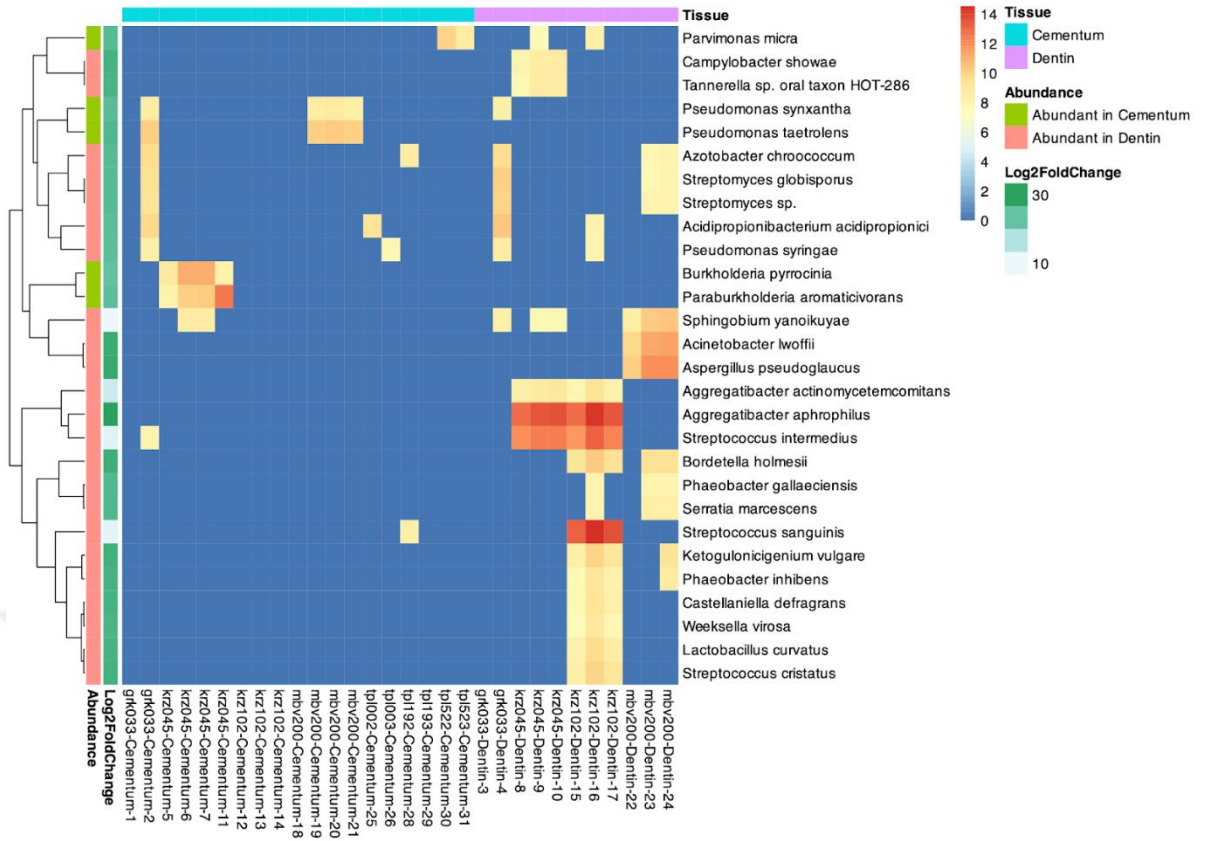
3.4. Dentin ve Sementum Örneklerine Özgü Mikroorganizmaların İncelenmesi

Son olarak, dentin ve sementum dokularında fazla miktarda bulunan mikroorganizmaların tespiti için karşılaştırmalar yapıldı. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda iki farklı karşılaştırma yapıldı. Öncelikle sementum örnekleri kontrol olarak kullanılarak, dentin örneklerinde fazla bulunan mikroorganizmalar tespit edildi. Sonra ise dentin örnekleri kontrol olarak kullanılarak, sementum örneklerinde anlamlı olarak artış gösteren mikroorganizmalar tespit edildi. Bu analizin ardından dentin örneklerinde fazla miktarda bulunan 24 tane mikroorganizma tespit edilirken, sementum örneklerinde ise 5 tane mikroorganizma olduğu görülmüştür. (Şekil 3.12). Mikroorganizma yoğunluklarındaki artışın 30 kata kadar yükseldiği görülmüştür. Örnek vermek gerekirse, *Aggregibacter aphrophilus* bakterisi, dentin dokusunda, sementum dokusuna oranla 30 kat artış göstermiştir. Tam zıt bir örnek olarak *Parvimonas micra* bakterisine bakarsak, bu bakteri sementum dokusunda, dentin dokusuna oranla 25 kat daha fazla bulunmaktadır.



Şekil 3.12: *Deseq* analizi sonucunda elde dentin ve sementum örneklerinde fazla miktarda tespit edilen mikroorganizmalar. Bu grafikte X eksenini mikroorganizma yoğunluklarındaki kat artışını göstermekte, Y eksenini ise mikroorganizmaları ifade etmektedir. Eğer bir nokta sağ tarafa doğru kaymışsa, o mikroorganizma dentin dokusunda daha fazla bulunmaktadır. Ancak nokta sola doğru kaymışsa, o mikroorganizma sementumda daha fazla bulunmaktadır.

Bu farklılıkları bir ısı grafiği ile görselleştirdiğimizde, örüntüler daha iyi anlaşılmaktadır (Şekil 3.13). Bu grafik incelendiğinde, artış gösteren mikroorganizmaların aslında dokulara özgü olduğu görülmektedir. Bu ısı grafiğinde, bir mikroorganizma mavi renk ile gösterilmiş ise, o örnekte bulunmadığı anlamına gelmektedir. Bu şekilde incelendiğinde, dentin örneklerinde fazla miktarda bulunan bütün örneklerin, sementumda neredeyse hiç bulunmadığı görülmüştür. Bu sonuç, dentin ve sementum dokularında farklı bir mikrobiyal profil bulunduğunu işaret edebilir.



Şekil 3.13: DeSeq2 paketi ile, dentin ve sementum örneklerinde anlamlı olarak bulunan mikroorganizmaların tespiti. Bu şekilde yatay eksen örnekleri göstermektedir, düşey eksen ise mikrobiyal organizmaları ifade eder.

3.5. İnsan DNA'sı Oranları ve Antik DNA Korunumu Üzerine Değerlendirme

Bu çalışmada, farklı bireylerden elde edilen sementum, dentin, kafatası ve uzun kemik örneklerinden insan DNA'sı tespit edilmeye çalışılmıştır. Tablo 3.2'de sunulan veriler, bu örneklerdeki insan DNA'sı oranlarını göstermektedir. Analiz edilen örnekler arasında insan DNA'sı oranları bakımından belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Örneğin, Tpl193 bireyine ait dentin örneği %62,85'lik oranla en yüksek insan DNA'sı içeriğine sahipken, Kz102 bireyinin bir sementum örneğinde bu oran %77,23 olarak hesaplanmıştır. Buna karşılık, bazı örneklerde bu oran oldukça düşük kalmış (%1'in altında) ya da hiç hesaplanamamıştır.

Bu farklılıklar, antik DNA'nın korunumu üzerinde hem bireyler arası hem de doku tipleri arası değişkenliğin önemli rol oynadığını göstermektedir. Özellikle dentin ve sementum dokularında, bazı bireylerde yüksek oranda insan DNA'sı tespit edilmesi, bu yapıların antik DNA çalışmalarında potansiyel olarak verimli örnekleme alanları olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 3.2. İnsan DNA'sı oranları

Örnek ismi	İskelet Örneği	İnsan DNA'sı oranı
Tpl002	Sementum	0.318674148
Tpl003	Dentin	0.285781479
Tpl004	Kafatası (lezyon)	0.068515572
Tpl192	Sementum	0.064100694
Tpl193	Dentin	0.628510977
Tpl194	Kafatası (lezyon)	-
Tpl522	Sementum	0.010548971
Tpl523	Dentin	0.113461182
Tpl524	Kafatası (lezyon)	0.030002346
Tpl525	Uzun kemik	0.004053925
Grk033	Sementum	0.03066267627
Grk033	2 Dentin	-
Krz45	4 Sementum	-
Krz45	3 Dentin	-
Krz102	Sementum	0.7723356332
Krz102	2 Sementum	-
Krz102	3 Dentin	-
Mbv200	4 Sementum	-
Mbv200	3 Dentin	-

4. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında, 14 farklı insan örneğine ait dentin, sementum, uzun kemik ve kafatası örneklerinin mikrobiyal profillerin karşılaştırmalı analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla örnekler ilk olarak aMeta protokolü ile incelenmiş ve potansiyel antik mikroorganizmalar belirlenmiş ve bu organizmaların dokulara göre dağılımlarına bakılmıştır. Ardından dentin ve sementum örneklerinde görülen mikrobiyal farklılıklar alfa ve beta çeşitlilik yöntemleri ile incelenmiş ve dokuların sahip olduğu mikrobiyal çeşitlilikte bir fark olup olmadığına bakılmıştır. Son olarak, dentin ve sementum örneklerine özgü mikroorganizmalar tespit edilmiştir.

4.1. Örneklerde Tespit Edilen Antik Mikroorganizmalar

Çalışmamızda kullandığımız veri tabanı mikroorganizma odaklıdır, bu yüzden çoğunlukla bakteriler tespit edilmiştir. Ancak bir tane de ökaryotik organizma, yaptığımız taramada karşımıza çıkmıştır. *Spirometra erinaceieuropaei*, *Spirometra* cinsi içindeki bir türdür. Hayvanları ve insanları enfekte eden bir tenyadır (Jeon vd., 2018). Karmaşık bir yaşam döngüsüne sahiptirler (Kondzior vd., 2020). Larvalar insan üzerinde, deri altı doku veya kaslarda bulunmaktadır. Oldukça yavaş bir şekilde büyüyen kitleler oluştururlar. Çok daha az yaygın olmakla birlikte, sinir sisteminde de etkileri bulunmaktadır. Kitleden dolayı oluşan belirtiler arasında halsizlik, baş ağrısı, uyuşukluk ve anormal cilt hisleri bulunmaktadır. Bu tenyanın larvaları, insanlarda sparganosis hastalığına yol açabilmektedir. İnsanlara bulaşma riskleri azdır fakat ilk olarak Vietnam'da yaşanan olay rapor edilmiştir (Le vd., 2017). Ancak bu canlı aynı zamanda çevrede de yaşadığı için bunun insanı enfekte eden bir organizmadan çok, çevresel DNA kaynaklı olduğu düşünülebilir.

