

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PERİODONTAL APSE ÖRNEKLERİNİN BAKTERİYEL
İÇERİĞİNİN REAL TIME PCR ile KANTİTATİF OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Dt. Ercan ERGÜN

**Periodontoloji Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turgut DEMİR**

ERZURUM

2021

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PERİODONTAL APSE ÖRNEKLERİNİN BAKTERİYEL
İÇERİĞİNİN REAL TIME PCR İLE KANTİTATİF OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Dt. Ercan ERGÜN

Tez Savunma Tarihi :

Tez Danışmanı :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdulvahit ERDEM
Fakülte Dekanı

Uzmanlık Tezi

ERZURUM – 2021

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Apseler	1
2.2. Periodontal Apseler.....	4
2.3. Periodontal Apselerin Etyolojisi	6
2.3.1. Derin Bir Periodontal Cep Ağzının Tıkanması.....	6
2.3.2. Furkasyon İlişkisi.....	7
2.3.3. Sistemik Antibiyotik Tedavisi	7
2.3.4. Diyabet.....	7
2.3.5. Diğer Faktörler.....	8
2.4. Periodontitis Hastalarında Periodontal Apseler	8
2.5. Periodontitis Olmayan Hastalarda Periodontal Apseler	9
2.6. Periodontal Apselerin Patogenezi	10
2.7. Mikrobiyoloji	11
2.7.1. Oral Flora.....	11
2.8. Periodontal Apselerin Bakteriyel İçeriğini Belirleme Yöntemleri	18
2.8.1 Faz Kontrast ve Karanlık Alan Mikroskopisi	18
2.8.2. Bakteriyel Kültür Yöntemi	19
2.8.3. Enzim Aktivite Testleri.....	19
2.8.4. İmmünolojik Testler ve Nükleik Asit Probe Testleri.....	20

2.8.5. Checkerboard DNA-DNA Hibridizasyon Tekniği	21
2.8.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	21
2.8.6.1. PCR’da Kullanılan Temel Bileşenler	23
2.8.6.2. PCR Oluşum Mekanizması.....	23
2.8.6.3. PCR Çeşitleri	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Hasta Seçimi	28
3.2. Periodontal Apse Örneklerinin Alınması.....	29
3.3. Periodontal Apse Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu.....	30
3.4. Periodontal Apse İçerisindeki Kantitatif Bakteri Miktarı Tayini İçin SBYR Green Real Time PCR (qPCR) Uygulaması.....	32
3.5. Primer Dizaynı	37
3.6. SYBR Green Real Time PCR (qPCR) Sonuçların Değerlendirilmesi ve Analizi ...	44
3.7. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. Genel Özellikler	47
4.2. Mikrobiyolojik Bulgular	48
4.3. Hastaların Genel Özelliklerine Göre Mikrobiyolojik Bulguların Analizi	53
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
KAYNAKÇA.....	80
EKLER	115
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	115
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	116

TEŞEKKÜR

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Komisyonu tarafından desteklenen TDT-2020-8510 numaralı ‘Periodontal Apse Örneklerinin Bakteriyel İçerğinin Real Time PCR ile Kantitatif Olarak Araştırılması’ konulu proje kapsamında hazırlanan bu tez çalışması Sayın Prof. Dr. Turgut DEMİR yöneticiliğinde Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı Kliniği ve Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Genetik Ana Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında hazırlanmıştır. Bu tez çalışmasına verdikleri destekten dolayı Atatürk Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim.

Uzmanlık tezim boyunca bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Turgut DEMİR’e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın tüm deneysel süreçlerinde yardımlarını esirgemeyen bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Harun BUDAK’a ve Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Özlem BARIŞ’a teşekkür ederim.