Dentin örneklerinde orofarenks ve ağız mikrobiyotası ile ilişkili altı antik bakteri tespit edilmiştir.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, *Pasteurellaceae* bakteri familyasına ait, *Aggregatibacter* cinsine ait bir türdür. Ağız mikrobiyotasında bulunan gram negatif bir bakteri türüdür (Nørskov-Lauritsen vd., 2019). Ağız boşluğunda çok fazla sayıda, farklı mikroorganizma ile kolonize olan bir bakteri olup, diş dokularının hızlı bir şekilde tahrip olmasına neden olan periodontal patojendir (Belibasakis vd., 2019; Nørskov-Lauritsen vd., 2019).

Aggregatibacter aphrophilus, gram negatif olan bir kokobasil bakteridir. *Aggregatibacter* cinsine ait bir türdür (Ratnayake vd., 2011). Bu cins, kalp kapakçığı enfeksiyonu (endokartit enfeksiyonuna) neden olan HACEK (küçük, gram-negatif basiller olan bir grup organizma) mikroorganizma grubu içerisinde yer almaktadır (Aydın vd., 2016; Yallowitz ve Decker, 2024). *A. aphrophilus*, genellikle ağız florasından izole edilebilmektedir. Bu bakterinin enfeksiyonu oluştuğunda, bu hastalarda periodontal hastalıklar görülebilmektedir. Bu hastalık semptomları diş etinde ve çene kemiğinde oluşan iltihap sonucundaki kitlelerdir (Moreno vd., 2020).

Aspergillus pseudoglaucus, kseroofilik filamentli bir mantar türüdür. Toprak ve deniz ürünlerinden izole edilebilmektedir (J. Park vd., 2019).

Streptococcus intermedius, *Streptococcus anginosus* grubu içinde yer alan gram pozitif kok bakteridir. Orofarenks (boğazın arkasındaki boşluk), gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemin normal florasında bulunur. Periodontit, menenjit, endokardit, apse gibi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. *S. intermedius* bakterisi ağız florasındandır ve yapılan diş temizliği ve tedavisi sonrasında da görülebilmektedir. Bunun sonucunda karaciğer ve beyin apseleri meydana gelmektedir. (Issa vd., 2020; Sarı vd., 2020; Tran vd., 2008).

Acinetobacter lwoffii, gram negatif olan bir kokobasil bakteridir. Aerobik bir bakteri türüdür. Sağlıklı olan insanların cilt ve orofarenksinde görülmektedir. Prematüre bebeklerde, bu bakterinin oluşturduğu enfeksiyon daha sık görülmektedir. Bağışıklığı baskılanan kişilerde, fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlara sebep olabilir. Ayrıca, *A. lwoffii* bakterisiyle oluşan farklı vakalara da rastlanmıştır. Bu enfeksiyonlar, kan dolaşımı ve bakteriyemidir. Buna ek olarak, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit, deri enfeksiyonu, akut, gastroenterit gibi hastalıklar da gözlemlenmektedir (Uygun ve Alkan, 2021).

Lactobacillus cinsi, gram pozitif, fakültatif anaerob ve spor oluşturmeyen mikroorganizmaları içermektedir. *L. curvatus*, hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklı fermente ürünlerden ve doğal çevresel fermantasyonlardan izole edilebilen çok yönlü bir bakteri türüdür. İnek gübresinden, fermente edilmiş ve vakumla paketlenmiş soğutulmuş et ve balık ürünlerinden, süt ve peynir gibi süt ürünlerinden izole edilmektedir. Laktik asit üretme özelliği sayesinde fermantasyon kültürü olarak kullanılır (Zheng vd., 2020).

Streptococcus anginosus, *Streptococcus* grubu içinde yer alan, bir bakteri türüdür. Bu grup; *S. anginosus*, *S. constellatus* ve *S. intermedius* türlerini içerir. İlk olarak 1956 yılında Guthof tarafından diş apselerinden izole edildikten sonra tanımlanmıştır. Gram pozitif, fakültatif anaerobik bir kok bakterisidir. *S. anginosus* grubu bakterileri, genellikle yüzeysel (yaralar, cerrahi kesiler, bası yaraları) ve derin yumuşak doku enfeksiyonları (ağız ve yüz bölgesi enfeksiyonları, selülit, nekrotizan fasiit) gibi enfeksiyonlara neden olur (Jiang vd., 2020).

Sementum örneklerinde ise, dentine göre daha az bakteri (iki tane) tespit edilmiştir. *Rothia dentocariosa*, *Rothia* cinsi içindeki bir türdür. Ağızda ve solunum yollarında yaşayan gram pozitif bir bakteri türüdür (Fridman vd., 2016; Georg ve Brown, 1967). Bu bakteri nadir bir şekilde patojenik etki yaratmaktadır. Bu vakalar diş hastalığı bulunan bireylerde ortaya çıkar. Diş çürükleri ve periodontal hastalıklara neden olmaktadır (Fridman vd., 2016).

Rhodococcus erythropolis, *Rhodococcus* cinsindeki, gram pozitif bir bakteri türüdür. *R. erythropolis*, biriken farklı mikroorganizmalarla birlikte izole edilmiştir. Bu organizmalar, Rus Uzay Laboratuvarı Mir'in havasından sürekli bir şekilde birikmektedir (Li vd., 2004).

Hem dentin hem de sementumda bulunan antik bakterilere baktığımızda ise hem ağız mikrobiyotası hem de çevresel kaynaklı olan altı bakteri görülmüştür.

Pseudopropionibacterium propionicum, gram pozitif bir bakteridir (Bowden, 1996). *Pseudopropionibacterium* cinsi içindeki bir türdür (Tindall, 2019)). Sıklıkla insan ve hayvanların ağız florasında; tükürük, dil, diş eti ve bademciklerde bulunmaktadır. Oksijen varlığında yaşayabilir ancak hayatta kalması için oksijene ihtiyaç duymaz, anaerobik bir bakteri türüdür. Kan dolaşımı bozulmuş olan dokularda patojenik hale gelmektedir. Enfeksiyon sonucunda kronik bir hastalık olan aktinomikoz oluşmaktadır. Aktinomikoz enfeksiyon hastalığının semptomları çene, boyun, göğüs, karın gibi çeşitli bölgelerde görülebilmektedir. Semptomlar şişlik ve apse oluşumu sonucunda anlaşılır (Bowden, 1996). *P. propionicum*, diş kökü yüzeyinde ekstradiküler biyofilm ve aynı zamanda periapikal enfeksiyon oluşmaktadır (Wang vd., 2012).

Porphyromonas gingivalis zorunlu anaerob, hareketsiz, gram negatif bir bakteridir (Shah ve Collins, 1988). Ağız patojeni bir bakteridir. Ağız boşluğunda bulunmaktadır. Periodontal hastalıklar oluşturarak, diş yüzeyini sarar ve enfeksiyona neden olur. İlerlediği durumlarda diş kaybının olması olası bir durumdur (Nelson vd., 2003).

Parvimonas micra, zorunlu anaerob olan gram-pozitif bir bakteridir (Pilmis vd., 2015) ve *Parvimonas* cinsi içindeki tek türdür (Pilmis vd., 2015; Tindall ve Euzéby, 2006). *P. micra* insanların ağız boşluğunda, diş plaklarında bulunmaktadır ve patojenik etkiye sahip bir bakteridir. Ağız içinde biyofilmler içerisinde çoğalarak; diş eti kanamalarına, kemik kaybına neden olabilir. Fakat her zaman ağız yoluyla alındığında patojeniteye neden olmaz. Vücudun başka bölgelerinden de patojen oluşturma yeteneğine sahiptir (Ang vd., 2013). Aynı zamanda gastrointestinal sistemde de yaşamaktadır (Baghban ve Gupta, 2016).

Streptomyces cattleya, *Streptomyces* cinsine ait bir türdür; bu cins, çok sayıda doğal antibiyotik üreten bakterileri içerir. Ancak *S. cattleya* özellikle dikkat çeker, çünkü florlu bileşikler üretebilen nadir bakterilerden biridir (Barbe vd., 2011).

Erysipelothrix rhusiopathiae, gram pozitif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde bir bakteridir. Doğada yaygın olarak bulunur ve özellikle hayvanlarda ve çevrede görülür. İnsanlarda daha nadir olarak hastalık görülmektedir. Ve bu hastalıklar mesleki olarak veteriner, balıkçı, kasap ve çiftçilerde görülmektedir (Ayhancı vd., 2018; Rebol ve Farrar, 1989). *E. rhusiopathiae*, bakterisi insanlarda üç farklı hastalık ortaya çıkarmaktadır.

- Erizipeloid (lokalize deri enfeksiyonu)
- Yaygın deri enfeksiyonu
- Bakteriyemi (genellikle endokardit ile birlikte görülür)

Ayrıca, nadiren görülen bazı enfeksiyonlar da vardır: beyin apsesi, menenjit, epidural apse, paravertebral apsesi, endoftalmi, pnömoni, osteomiyelit, septik artrit, nekrotizan fasiit, karaciğer apsesi, intraabdominal apse ve peritonit (Rebol ve Farrar, 1989).

Rubrivivax gelatinosus, betaproteobakteri sınıfına ait, gram negatif, fakültatif, hareketli bir bakteridir. Tatlı su havuzlarında, kanalizasyon kanallarında, aktif çamurda ve gıda işleme atık suyunda yaşarlar (Nagashima vd., 2012).

Bütün örneklerde bulunan mikroorganizmalara baktığımızda, genel olarak çevresel kaynaklı bakterileri görmekteyiz.

Alcaligenes faecalis gram negatif, aerob bakterilerdir. *Alcaligenes* cinsi içindeki bir türdür. Su, toprak ve dışkıda bulunmaktadır. Aynı zamanda insanların sindirim kanalında da yaşamaktadır. Ancak sağlıklı insanlarda enfeksiyon oluşturmazlar, bağışıklık sistemi güçsüz olanlarda oluşturduğu bilinmektedir (Kahveci vd., 2011). Aynı zamanda insanda postoperatif endoftalmi ismi verilen bir göz hastalığına da sebep olabilir (Kaliaperumal vd., 2006).

Pseudomonas aeruginosa, gram negatif, aerobik, spor oluşturmeyen bir çubuktur. Fırsatçı bir patojen bakteridir. *P. aeruginosa*, kistik fibroz, yanık yaraları, immün yetmezlik, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kanser ve COVID-19 gibi enfeksiyonu olan hastaları enfekte eder. Özellikle tatlı suda olmak üzere çevrede yaygın olarak bulunmaktadır (Qin vd., 2022; Wilson ve Pandey, 2025).

Ralstonia solanacearum, gram negatif bir bakteri türüdür. Dış ve iç zarı bulunmaktadır (Kostlánová vd., 2005). *R. solanacearum*, toprak kaynaklı, bitki patojeni bir bakteridir. Bu bakteri 200'den fazla bitkide patojen oluşturmaktadır (Vailleau vd., 2007). Bakteri, köklerdeki açıklık kısımlardan hücre aralığını sarar ve çoğalır. Ksilem damarlarına yayılarak bitkilerin yapraklarına sızar ve solmasına sebep olur (Hikichi vd., 2007).

Cupriavidus metallidurans, özellikle CH34 suşu, ağır metal direnci ile tanınan gram negatif, bir bakteridir. 1976 yılında Belçika'daki bir çinko fabrikasının çökelme tankından izole edilmiştir. Bu bakteri, yüksek konsantrasyonlardaki çinko, kadmiyum, kobalt, nikel, bakır, kurşun ve cıva gibi ağır metallere karşı direnç gösterme yeteneğiyle öne çıkar (Janssen vd., 2010; Mergeay & Van Houdt, 2021; Reith vd., 2009).

Ralstonia insidiosa, sıklıkla çevresel bir bakteri olarak enfeksiyonlara neden olan gram negatif, aerobik, hareketli bir çubuk bakteridir. *R. insidiosa*, güçlü bir biyofilm oluşturunucudur. Gıda ve içecek işleme ve soğuk zincir taşımacılığında, dezenfeksiyon prosedürlerinden sonra düşük besinli ortamlarda yaşayabilmektedir (Zuo vd., 2025).

Burada dentin ve sementum örneklerinden tespit edilen antik bakteriler incelendiğinde, bazı türlerin özellikle periodontal hastalıklarla ilişkili olduğu görülmektedir. Bunlar arasında, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Aggregatibacter aphrophilus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Streptococcus intermedius* ve *Streptococcus anginosus* dikkat çekmektedir. Bu durumda dentin, vücut içindeki mikrobiyal yapıyı daha iyi şekilde koruduğu sonucuna varılabilir.

Çok sayıda antik diş taşı çalışmasında örneğin Warriner ve diğerleri (2014), Adler ve diğerleri (2013) gibi makalelerde *P. gingivalis*'in genomik dizileri saptanmıştır. Diş taşında *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Treponema denticola* bakterilerinin periodontal hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda da bu örneklerden bir tanesine (*P. gingivalis*) saptanmıştır. Warinner ve diğerleri (2014) çalışmasında, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Streptococcus mutans* bakterisi, bakteriyemi ve enfeksiyöz endokardite neden olan, eski diş taşlarında

var olduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda da bu örneklerden *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans* saptanmıştır.

Mann ve diğerleri (2018) çalışmasında, 48 bireyden alınan diş taşı ve dentin örneklerini karşılaştırmıştır. Diş taşında *Parvimonas micra* ile birlikte kırmızı kompleks, periodontal patojenler (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda *P. gingivalis* ve *Parvimonas micra* tespit edilmiştir.

Neukamm ve diğerleri (2020) çalışmasında, Abusir el-Meleq'te bulunan 133 antik örnek incelenmiş ve özellikle diş ve diş taşı örneklerinden ağız mikrobiyotasına ait birçok bakteri tanımlanmıştır. Bunlar arasında benzer şekilde, bu tezde de ağızla ilişkili olan *Porphyromonas gingivalis* gibi bakteriler dentin, sementum ve diş taşı örneklerinde bulunmuştur. Her iki çalışma da dental dokuların hem ağız mikrobiyomunu hem de sistemik sağlıkla ilgili izleri uzun süre koruyabildiğini göstermektedir. Bu da dental yapıların antik DNA analizleri için önemli bir kaynak olduğunu bir kez daha kanıtlamaktadır.

Fontani ve arkadaşları (2023) çalışmasında, bir bireyden alınan iki dişi incelemiş; dentinden genomik aDNA elde ederken, diş taşından antik ağız mikrobiyotası karakterize edilmiştir. Diş taşında *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* gibi “kırmızı kompleks” üyeleri tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da *P. gingivalis* tespit edilmiştir.

Kimsis ve diğerleri (2023) çalışmasında, Letonya'daki Demir Çağı bireylerinden alınan diş ve kemik örnekleri incelenmiş; dişlerin, kemiklere kıyasla daha fazla mikrobiyal çeşitlilik ve ağız bakterisi içerdiği görülmüştür. Dişlerin hem daha yüksek alfa çeşitliliğe sahip olduğu hem de antik ağız mikrobiyotasını daha iyi koruduğu gösterilmiştir. Özellikle tez çalışmasında bulunan *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus intermedius* türleri dişlerde tespit edilmiştir. Ayrıca bazı çevresel ama fırsatçı patojen olabilen bakteriler de bulunmuştur. Bu bakterilerden biri tez çalışmasında yer alan, *Cupriavidus metallidurans* bakterisidir. *C. metallidurans* türü de yine dişlerde tespit edilmiştir. Bu çalışma, dişlerin antik ağız mikrobiyotasını koruma açısından kemiklere göre daha avantajlı olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde bu tezde de diş kaynaklı örneklerde daha fazla mikrobiyal çeşitlilik saptanmış, dişlerin antik mikrobiyom çalışmaları için değerli bir kaynak olduğu doğrulanmıştır.

4.2. Alfa ve Beta Çeşitliliği Bulguları

Mikrobiyal çeşitlilik, shannon, simpson ve ters simpson indeksleri ile değerlendirilmiştir. Bu sonuçlar, doku örnekleri arasındaki önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Dentin ve sementum dokularında shannon indeksinde düşük çeşitlilik görülürken, simpson indeksinde yüksek çeşitlilik göstermektedir. Sementum ve dentin örneklerindeki değerler karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Özellikle antik örneklerde, dentin gibi mineralize dokuların daha seçici koruma sağlaması nedeniyle sınırlı tür profili korunmuş olabilir.

Uzun kemik örneği, tek bir veri noktası içermekle birlikte, simpson hariç çeşitlilik indekslerinde de en yüksek değeri göstermiştir. Bu durum, kemiğin iç dokusunun çevresel mikroorganizmalar için daha geçirgen olmasıyla açıklanabilir. Kafatası, sementum ve dentine kıyasla daha yüksek çeşitliliğe sahip olmuş, bu da mikrobiyal invazyonun mikrobiyal çeşitliliği arttırmış olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, dentin ve sementumda düşük, kafatası ve uzun kemik dokusunda ise daha yüksek çeşitlilik saptanmıştır. Yani alfa çeşitliliği, doku türlerine göre anlamlı farklılıklar göstermiştir. Bu, dış dokuların, iç dokulara göre daha çeşitli mikrobiyal topluluklar barındırabileceğini göstermektedir. Dış dokuların, çevresel etkilere daha açık olduğunu göstermektedir.

Kimsis ve arkadaşlarının (2023) çalışmasında alfa çeşitlilik analizi, diş ve kemik örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliği karşılaştırmak için kullanılmıştır. Çalışmada shannon çeşitlilik indisleri ile yapılan analizler, diş örneklerinin kemik örneklerine kıyasla daha yüksek mikrobiyal alfa çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, antik mikrobiyomun korunumu açısından dişin daha avantajlı bir örnekleme materyali olduğunu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda ise, dentin ve sementuma kıyasla kafatası ve diğer kemik dokularında daha yüksek mikrobiyal çeşitlilik gözlemlenmiştir. Bu durum, örnek sayısının sınırlı olması ve çevresel kontaminasyonun etkisiyle açıklanabilir.

Beta çeşitliliğin değerlendirilmesinde yapılan PCA analizleri, farklı doku türlerinden elde edilen örnekler arasında anlamlı mikrobiyal farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Beta çeşitlilik analizinde, dentin ve sementum örnekleri genelde benzer mikrobiyal yapılar göstererek PC1 ekseninde yakın kümelenmiştir. Ancak PC2 eksen, doku türleri arasındaki mikrobiyal farklılıkları daha belirgin şekilde ortaya koymuştur. Buna karşılık, kafatası ve uzun kemik dokuları PC3 ekseninde ayrılarak daha heterojen mikrobiyal topluluklar sergilemiştir. PC2-PC3 ekseninde ise sementum en geniş varyasyonu göstermiş, bu da çevresel etkilenime daha açık olduğunu düşündürmüştür. Dentin ise daha tutarlı ve sınırlı bir çeşitlilik göstermiştir.

4.3. Dentin ve Sementum Dokularının Mikroorganizma Profilleri

Dentin ve sementum dokularına özgü mikrobiyal profiller incelendiğinde büyük oranda ağız ve ağız ile ilişkili mikroorganizmalardan oluştuğu görülmektedir.

Bordetella holmesii, *Bordetella* cinsine gram negatif bir bakteri türüdür. İnvaziv enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlar arasında bakteriyemi, menenjit, pnömoni, endokardit, perikardit ve artrit gibi semptomlar yer almaktadır. Aynı zamanda boğmaca gibi solunum enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Pittet vd., 2014; Pittet ve Posfay-Barbe, 2015).

Ketogulonicigenium vulgare, anaerob ve çubuk şekilli bir bakteridir. Toprakta izole edilir ve gram negatiftir. (Xiong vd., 2010). *K. vulgare*, endüstriyel bir organizmadır. C vitamini üretiminde, iki aşamalı fermentasyonunda kullanılan bir bakteri türüdür (Liu vd., 2011; Mutlu vd., 2023).

Streptococcus cristatus, *Streptococcus* cinsinin *Mitis* grubuna ait, ağız florasında bulunan bir bakteridir. Patojenite göstermesi hakkında çok fazla bilgiye rastlanmamıştır (Guzman vd., 2023).

Pseudomonas taetrolens, laktobiyonik asit üretir (Oh ve Eom, 2022).