Çalışmalarımız esnasında laboratuvarlarını bize açan Atatürk Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine ve imkanlarını bizden esirgemeyen bölüm başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL’e teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen başta Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Recep ORBAK’a, Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI’ya, Prof. Dr. Alparslan DİLSİZ’e, Prof. Dr. Taner ARABACI’ya, Dr. Öğr. Üyesi Tuğba AYDIN’a, Dr. Öğr. Üyesi Didem ÖZKAL EMİNOĞLU’na, Dr. Öğr. Üyesi Yelda ÖZKAN’a, Dr. Öğr. Üyesi Semanur SEVİNÇ GÜL’e, araştırmamın bütün aşamalarında yardımlarını

esirgemeyen ve Arş. Gör. Emine TORAMAN'a, Arş. Gör. Emine KARACA'ya ve Yüksek Lisans Öğrencisi Şükran GÜNAYDIN'a birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum bölüm arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan aileme, zamanlarından çaldığım eşim Aynur, Yusuf Kayra ve Duru'ya teşekkür ederim.

Dt. Ercan ERGÜN



ÖZET

Periodontal Apse Örneklerinin Bakteriyel İçeriğinin Real Time PCR ile Kantitatif Olarak Araştırılması

Amaç: Bu çalışmanın amacı, daha önce kültür yardımıyla periodontal apselerden ilk kez tespit edilen bakterilerin yanı sıra, periodontal apse oluşmasının nedeni olarak kabul edilmiş olan periodontitis etkeni bakteriler ve son dönemde periodontal hastalık etkeni olabileceği ileri sürülen yeni bakteri türlerinin periodontal apse örneklerinde total bakteriler arasındaki mevcudiyeti ve yoğunluğunun Real Time PCR ile kantitatif olarak belirlenmesidir.

Materyal ve Metot: Sistemik olarak sağlıklı, son üç ay içerisinde antibiyotik ve antienflamatuvar ilaç kullanmamış, klinik ve radyolojik muayene sonucu endodontik problemi olmayıp periodontal apse teşhisi konulan 30 gönüllü hastadan periodontal apse içeriği alındı. Toplanan Periodontal Apse örneklerinden genomik DNA izolasyonu için Genomic DNA Purification sistemi kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre yapıldı. Periodontal apse örneklerinde araştırdığımız bakterilerin kantitatif miktarının belirlenmesi amacıyla SYBR Green Real Time PCR (qPCR) yöntemi kullanıldı. İzole edilen genomik DNA'nın konsantrasyonu ve saflık derecesi nanodrop cihazı kullanılarak spektroskopik olarak belirlendi. Periodontal apse içerisindeki bakterilerin nispi ölçümü için Real-Time PCR hassas, etkili ve güvenilir bir yöntemdir. Sunulan çalışmada toplam bakteri yükü içerisindeki hedef bakteri prevalansını ölçmek için oluşturulan standart eğri için *Escherichia coli* jn 109 suşu kullanıldı. İlk olarak 108 den 101 e kadar değişen sayılarda *Escherichia coli* hücrelerinden izole edilecek genomik DNA'lar kullanılarak SYBR Green Real Time PCR yöntemiyle her bir genomik DNA için CT (eşik döngüsü) değeri hesaplanarak standart grafik oluşturuldu. Daha sonra 30 gönüllü bireyden toplanan periodontal apse örneklerinden elde edilen genomik DNA kullanılarak her bir bakteri ve total bakteri (16S rRNA) için qPCR yapıldı. Elde edilen CT değerleri standart grafiğe yerleştirilerek total bakteri içindeki araştırılan bakterinin sayısı belirlendi.

Bulgular: Araştırdığımız 21 bakteriden 17'sinin periodontal apse içeriğindeki varlığı, tespit sıklığı ve miktarları belirlendi. *A.actinomycescomitans*, *S.pneumoniae*, *S.haemolyticus* ve *M.cerebrosus* incelediğimiz örneklerde tespit edilemedi. *P.gingivalis*'in periodontal apse içeriğinde en yüksek rölatif bakteri sayısına sahip olan bakteri olduğu saptandı. Yeni çalışmalarda periodontal hastalıklarda etkili olan bakteriler olan *D.pneumoniae*, *P.endodontalis* ve *F.alocis* yüksek prevalans ve sayılarda tespit edildi. Diğer taraftan kültür yöntemiyle yakın zamanda ilk kez saptanmış olan bakteriler olan *S.mitis*, *S.gordonii*, *S.constellatus*, *A.naeslundii* ve bunun yanında *P.acnes*'in prevalans ve rölatif bakteri sayısı değerleri belirlendi.

Sonuç: Periodontal patojen oldukları bilinen bakterilerin, son zamanlarda yapılan çalışmalarda periodontal hastalıklarda etkili oldukları düşünülen bakterilerin, yakın zamanda kültür yöntemiyle periodontal apse içeriğinde ilk kez bulunduğu belirtilen ve farklı vücut bölgelerinde apse gelişiminde etkili olduğu bilinen bakterilerin periodontal apse içeriğindeki varlık, prevalans ve sayıları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: periodontal apse, PCR, mikrobiyoloji, genomik DNA, periodontopatogen bakteri

ABSTRACT

Quantitative Investigation of the Bacterial Content of Periodontal Abscess Samples by Real Time PCR

Objective: The aim of this study was to determine the presence and density of periodontitis causative bacteria, which has been accepted as the cause of periodontal abscess formation, and the presence and density of new bacterial species, which have recently been suggested to be the cause of periodontal disease, among total bacteria in periodontal abscess samples, as well as the bacteria detected for the first time from periodontal abscesses with the help of culture. It is determined quantitatively by Real Time PCR.

Material Method: Periodontal abscess contents were obtained from 30 volunteer patients who were systemically healthy, did not use antibiotics and anti-inflammatory drugs in the last three months, had no endodontic problems as a result of clinical and radiological examination, and were diagnosed with periodontal abscess. Genomic DNA isolation from collected Periodontal Abscess samples was performed according to the manufacturer's protocol using the Genomic DNA Purification Kit system. SYBR Green Real Time PCR (qPCR) method was used to determine the quantitative amount of bacteria that we investigated indicated in periodontal abscess samples. The concentration and purity of the isolated genomic DNA were determined spectroscopically using a nanodrop device. Real-Time PCR is a sensitive, effective and reliable method for the relative measurement of bacteria in periodontal abscess. *Escherichia coli* jm 109 strain was used for the standard curve created to measure the prevalence of target bacteria in the total bacterial load in the present study. First, a standard graph was created by calculating the CT (cycle threshold) value for each genomic DNA using the SYBR Green Real Time PCR method using genomic DNAs to be isolated from *Escherichia coli* cells in numbers ranging from 10⁸ to 10¹¹. Then, qPCR was performed for each bacteria and total bacteria (16S rRNA) using genomic DNA obtained from periodontal abscess samples collected from 30 volunteer individuals. The CT values obtained were placed on the standard graph and the number of the investigated bacteria in the total bacteria was determined.

Results: The presence, detection frequency and amounts of 17 of the 21 bacteria we investigated in the periodontal abscess content were determined. *A.actinomycetemcomitans*, *S.pneumoniae*, *S.haemolyticus* and *M.cerebrosus* could not be detected in the samples we examined. It was determined that *P.gingivalis* was the bacteria with the highest relative bacterial count in periodontal abscess content. In new studies, *D.pneumosintes*, *P.endodontalis* and *F.alocis*, which are the bacteria that are effective in periodontal diseases, were detected in high prevalence and numbers. On the other hand, the prevalence and relative bacterial count values of *S.mitis*, *S.gordonii*, *S.constellatus*, *A.naeslundii* as well as *P.acnes*, which were detected for the first time by culture method, were determined.

Conclusion: The presence, prevalence and numbers of bacteria known to be periodontal pathogens, bacteria that are thought to be effective in periodontal diseases in recent studies, and bacteria that are known to be effective in the development of abscesses in different body regions, were determined.