Campylobacter showae, insan dış etinde bulunan, anaerob bakterilerdir. Gram negatif, hareketli ve çubuk şekillidir (Etoh vd., 1993). Periodontitis ve diş eti iltihabına sebep olmaktadır. Ancak çok görülmemekle birlikte bağırsak hastalıklarına da neden olmaktadır (Hsu vd., 2019).

Phaeobacter inhibens, *Phaeobacter* cinsine ait, denizden izole edilen bir bakteri türüdür (Bramucci vd., 2018).

Tannerella HOT-286, oral bakteriler arasında yer almaktadır. Gram negatif bir bakteri türüdür ve anaerobiktir. Periodontal hastalıklarla ilişkili bir bakteridir (Frey vd., 2018).

Weksella virosa, gram negatif, aerobik bir bakteridir. Enfeksiyon sebebidir fakat enfeksiyona, nadir bir şekilde rastlanmaktadır (Slenker vd., 2012). Bu enfeksiyonlar, genitoüriner sisteminde oluşan enfeksiyonlardır (Reina vd., 1990).

Serratia marcescens, *Serratia* cinsine ait gram negatif bir bakteri türüdür. Nozokomiyal patojen olmakla birlikte salgın oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bu patojen, pnömoni, idrar ve safra yolu enfeksiyonları, peritonit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlar ölümcül olabilmektedir (Erat vd., 2022). Özellikle prematür yeni doğanların daha çok etkilendiği bir enfeksiyondur ve bebekler, bireylere göre fazla etkilenerken daha hızlı ölümüne sebep olmaktadır (Tıraş vd., 2002).

Acidipropionibacterium acidipropionici, gram pozitif bir bakteri türüdür. *Acidipropionibacterium* cinsi içindeki anaerobik bir bakteri türüdür (Reimer vd., 2023).

Pseudomonas syringae, bitki patojeni bir bakteridir (Xin vd., 2018).

Corynebacterium matruchotii, gram pozitif ve aerobik bir bakteridir. Ağız boşluğunda bulunmakla birlikte en çok diş yüzeyinde ve diş plağında ortaya çıkar (Q. Li vd., 2022).

Kribella flavida, gram pozitif, aerobik bakteriler arasında yer almaktadır. Toprakta izole edilebilmektedir (Pukall vd., 2010).

Cutibacterium acnes, eski adıyla *Propionibacterium acnes*, gram pozitif ve anaerob bir bakteri türüdür. Cildin florasında bulunmaktadır ve aynı zamanda ağız, burun ve kalın bağırsak ve konjonktivada da bulunabilir (Boisrenoult, 2018; Perry ve Lambert, 2011). Enfeksiyon oluşturabilen bir patojendir ve akneye neden olmaktadır (Bhatia vd., 2004). Bu patojene ek olarak da kemik, ağız, göz gibi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Perry ve Lambert, 2011).

Neisseria mucosa, gram negatif bir bakteri türüdür. Geniz ve ağız florasında bulunmaktadır. Ağız florasında bulunan *Neisseria*, genellikle sağlıklı bireylerde hastalığa yol açmaz. Ancak nadir durumlarda, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, fırsatçı bir patojen olarak menenjit gibi enfeksiyonlara neden olabilir (Stotka vd., 1991). Bağışıklık sistemi zayıf olan insanlarda endokardit hastalığına sebep olduğu durumlar görülmüştür (Osses vd., 2017).

Streptococcus sanguinis, gram pozitif ve anaerob bir bakteridir. İnsan diş plağında bulunmaktadır ve oral biyofilm oluşturmaktadır (Zhu vd., 2018). *S. sanguinis*, ağız sağlığının iyileşmesi için önemlidir. Diş çürüklerine karşı patojen gösteren bakterilere karşı koruma sağlamaktadır. Ancak *S.*

sanguinis, ağızdan kan dolaşımına geçtiği durumlarda enfektif endokardit (kalp yetmezliği, felç) hastalığına neden olmaktadır (Martini vd., 2020).

Dentin, içerdği mikroskobik tübüller sayesinde mikroorganizmaların hem yaşam sırasında hem de ölüm sonrası dokuya nüfuz etmesine olanak tanır. Pulpa dokusuna yakınlığı, damarlar yoluyla sistemik enfeksiyonların dentine ulaşmasını kolaylaştırır. Bu özellikler, dentinin mikrobiyal DNA açısından zengin bir kaynak olmasını açıklar (Warinner vd., 2014; Mann vd., 2018).



5. SONUÇ

Bu çalışmada, 14 bireyden elde edilen 4 farklı doku tipi incelenmiş ve toplamda 19 antik ağız bakterisi tanımlanmıştır. Dentin ve sementum örnekleri arasında anlamlı bir mikrobiyal farklılık tespit edilmemiştir; bu bulgu, her iki dokunun da antik metagenomik analizler için benzer bilgi potansiyeli taşıdığını ve araştırmalarda birbirine alternatif olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, dentin örnekleri hem mikrobiyal çeşitlilik hem de antik bakteri sayısı açısından daha zengin bulunmuştur. Bu nedenle, antik DNA araştırmalarında dentin dokusuna öncelik verilmesi, daha verimli sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

Temel sonuçlar:

- 14 tane örnekten 4 tane doku incelendi
- Bu örneklerden 19 tane antik ağız bakterisi elde edildi
- Dentin ve sementum örneklerinde anlamlı bir mikrobiyal farklılık tespit edilmedi
- Dentin ve sementuma özgü mikroorganizmalar bulundu. Dentin dokusunun daha fazla mikrobiyal tür içerdiği ve daha fazla antik bakteri içerdiği gözlemlendi

Antik DNA araştırmacıları dentin dokusu içeren örneklerle daha fazla ağırlık verebilirler.



KAYNAKLAR

- Adler, C. J., Dobney, K., Weyrich, L. S., Kaidonis, J., Walker, A. W., Haak, W., Bradshaw, C. J. A., Townsend, G., Sołtysiak, A., Alt, K. W., Parkhill, J., & Cooper, A. (2013). Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nature Genetics*, 45(4), 450-455, 455e1. <https://doi.org/10.1038/ng.2536>
- Adler, C. J., Haak, W., Donlon, D., & Cooper, A. (2011). Survival and recovery of DNA from ancient teeth and bones. *Journal of Archaeological Science*, 38(5), 956-964. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.11.010>
- Alpöz, A., & Eronat, C. (2012). Streptococcus Sobrinus ve Diş Çürüğü Üzerindeki Rolü The Role of Streptococcus Sobrinus on Dental Caries. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 30(1), Article 1.
- ALShami, A., ALHarthi, S., Binshabaib, M., Wahi, M., ALShami, A., ALHarthi, S., Binshabaib, M., & Wahi, M. (2019). Tooth Morphology Overview. İçinde *Human Teeth—Key Skills and Clinical Illustrations*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.87153>
- Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1), 19-31. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00028-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00028-6)
- Andermann, T., Antonelli, A., Barrett, R. L., & Silvestro, D. (2022). Estimating Alpha, Beta, and Gamma Diversity Through Deep Learning. *Frontiers in Plant Science*, 13, 839407. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.839407>
- Ang, M. Y., Dymock, D., Tan, J. L., Thong, M. H., Tan, Q. K., Wong, G. J., Paterson, I. C., & Choo, S. W. (2013). Genome Sequence of Parvimonas micra Strain A293, Isolated from an Abdominal Abscess from a Patient in the United Kingdom. *Genome Announcements*, 1(6), e01025-13. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01025-13>
- Aydın, M., Mısırlıgil, A. (2012). Ağız mikrobiyolojisi [Oral microbiology].
- Aydın, G., Doğan Ayçık, Ö., Yiğit, G., Şenel, F., Uzun, M. A., Adaleti, R., & Aksaray, S. (2016). A Rare Cause of Peritonitis, Aggregatibacter aphrophilus. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2015.092>

- Ayhancı, T., Terzi, H. A., Köroğlu, M., Erkin, A., & Altındış, M. (2018). Erysipelothrix rhusiopathiae'nın etken olduğu nadir bir osteomyelit olgusu. *Online Turkish Journal of Health Sciences*, 3(4), Article 4. <https://doi.org/10.26453/otjhs.433710>
- Baghban, A., & Gupta, S. (2016). Parvimonas micra: A rare cause of native joint septic arthritis. *Anaerobe*, 39, 26-27. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.02.004>
- Bal, D., Balcı, B., Yılmaz, A., Polat, G., & Arıcan, E. (2022). Balıkesir/Antandros Antik Kenti Kazısı Toprak Örneklerinin Metagenomik Analizi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(1), 1-12. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.700604>
- Barbe, V., Bouzon, M., Mangenot, S., Badet, B., Poulain, J., Segurens, B., Vallenet, D., Marlière, P., & Weissenbach, J. (2011). Complete Genome Sequence of Streptomyces cattleya NRRL 8057, a Producer of Antibiotics and Fluorometabolites. *Journal of Bacteriology*, 193(18), 5055-5056. <https://doi.org/10.1128/JB.05583-11>
- Barnes, I., Barnett, R., & Shapiro, B. (2007). VERTEBRATE STUDIES | Ancient DNA. İçinde *Encyclopedia of Quaternary Science* (ss. 3249-3253). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-44-452747-8/00268-4>
- Baselga, A. (2010). Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 134-143. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2009.00490.x>
- Belibasakis, Maula, Bao, Lindholm, Bostanci, Oscarsson, Ihalin, & Johansson. (2019). Virulence and Pathogenicity Properties of Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Pathogens*, 8(4), 222. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040222>
- Bhatia, A., Maisonneuve, J.-F., & Persing, D. H. (2004). PROPIONIBACTERIUM ACNES AND CHRONIC DISEASES. İçinde *The Infectious Etiology of Chronic Diseases: Defining the Relationship, Enhancing the Research, and Mitigating the Effects: Workshop Summary*. National Academies Press (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK83685/>
- Boisrenoult, P. (2018). Cutibacterium acnes prosthetic joint infection: Diagnosis and treatment. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*, 104(1), S19-S24. <https://doi.org/10.1016/j.otsr.2017.05.030>

- Boskey, A. L. (2007). Mineralization of Bones and Teeth. *Elements*, 3(6), 385-391. <https://doi.org/10.2113/GSELEMENTS.3.6.385>
- Bowden, G. H. W. (1996). Actinomyces, Propionibacterium propionicus, and Streptomyces. İçinde S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th bs). University of Texas Medical Branch at Galveston. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8385/>
- Bramucci, A. R., Labeeuw, L., Orata, F. D., Ryan, E. M., Malmstrom, R. R., & Case, R. J. (2018). The Bacterial Symbiont Phaeobacter inhibens Shapes the Life History of Its Algal Host Emiliana huxleyi. *Frontiers in Marine Science*, 5, 188. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00188>
- Bray, J. R., & Curtis, J. T. (1957). An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27(4), 325-349. <https://doi.org/10.2307/1942268>
- Breitwieser, F. P., Baker, D. N., & Salzberg, S. L. (2018). KrakenUniq: Confident and fast metagenomics classification using unique k-mer counts. *Genome Biology*, 19(1), 198. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1568-0>
- Briggs, A. W., Stenzel, U., Johnson, P. L. F., Green, R. E., Kelso, J., Prüfer, K., Meyer, M., Krause, J., Ronan, M. T., Lachmann, M., & Pääbo, S. (2007). Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(37), 14616-14621. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704665104>
- Butcher, M. C., Short, B., Veena, C. L. R., Bradshaw, D., Pratten, J. R., McLean, W., Shaban, S. M. A., Ramage, G., & Delaney, C. (2022). Meta-analysis of caries microbiome studies can improve upon disease prediction outcomes. *Apmis*, 130(12), 763-777. <https://doi.org/10.1111/apm.13272>
- Cantacessi, C., Jex, A. R., Hall, R. S., Young, N. D., Campbell, B. E., Joachim, A., Nolan, M. J., Abubucker, S., Sternberg, P. W., Ranganathan, S., Mitreva, M., & Gasser, R. B. (2010). A practical, bioinformatic workflow system for large data sets generated by next-generation sequencing. *Nucleic Acids Research*, 38(17), e171. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq667>
- Chen, T., Yu, W.-H., Izard, J., Baranova, O. V., Lakshmanan, A., & Dewhirst, F. E. (2010). The Human Oral Microbiome Database: A web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database*, 2010, baq013. <https://doi.org/10.1093/database/baq013>

- Conrads, G., de Soet, J. J., Song, L., Henne, K., Sztajer, H., Wagner-Döbler, I., & Zeng, A.-P. (2014). Comparing the cariogenic species *Streptococcus sobrinus* and *S. mutans* on whole genome level. *Journal of Oral Microbiology*, 6, 10.3402/jom.v6.26189. <https://doi.org/10.3402/jom.v6.26189>
- Dabney, J., Meyer, M., & Pääbo, S. (2013). Ancient DNA Damage. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7), a012567. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012567>
- Dalal, V., Pasupuleti, N., Chaubey, G., Rai, N., & Shinde, V. (2023). Advancements and Challenges in Ancient DNA Research: Bridging the Global North–South Divide. *Genes*, 14(2), 479. <https://doi.org/10.3390/genes14020479>
- Der Sarkissian, C., Velsko, I. M., Fotakis, A. K., Vågene, Å. J., Hübner, A., & Fellows Yates, J. A. (2021). Ancient Metagenomic Studies: Considerations for the Wider Scientific Community. *mSystems*, 6(6), e01315-21. <https://doi.org/10.1128/msystems.01315-21>
- Drancourt, M., Aboudharam, G., Signoli, M., Dutour, O., & Raoult, D. (1998). Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: An approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(21), 12637-12640.
- Drancourt, M., Tran-Hung, L., Courtin, J., Lumley, H. de, & Raoult, D. (2005). *Bartonella quintana* in a 4000-year-old human tooth. *The Journal of Infectious Diseases*, 191(4), 607-611. <https://doi.org/10.1086/427041>
- Erat, T., Özdemir, H., Yahşi, A., Tural Kara, T., Azapağası, E., Kendirli, T., İnce, E., Atasay, B., Ünal, E., Aysev, D., İnce, E., & Çiftçi, E. (2022). Bloodstream Infections Caused by *Serratia marcescens*: Have a High Prevalence of ESBL and Carbapenemase Production in Pediatric Patients. *Journal of Pediatric Infection*, 16(3), 173-178. <https://doi.org/10.5578/ced.20229755>
- Etoh, Y., Dewhirst, F. E., Paster, B. J., Yamamoto, A., & Goto, N. (1993). *Campylobacter showae* sp. Nov., Isolated from the Human Oral Cavity. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43(4), 631-639. <https://doi.org/10.1099/00207713-43-4-631>
- Faith, D. P., Minchin, P. R., & Belbin, L. (1987). Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. *Vegetatio*, 69(1), 57-68. <https://doi.org/10.1007/BF00038687>
- Fontani, F., Boano, R., Cinti, A., Demarchi, B., Sandron, S., Rampelli, S., Candela, M., Traversari, M.,

- Latorre, A., Iacovera, R., Abondio, P., Sarno, S., Mackie, M., Collins, M., Radini, A., Milani, C., Petrella, E., Giampalma, E., Minelli, A., ... Luiselli, D. (2023). Bioarchaeological and paleogenomic profiling of the unusual Neolithic burial from Grotta di Pietra Sant'Angelo (Calabria, Italy). *Scientific Reports*, 13, 11978. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39250-y>
- Forensic odontology*. (2018, Mayıs 7). SlideShare. <https://www.slideshare.net/HunkR/forensic-odontology-96252880>
- Frey, A. M., Ansbro, K., Kamble, N. S., Pham, T. K., & Stafford, G. P. (2018). Characterisation and pure culture of putative health-associated oral bacterium BU063 (*Tannerella* sp. HOT-286) reveals presence of a potentially novel glycosylated S-layer. *FEMS Microbiology Letters*, 365(17). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny180>
- Fridman, D., Chaudhry, A., Makaryus, J., Black, K., & Makaryus, A. N. (2016). *Rothia dentocariosa* Endocarditis: An Especially Rare Case in a Previously Healthy Man. *Texas Heart Institute Journal*, 43(3), 255-257. <https://doi.org/10.14503/THIJ-15-5068>
- Gancz, A. S., & Weyrich, L. S. (2023). Studying ancient human oral microbiomes could yield insights into the evolutionary history of noncommunicable diseases. *F1000Research*, 12, 109. <https://doi.org/10.12688/f1000research.129036.2>
- Georg, L. K., & Brown, J. M. (1967). *Rothia*, gen. Nov. An aerobic genus of the family Actinomycetaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 17(1), 79-88. <https://doi.org/10.1099/00207713-17-1-79>
- Granehall, L., Huang, K. D., Tett, A., Manghi, P., Paladin, A., O'Sullivan, N., Rota-Stabelli, O., Segata, N., Zink, A., & Maixner, F. (2021). Metagenomic analysis of ancient dental calculus reveals unexplored diversity of oral archaeal *Methanobrevibacter*. *Microbiome*, 9(1), 197. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01132-8>
- Green, R. E., Krause, J., Briggs, A. W., Maricic, T., Stenzel, U., Kircher, M., Patterson, N., Li, H., Zhai, W., Fritz, M. H.-Y., Hansen, N. F., Durand, E. Y., Malaspinas, A.-S., Jensen, J. D., Marques-Bonet, T., Alkan, C., Prüfer, K., Meyer, M., Burbano, H. A., ... Pääbo, S. (2010). A Draft Sequence of the Neandertal Genome. *Science (New York, N.Y.)*, 328(5979), 710-722. <https://doi.org/10.1126/science.1188021>
- Gregorius, H.-R., & Gillet, E. M. (2008). Generalized Simpson-diversity. *Ecological Modelling*, 211(1-

- 2), 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.08.026>
- Guzman, C., Zaelli, A., & Molinari, J. (2023). Streptococcus cristatus bacteremia in a patient with poor oral hygiene: A case report. *Journal of Medical Case Reports*, 17(1), 218. <https://doi.org/10.1186/s13256-023-03818-z>
- Gülsoy, S., & Özkan, K. (2008). Tür Çeşitliliğinden Ekolojik Açıdan Önemi ve Kullanılan Bazı İndisler. Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi.
- Handelsman, J. (2004). Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4), 669-685. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004>
- Hansen, H. B., Damgaard, P. B., Margaryan, A., Stenderup, J., Lynnerup, N., Willerslev, E., & Allentoft, M. E. (2017). Comparing Ancient DNA Preservation in Petrous Bone and Tooth Cementum. *PLOS ONE*, 12(1), e0170940. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170940>
- Hayes. (2023). *T-Test: What It Is With Multiple Formulas and When To Use Them*. Investopedia. <https://www.investopedia.com/terms/t/t-test.asp>
- Herbig, A., Maixner, F., Bos, K. I., Zink, A., Krause, J., & Huson, D. H. (2016). *MALT: Fast alignment and analysis of metagenomic DNA sequence data applied to the Tyrolean Iceman* [Preprint]. Bioinformatics. <https://doi.org/10.1101/050559>
- Higgins, D., & Austin, J. J. (2013). Teeth as a source of DNA for forensic identification of human remains: A Review. *Science & Justice*, 53(4), 433-441. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2013.06.001>
- Higuchi, R., Bowman, B., Freiberger, M., Ryder, O. A., & Wilson, A. C. (1984). DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature*, 312(5991), 282-284. <https://doi.org/10.1038/312282a0>
- Hikichi, Y., Yoshimochi, T., Tsujimoto, S., Shinohara, R., Nakaho, K., Kanda, A., Kiba, A., & Ohnishi, K. (2007). Global regulation of pathogenicity mechanism of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Biotechnology*, 24(1), 149-154. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.24.149>
- Hill, M. (1973). Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. *Ecology*, 54, 427-

432. <https://doi.org/10.2307/1934352>

Hsu, T., Gemmell, M. R., Franzosa, E. A., Berry, S., Mukhopadhyay, I., Hansen, R., Michaud, M., Nielsen, H., Miller, W. G., Nielsen, H., Bajaj-Elliott, M., Huttenhower, C., Garrett, W. S., & Hold, G. L. (2019). Comparative genomics and genome biology of *Campylobacter showae*. *Emerging Microbes & Infections*, 8(1), 827-840. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1622455>

Issa, E., Salloum, T., & Tokajian, S. (2020). From Normal Flora to Brain Abscesses: A Review of *Streptococcus intermedius*. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00826>

Jaadi. (t.y.). *Temel Bileşen Analizi (PCA) Açıklaması | Dahili*. Bultin. Geliş tarihi 02 Şubat 2024, gönderen <https://bultin.com/data-science/step-step-explanation-principal-component-analysis>

Jackson, I., Woodman, P., Dowd, M., Fibiger, L., & Cassidy, L. M. (2024). Ancient Genomes From Bronze Age Remains Reveal Deep Diversity and Recent Adaptive Episodes for Human Oral Pathobionts. *Molecular Biology and Evolution*, 41(3), msae017. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae017>

Janssen, P. J., Van Houdt, R., Moors, H., Monsieurs, P., Morin, N., Michaux, A., Benotmane, M. A., Leys, N., Vallaey, T., Lapidus, A., Monchy, S., Médigue, C., Taghavi, S., McCorkle, S., Dunn, J., van der Lelie, D., & Mergeay, M. (2010). The complete genome sequence of *Cupriavidus metallidurans* strain CH34, a master survivalist in harsh and anthropogenic environments. *PLoS One*, 5(5), e10433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010433>

Jensen, T. Z. T., Niemann, J., Iversen, K. H., Fotakis, A. K., Gopalakrishnan, S., Vågene, Å. J., Pedersen, M. W., Sinding, M.-H. S., Ellegaard, M. R., Allentoft, M. E., Lanigan, L. T., Taurozzi, A. J., Nielsen, S. H., Dee, M. W., Mortensen, M. N., Christensen, M. C., Sørensen, S. A., Collins, M. J., Gilbert, M. T. P., ... Schroeder, H. (2019). A 5700 year-old human genome and oral microbiome from chewed birch pitch. *Nature Communications*, 10(1), 5520. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13549-9>

Jeon, H.-K., Park, H., Lee, D., Choe, S., Kang, Y., Bae, M. M., Lee, S.-H., Sohn, W.-M., Hong, S.-J., Chai, J.-Y., & Eom, K. S. (2018). Genetic and Morphologic Identification of *Spirometra ranarum* in Myanmar. *The Korean Journal of Parasitology*, 56(3), 275-280. <https://doi.org/10.3347/kjp.2018.56.3.275>

- Jiang, S., Li, M., Fu, T., Shan, F., Jiang, L., & Shao, Z. (2020). Clinical Characteristics of Infections Caused by Streptococcus Anginosus Group. *Scientific Reports*, 10(1), 9032. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65977-z>
- Kahveci, A., Asicioglu, E., Tigen, E., Ari, E., Arikan, H., Odabasi, Z., & Ozener, C. (2011). Unusual causes of peritonitis in a peritoneal dialysis patient: *Alcaligenes faecalis* and *Pantoea agglomerans*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10, 12. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-10-12>
- Kaliaperumal, S., Srinivasan, R., Gupta, A., & Parija, S. C. (2006). Postoperative endophthalmitis due to an unusual pathogen: *Alcaligenes faecalis*. *Eye*, 20(8), 968-969. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6702080>
- Kashuba, N., Kirdök, E., Damlien, H., Manninen, M. A., Nordqvist, B., Persson, P., & Götherström, A. (2019). Ancient DNA from mastics solidifies connection between material culture and genetics of mesolithic hunter–gatherers in Scandinavia. *Communications Biology*, 2(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0399-1>
- Kazarina, A., Kimsis, J., Petersone-Gordina, E., Zayakin, P., Poksane, A., Gerhards, G., & Ranka, R. (2021). Exploring DNA preservation and taxonomic diversity in postmedieval human tooth samples in Latvia. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 40, 103213. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2021.103213>
- Kers, J. G., & Saccenti, E. (2022). The Power of Microbiome Studies: Some Considerations on Which Alpha and Beta Metrics to Use and How to Report Results. *Frontiers in Microbiology*, 12, 796025. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.796025>
- Kirdök, E., Kashuba, N., Damlien, H., Manninen, M. A., Nordqvist, B., Kjellström, A., Jakobsson, M., Lindberg, A. M., Storå, J., Persson, P., Andersson, B., Aravena, A., & Götherström, A. (2024). Metagenomic analysis of Mesolithic chewed pitch reveals poor oral health among stone age individuals. *Scientific Reports*, 14(1), 22125. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48762-6>
- Kiernan, D. (2013). *Natural Resources Biometrics*.
- Ķimsis, J., Pokšāne, A., Kazarina, A., Vilcāne, A., Petersone-Gordina, E., Zayakin, P., Gerhards, G., & Ranka, R. (2023). Tracing microbial communities associated with archaeological human

- samples in Latvia, 7–11th centuries AD. *Environmental Microbiology Reports*, 15(5), 383-391. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13157>
- Kistler, L., Ware, R., Smith, O., Collins, M., & Allaby, R. G. (2017). A new model for ancient DNA decay based on paleogenomic meta-analysis. *Nucleic Acids Research*, 45(11), 6310-6320. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx361>
- Knapp, M., & Hofreiter, M. (2010). Next Generation Sequencing of Ancient DNA: Requirements, Strategies and Perspectives. *Genes*, 1(2), 227-243. <https://doi.org/10.3390/genes1020227>
- Kondzior, E., Kowalczyk, R., Tokarska, M., Borowik, T., Zalewski, A., & Kołodziej-Sobocińska, M. (2020). Multispecies reservoir of *Spirometra erinaceieuropaei* (Cestoda: Diphyllbothridae) in carnivore communities in north-eastern Poland. *Parasites & Vectors*, 13(1), 560. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04431-5>
- Kostlánová, N., Mitchell, E. P., Lortat-Jacob, H., Oscarson, S., Lahmann, M., Gilboa-Garber, N., Chambat, G., Wimmerová, M., & Imberty, A. (2005). The fucose-binding lectin from *Ralstonia solanacearum*. A new type of beta-propeller architecture formed by oligomerization and interacting with fucoside, fucosyllactose, and plant xyloglucan. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(30), 27839-27849. <https://doi.org/10.1074/jbc.M505184200>
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9(4), 357-359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Le, A. T., Do, L.-Q. T., Nguyen, H.-B. T., Nguyen, H.-N. T., & Do, A. N. (2017). Case report: The first case of human infection by adult of *SPIROMETRA ERINACEIEUROPAEI* in VIETNAM. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 669. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2786-x>
- Lemos, J., Palmer, S., Zeng, L., Wen, Z., Kajfasz, J., Freires, I., Abranches, J., & Brady, L. (2019). The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology spectrum*, 7(1), 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>
- Leskovar, T., & Pajnič, I. Z. (2023). Comparative analysis of DNA preservation in permanent and deciduous teeth of adults and non-adults: Implications for archaeological and forensic research. *Forensic Science International*, 353, 111882. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2023.111882>
- Li, J., Batcha, A. M. N., Grüning, B., & Mansmann, U. R. (2016). An NGS Workflow Blueprint for

- DNA Sequencing Data and Its Application in Individualized Molecular Oncology. *Cancer Informatics*, 14(Suppl 5), 87-107. <https://doi.org/10.4137/CIN.S30793>
- Li, Q., Zhou, F., Su, Z., Li, Y., & Li, J. (2022). *Corynebacterium matruchotii*: A Confirmed Calcifying Bacterium With a Potentially Important Role in the Supragingival Plaque. *Frontiers in Microbiology*, 13, 940643. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.940643>
- Li, Y., Kawamura, Y., Fujiwara, N., Naka, T., Liu, H., Huang, X., Kobayashi, K., & Ezaki, T. (2004). *Rothia aeria* sp. Nov., *Rhodococcus baikonurensis* sp. Nov. And *Arthrobacter russicus* sp. Nov., isolated from air in the Russian space laboratory Mir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3), 827-835. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02828-0>
- Liu, L., Li, Y., Zhang, J., Zhou, Z., Liu, J., Li, X., Zhou, J., Du, G., Wang, L., & Chen, J. (2011). Complete Genome Sequence of the Industrial Strain *Ketogulonicigenium vulgare* WSH-001. *Journal of Bacteriology*, 193(21), 6108-6109. <https://doi.org/10.1128/JB.06007-11>
- Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Mann, A. E., Sabin, S., Ziesemer, K., Vågane, Å. J., Schroeder, H., Ozga, A. T., Sankaranarayanan, K., Hofman, C. A., Fellows Yates, J. A., Salazar-García, D. C., Frohlich, B., Aldenderfer, M., Hoogland, M., Read, C., Milner, G. R., Stone, A. C., Lewis, C. M., Krause, J., Hofman, C., ... Warinner, C. (2018). Differential preservation of endogenous human and microbial DNA in dental calculus and dentin. *Scientific Reports*, 8(1), 9822. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28091-9>
- Margaryan, A., Hansen, H. B., Rasmussen, S., Sikora, M., Moiseyev, V., Khoklov, A., Epimakhov, A., Yepiskoposyan, L., Kriiska, A., Varul, L., Saag, L., Lynnerup, N., Willerslev, E., & Allentoft, M. E. (2018). Ancient pathogen DNA in human teeth and petrous bones. *Ecology and Evolution*, 8(6), 3534-3542. <https://doi.org/10.1002/ece3.3924>
- Martini, A. M., Moricz, B. S., Ripperger, A. K., Tran, P. M., Sharp, M. E., Forsythe, A. N., Kulhankova, K., Salgado-Pabón, W., & Jones, B. D. (2020). Association of Novel *Streptococcus sanguinis* Virulence Factors With Pathogenesis in a Native Valve Infective Endocarditis Model. *Frontiers in Microbiology*, 11, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00010>

- Mccabe, W. R., Treadwell, T. L., & De Maria, A. (1983). Pathophysiology of bacteremia. *The American Journal of Medicine*, 75(1, Part 2), 7-18. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90067-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)90067-0)
- Media, C. (2025, Haziran 26). Kalp Enfeksiyonu. *Galen*. <https://www.galenlab.com.tr/kalp-enfeksiyonu/>
- Mergeay, M., & Van Houdt, R. (2021). Cupriavidus metallidurans CH34, a historical perspective on its discovery, characterization and metal resistance. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(2), fiae247. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae247>
- Mohanty, R., Asopa, S. J., Joseph, M. D., Singh, B., Rajguru, J. P., Saidath, K., & Sharma, U. (2019). Red complex: Polymicrobial conglomerate in oral flora: A review. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 8(11), 3480-3486. https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_759_19
- Moore, N. E., & Weyrich, L. S. (2021). A Standardized Approach for Shotgun MetagenomicMetagenomicsAnalysis of Ancient Dental CalculusDental calculusMetagenomics. İçinde G. R. Adami (Ed.), *The Oral Microbiome: Methods and Protocols* (ss. 93-118). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1518-8_7
- Moreno, T., Varman, R., & Idicula, W. (2020). Unique presentation of Aggregatibacter aphrophilus in a superficial left temporal abscess. *IDCases*, 20, e00753. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e00753>
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., & Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, 51 Pt 1, 263-273. <https://doi.org/10.1101/sqb.1986.051.01.032>
- Mutlu, C., Candal Uslu, C., & Erbas, M. (2023). C VİTAMİNİNİN 2-KETO-L-GULONİK ASİT MOLEKÜLÜNDEN ÜRETİMİ İÇİN FARKLI METOTLARIN ARAŞTIRILMASI. *Gıda*, 48(2), 394-404. <https://doi.org/10.15237/gida.GD22126>
- Nagashima, S., Kamimura, A., Shimizu, T., Nakamura-Isaki, S., Aono, E., Sakamoto, K., Ichikawa, N., Nakazawa, H., Sekine, M., Yamazaki, S., Fujita, N., Shimada, K., Hanada, S., & Nagashima, K. V. P. (2012). Complete Genome Sequence of Phototrophic Betaproteobacterium Rubrivivax gelatinosus IL144. *Journal of Bacteriology*, 194(13), 3541-3542. <https://doi.org/10.1128/JB.00511-12>

- Nearing, J. T., Douglas, G. M., Hayes, M. G., MacDonald, J., Desai, D. K., Allward, N., Jones, C. M. A., Wright, R. J., Dhanani, A. S., Comeau, A. M., & Langille, M. G. I. (2022). Microbiome differential abundance methods produce different results across 38 datasets. *Nature Communications*, 13(1), 342. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28034-z>
- Nelson, K. E., Fleischmann, R. D., DeBoy, R. T., Paulsen, I. T., Fouts, D. E., Eisen, J. A., Daugherty, S. C., Dodson, R. J., Durkin, A. S., Gwinn, M., Haft, D. H., Kolonay, J. F., Nelson, W. C., Mason, T., Tallon, L., Gray, J., Granger, D., Tettelin, H., Dong, H., ... Fraser, C. M. (2003). Complete genome sequence of the oral pathogenic Bacterium porphyromonas gingivalis strain W83. *Journal of Bacteriology*, 185(18), 5591-5601. <https://doi.org/10.1128/JB.185.18.5591-5601.2003>
- Neukamm, J., Pfrengle, S., Molak, M., Seitz, A., Francken, M., Eppenberger, P., Avanzi, C., Reiter, E., Urban, C., Welte, B., Stockhammer, P. W., Teßmann, B., Herbig, A., Harvati, K., Nieselt, K., Krause, J., & Schuenemann, V. J. (2020). 2000-year-old pathogen genomes reconstructed from metagenomic analysis of Egyptian mummified individuals. *BMC Biology*, 18(1), 108. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00839-8>
- Nørskov-Lauritsen, Claesson, Birkeholm Jensen, Åberg, & Haubek. (2019). Aggregatibacter Actinomycetemcomitans: Clinical Significance of a Pathobiont Subjected to Ample Changes in Classification and Nomenclature. *Pathogens*, 8(4), 243. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040243>
- Oh, Y.-R., & Eom, G. T. (2022). Efficient production of cellobionic acid from cellobiose by genetically modified Pseudomonas taetrolens. *Biochemical Engineering Journal*, 178, 108282. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108282>
- Orlando, L., Allaby, R., Skoglund, P., Der Sarkissian, C., Stockhammer, P. W., Ávila-Arcos, M. C., Fu, Q., Krause, J., Willerslev, E., Stone, A. C., & Warinner, C. (2021). Ancient DNA analysis. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/s43586-020-00011-0>
- Osses, D. F., Dijkmans, A. C., Van Meurs, A. H., & Froeling, F. M. (2017). Neisseria Mucosa: A New Urinary Tract Pathogen? *Current Urology*, 10(2), 108-110. <https://doi.org/10.1159/000447161>
- Öğündür, G. (2020, Ocak 14). PCA (Principal Component Analysis) Temel Bileşenler Analizi. *Medium*. <https://medium.com/@gulcanogundur/pca-principal-component-analysis-temel-bile%C5%9Fenler-analizi-bf9098751c62>

- Özan, Ü., Özan, F., & Er, K. (2015). Oral mikroorganizmalara karşı propolisin antimikrobiyal etkinliği. *Acta Odontologica Turcica*, 32(1), 36. <https://doi.org/10.17214/aot.43682>
- Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Després, V., Hebler, J., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L., & Hofreiter, M. (2004). Genetic Analyses from Ancient DNA. *Annual Review of Genetics*, 38(1), 645-679. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.110801.143214>
- Pamukçu, U., Yıldız, F. N., Dal, T., & Peker, İ. (2018). Oral Mikrobiyota Araştırmaları Işığında Ağız Sağlığına Yeni Bakış Açısı: Derleme. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 2(3), Article 3.
- Park, J., Kwon, W., Huang, X., Mageswari, A., Heo, I.-B., Han, K.-H., & Hong, S.-B. (2019). Complete mitochondrial genome sequence of a xerophilic fungus, *Aspergillus pseudoglaucus*. *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2), 2422-2423. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1586468>
- Park, O.-J., Kwon, Y., Park, C., So, Y. J., Park, T. H., Jeong, S., Im, J., Yun, C.-H., & Han, S. H. (2020). *Streptococcus gordonii*: Pathogenesis and Host Response to Its Cell Wall Components. *Microorganisms*, 8(12), 1852. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121852>
- Perry, A., & Lambert, P. (2011). *Propionibacterium acnes*: Infection beyond the skin. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 9(12), 1149-1156. <https://doi.org/10.1586/eri.11.137>
- Philips, A., Stolarek, I., Kuczkowska, B., Juras, A., Handschuh, L., Piontek, J., Kozłowski, P., & Figlerowicz, M. (2017). Comprehensive analysis of microorganisms accompanying human archaeological remains. *GigaScience*, 6(7), 1-13. <https://doi.org/10.1093/gigascience/gix044>
- Pilmis, B., Israel, J., Le Monnier, A., & Mizrahi, A. (2015). Spondylodiscitis due to anaerobic bacteria about a case of *Parvimonas micra* infection. *Anaerobe*, 34, 156-157. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.05.013>
- Pittet, L. F., Emonet, S., Schrenzel, J., Siegrist, C.-A., & Posfay-Barbe, K. M. (2014). *Bordetella holmesii*: An under-recognised *Bordetella* species. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(6), 510-519. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70021-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70021-0)
- Pittet, L. F., & Posfay-Barbe, K. M. (2015). *Bordetella holmesii* infection: Current knowledge and a vision for future research. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(8), 965-971. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1056161>

- Pochon, Z., Bergfeldt, N., Kirdök, E., Vicente, M., & Naidoo, T. (2023). *aMeta: An accurate and memory-efficient ancient Metagenomic profiling workflow*.
- Poinar, H. N., Schwarz, C., Qi, J., Shapiro, B., Macphee, R. D. E., Buigues, B., Tikhonov, A., Huson, D. H., Tomsho, L. P., Auch, A., Rampp, M., Miller, W., & Schuster, S. C. (2006). Metagenomics to paleogenomics: Large-scale sequencing of mammoth DNA. *Science (New York, N.Y.)*, 311(5759), 392-394. <https://doi.org/10.1126/science.1123360>
- Pukall, R., Lapidus, A., Glavina Del Rio, T., Copeland, A., Tice, H., Cheng, J.-F., Lucas, S., Chen, F., Nolan, M., LaButti, K., Pati, A., Ivanova, N., Mavromatis, K., Mikhailova, N., Pitluck, S., Bruce, D., Goodwin, L., Land, M., Hauser, L., ... Brettin, T. (2010). Complete genome sequence of *Kribbella flavida* type strain (IFO 14399T). *Standards in Genomic Sciences*, 2(2), 186-193. <https://doi.org/10.4056/sigs.731321>
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 1-27. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
- Rascovan, N., Huynh, H., Chouin, G., Adekola, K., Georges-Zimmermann, P., Signoli, M., Desfosses, Y., Aboudharam, G., Drancourt, M., & Desnues, C. (2016). Tracing back ancient oral microbiomes and oral pathogens using dental pulps from ancient teeth. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2, 6. <https://doi.org/10.1038/s41522-016-0008-8>
- Rasmussen, S., Allentoft, M. E., Nielsen, K., Orlando, L., Sikora, M., Sjögren, K.-G., Pedersen, A. G., Schubert, M., Van Dam, A., Kapel, C. M. O., Nielsen, H. B., Brunak, S., Avetisyan, P., Epimakhov, A., Khalyapin, M. V., Gnuni, A., Kriiska, A., Lasak, I., Metspalu, M., ... Willerslev, E. (2015). Early Divergent Strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 Years Ago. *Cell*, 163(3), 571-582. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.009>
- Ratnayake, L., Olver, W. J., & Fardon, T. (2011). *Aggregatibacter aphrophilus* in a patient with recurrent empyema: A case report. *Journal of Medical Case Reports*, 5(1), 448. <https://doi.org/10.1186/1752-1947-5-448>
- Reboli, A. C., & Farrar, W. E. (1989). *Erysipelothrix rhusiopathiae*: An occupational pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 2(4), 354-359.

- Reich, D., Green, R. E., Kircher, M., Krause, J., Patterson, N., Durand, E. Y., Viola, B., Briggs, A. W., Stenzel, U., Johnson, P. L. F., Maricic, T., Good, J. M., Marques-Bonet, T., Alkan, C., Fu, Q., Mallick, S., Li, H., Meyer, M., Eichler, E. E., ... Pääbo, S. (2010). Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature*, 468(7327), 1053-1060. <https://doi.org/10.1038/nature09710>
- Reimer, L. C., Sarda Carbasse, J., Koblitiz, J., Podstawka, A., & Overmann, J. (2023). *Acidipropionibacterium acidipropionici* (Orla-Jensen 1909) Scholz and Kilian 2016 emend. Nouioui et al. 2018 (Versiyon 8.1) [Dataset]. DSMZ. <https://doi.org/10.13145/BACDIVE12634.20230509.8.1>
- Reina, J., Gil, J., Salva, F., Gomez, J., & Alomar, P. (1990). Microbiological characteristics of *Weeksellia virosa* (formerly CDC group II_f) isolated from the human genitourinary tract. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(10), 2357-2359. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.10.2357-2359.1990>
- Reith, F., Etschmann, B., Grosse, C., Moors, H., Benotmane, M. A., Monsieurs, P., Grass, G., Doonan, C., Vogt, S., Lai, B., Martinez-Criado, G., George, G. N., Nies, D. H., Mergeay, M., Pring, A., Southam, G., & Brugger, J. (2009). Mechanisms of gold biomineralization in the bacterium *Cupriavidus metallidurans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(42), 17757-17762. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904583106>
- Ringér, M. (2008). What is principal component analysis? *Nature Biotechnology*, 26(3), 303-204 <https://doi.org/10.1038/nbt0308-303>
- Rizzi, E., Lari, M., Gigli, E., De Bellis, G., & Caramelli, D. (2012). Ancient DNA studies: New perspectives on old samples. *Genetics Selection Evolution*, 44(1), 21. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-44-21>
- Robinson, M. D., & Oshlack, A. (2010). A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome Biology*, 11(3), R25. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-3-r25>
- Rohland, N., & Hofreiter, M. (2007). Ancient DNA extraction from bones and teeth. *Nature Protocols*, 2(7), 1756-1762. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.247>
- Sales, M. J., Herbert, W. G., Du, Y., Sandur, A. S., Stanley, N. M., & Jensen, P. A. (2018). Complete Genome Sequences of *Streptococcus sobrinus* SL1 (ATCC 33478 = DSM 20742), NIDR 6715-

- 7 (ATCC 27351), NIDR 6715-15 (ATCC 27352), and NCTC 10919 (ATCC 33402). *Microbiology Resource Announcements*, 7(3), 10.1128/mra.00804-18. <https://doi.org/10.1128/mra.00804-18>
- Sarhan, M. S., Wurst, C., Tzankov, A., Bircher, A. J., Wittig, H., Briellmann, T., Augsburger, M., Hotz, G., Zink, A., & Maixner, F. (2023). A nontuberculous mycobacterium could solve the mystery of the lady from the Franciscan church in Basel, Switzerland. *BMC Biology*, 21, 9. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01509-7>
- Sarı vd. (2020). *Streptococcus intermedius'a Bağlı Çoklu Pyojenik Karaciğer Apsesi*. <https://www.klimikdergisi.org/tr/2021/01/05/streptococcus-intermediusa-bagli-coklu-pyojenik-karaciger-apsesi/>
- Seguin-Orlando, A., Donat, R., Der Sarkissian, C., Southon, J., Thèves, C., Manen, C., Tchérémissinoff, Y., Crubézy, E., Shapiro, B., Deleuze, J.-F., Dalén, L., Guilaine, J., & Orlando, L. (2021). Heterogeneous Hunter-Gatherer and Steppe-Related Ancestries in Late Neolithic and Bell Beaker Genomes from Present-Day France. *Current Biology: CB*, 31(5), 1072-1083.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.12.015>
- Shah, H. N., & Collins, M. D. (1988). Proposal for Reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a New Genus, *Porphyromonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38(1), 128-131. <https://doi.org/10.1099/00207713-38-1-128>
- Shannon, C. E. (1948). *A Mathematical Theory of Communication*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Simpson, E. H. (1949). Measurement of Diversity. *Nature*, 163(4148), 688-688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Slenker, A. K., Hess, B. D., Jungkind, D. L., & DeSimone, J. A. (2012). Fatal Case of *Weeksella virosa* Sepsis. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(12), 4166-4167. <https://doi.org/10.1128/JCM.01761-12>
- Smith, D. A., & Nehring, S. M. (2023). *Bacteremi*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441979>
- Soylu, M., Arslan, A., Aydemir, Ş., & Tünger, A. (2021). Evaluation of Microarray and Lysis Filtration

Combined MALDI TOF MS Procedures for the Identification of Gram Negative Bacteremia.

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2021.46320>

Stotka, J. L., Rupp, M. E., Meier, F. A., & Markowitz, S. M. (1991). Meningitis Due to *Neisseria mucosa*: Case Report and Review. *Clinical Infectious Diseases*, 13(5), 837-841. <https://doi.org/10.1093/clinids/13.5.837>

Şimşek, N., & Bulut, E. T. (2013). *Pulpa ve Periapikal Doku Hastalıklarında Bakterilerin Önemi: Bölüm II*.

Tindall, B. J. (2019). *Arachnia propionica* (Buchanan and Pine 1962) Pine and Georg 1969 (Approved Lists 1980), *Propionibacterium propionicum* corrig. (Buchanan and Pine 1962) Charfreitag et al. 1988 and *Pseudopropionibacterium propionicum* (Buchanan and Pine 1962) Scholz and Kilian 2016 and the nomenclatural consequences of changes in the taxonomy of the genus *Propionibacterium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(8), 2612-2615. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003442>

Tindall, B. J., & Euzéby, J. P. (2006). Proposal of *Parvimonas* gen. Nov. And *Quatrionococcus* gen. Nov. As replacements for the illegitimate, prokaryotic, generic names *Micromonas* Murdoch and Shah 2000 and *Quadricoccus* Maszenan et al. 2002, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(11), 2711-2713. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64338-0>

Tirali, R. E., & Bodur, H. (2009). *Pulpa Hastalıklarında Bakterilerin Rolü*.

Tıraş, Ü., Erdeve, Ö., Çamurdan, O., & Dallar, Y. (2002). *SERRATIA MARCESCENS: YENİDOĞAN İÇİN ÖLÜME SEBEBİYET VEREN CİDDİ BİR AJAN*. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 22(6), 571-573.

Tran, M. P., Caldwell-McMillan, M., Khalife, W., & Young, V. B. (2008). *Streptococcus intermedius* causing infective endocarditis and abscesses: A report of three cases and review of the literature. *BMC Infectious Diseases*, 8(1), 154. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-8-154>

Tran-Hung, L., Tran-Thi, N., Aboudharam, G., Raoult, D., & Drancourt, M. (2007). A New Method to Extract Dental Pulp DNA: Application to Universal Detection of Bacteria. *PLOS ONE*, 2(10), e1062. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001062>

- Türkmen, B., Ayhan, K., & Güneş Altuntaş, E. (2016). Dental Plak Oluşumundan Sorumlu Mikroorganizmalar ve Bunların Tüketilen Gıdalarla İlişkisi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 51-51. <https://doi.org/10.17100/nevbiltek.210963>
- Uygun, S. S., & Alkan, G. (2021). Acinetobacter lwoffii Septicemia in a Newborn. *Pediatric Practice and Research*, 9(2), 100-101. <https://doi.org/10.21765/pprjournal.848531>
- Vailleau, F., Sartorel, E., Jardinaud, M.-F., Chardon, F., Genin, S., Huguet, T., Gentzbittel, L., & Petitprez, M. (2007). Characterization of the interaction between the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* and the model legume plant *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 20(2), 159-167. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-2-0159>
- Wang, J., Jiang, Y., Chen, W., Zhu, C., & Liang, J. (2012). Bacterial Flora and Extraradicular Biofilm Associated with the Apical Segment of Teeth with Post-treatment Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*, 38(7), 954-959. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.03.004>
- Warinner, C., Rodrigues, J. F. M., Vyas, R., Trachsel, C., Shved, N., Grossmann, J., Radini, A., Hancock, Y., Tito, R. Y., Fiddyment, S., Speller, C., Hendy, J., Charlton, S., Luder, H. U., Salazar-García, D. C., Eppler, E., Seiler, R., Hansen, L. H., Castruita, J. A. S., ... Cappellini, E. (2014). Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity. *Nature Genetics*, 46(4), 336-344. <https://doi.org/10.1038/ng.2906>
- Weyrich, L. S. (2021). The evolutionary history of the human oral microbiota and its implications for modern health. *Periodontology 2000*, 85(1), 90-100. <https://doi.org/10.1111/prd.12353>
- Weyrich, L. S., Dobney, K., & Cooper, A. (2015). Ancient DNA analysis of dental calculus. *Journal of Human Evolution*, 79, 119-124. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2014.06.018>
- Whittaker, R. H. (1972). Evolution and Measurement of Species Diversity. *TAXON*, 21(2-3), 213-251. <https://doi.org/10.2307/1218190>
- Willmann, C., Mata, X., Hanghoej, K., Tonasso, L., Tisseyre, L., Jeziorski, C., Cabot, E., Chevet, P., Crubézy, E., Orlando, L., Esclassan, R., & Thèves, C. (2018). Oral health status in historic population: Macroscopic and metagenomic evidence. *PLOS ONE*, 13(5), e0196482. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196482>
- Wilson, M. G., & Pandey, S. (2025). *Pseudomonas aeruginosa*. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557831/>

- Wood, D. E., Lu, J., & Langmead, B. (2019). Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biology*, 20(1), 257. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>
- Wooley, J. C., Godzik, A., & Friedberg, I. (2010). A Primer on Metagenomics. *PLoS Computational Biology*, 6(2), e1000667. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000667>
- Xin, X.-F., Kvitko, B., & He, S. Y. (2018). *Pseudomonas syringae*: What it takes to be a pathogen. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 316-328. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17>
- Xiong, X., Han, S., Wang, J., Jiang, Z., Chen, W., Jia, N., Wei, H., Cheng, H., Yang, Y., Zhu, B., You, S., He, J., Hou, W., Chen, M., Yu, C., Jiao, Y., & Zhang, W. (2010). Complete Genome Sequence of the Bacterium *Ketogulonicigenium vulgare* Y25. *Journal of Bacteriology*, 193(1), 315-316. <https://doi.org/10.1128/JB.01189-10>
- Yallowitz, A. W., & Decker, L. C. (2024). Infectious Endocarditis. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557641/>
- Yang, D. Y., & Watt, K. (2005). Contamination controls when preparing archaeological remains for ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science*, 32(3), 331-336. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2004.09.008>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
- Zhu, B., Macleod, L. C., Kitten, T., & Xu, P. (2018). *Streptococcus sanguinis* biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future Microbiology*, 13(8), 915-932. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0043>
- Zuo, X., Chen, P., Liu, Z., Pan, Q., Li, K., Cheng, S., & Guo, A. (2025). Besin stresi altında gözden kaçan *Ralstonia insidiosa* kaynaklı *Listeria monocytogenes* agregasyonunun etki odaklı analizi. *Food Bioscience*, 68, 106730. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106730>



ÖZGEÇMİŞ