Key Words: periodontal abscess, PCR, microbiology, genomik DNA, periodontopathic bacteria

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. Periodontal apsenin sondalama görüntüsü	28
Şekil 3.2. Paper point ile periodontal apse örneği alınması.....	30
Şekil 3.3. Periodontal apse içeriğinin incelendiği PCR cihazı	33
Şekil 3.4. <i>E.coli</i> 'nin optik dansitesinin belirlendiği spektrofotometre cihazı	33
Şekil 3.5. Periodontal apse örneklerinden izole edilen DNA konsantrasyonlarının ölçüldüğü nanodrop cihazı	34
Şekil 3.6. İşlemlerde kullanılan santrifüj cihazı	34
Şekil 3.7. Kullanılan primerlerin santrifüj cihazında görüntüsü	35
Şekil 3.8. Primer dizaynının yapılacağı bakteri türünün genom bilgisine ulaşmak için kullanılan NCBI anasayfasının görüntüsü	37
Şekil 3.9. İlgili bakterinin genom dizisine ulaşmak için bağlantı linkinin verildiği NCBI sayfasının görüntüsü	38
Şekil 3.10. Primer dizaynının yapılacağı bakterinin genomuna ait nükleotit sekansının verildiği internet sayfası.....	39
Şekil 3.11. Primerin dizayn edildiği veri tabanı	40
Şekil 3.12. Primer dizaynı yaparken gerekli olan bilgilerin girildiği veritabanındaki ilgili alanlar	41
Şekil 3.13. Veritabanı tarafından ilgili bakteri genomuna ait önerilen primerlerin baz dizilimlerinin ve özelliklerinin verildiği sayfanın görüntüsü.....	42
Şekil 3.14. İlgili bakteri türüne ait primerlerin başka bakteri türlerle homolojisinin araştırılacağı Nucleotide BLAST veri tabanı.....	43
Şekil 3.15. İlgili bakteri türüne ait primerlerin başka bakteri türlerle homolojisinin verildiği blast sonuçları.....	44

Şekil 3.16. Standart grafikte kullanılacak <i>E.coli</i> jm109 suşunun besiyerine ekimi	45
Şekil 3.17. Besiyerine ekillen <i>E.coli</i> 'nin üremeden önce ve üredikten sonraki görüntüsü.....	45
Şekil 4.1. Hastaların yaşları dağılımına ilişkin histogram grafiği	47
Şekil 4.2. <i>E.coli</i> suşundan incelenen bakterilerin sayısını belirlemek amacıyla elde edilen standart grafik.....	48
Şekil 4.3. Bakteri sayılarını gösteren grafik (log10)	52
Şekil 4.4. Rölatif bakteri sayılarını gösteren grafik.....	52



TABLÖLER DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Periodontal apse örneklerinde kantitatif miktarına bakılacak bakteriler için primer listesi.....	35
Tablo 3.2. Real Time PCR programında kullanılan sıcaklık döngüsü (Rocas and Siqueira, 2012).[216]	46
Tablo 4.1. Hastaların genel özellikleri	48
Tablo 4.2. Periodontal apse örneklerinin DNA saflık ve konsantrasyon değerleri.....	49
Tablo 4.3. İncelenen 30 periodontal apse örneği içeriğindeki bakterilerin tespit sayı ve oranları	50
Tablo 4.4. Bakteri sayıları.....	51
Tablo 4.5. Hastaların yaşları ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi	53
Tablo 4.6. Hastaların cinsiyetleri ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi.....	54
Tablo 4.7. Hastaların sigara kullanımı ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi.....	56
Tablo 4.8. Hastaların cep derinlikleri ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi	57
Tablo 4.9. Bakteri sayılarının (log10) korelasyon analizi.....	58

1. GİRİŞ

Akut periodontal hastalıklar periodonsiyum ve ilişkili yapıları içeren hızlı başlangıçlı doku yıkımı ve enfeksiyon ile karakterize klinik durumlardır.^[1] Bu durumlar içerisinde; diş eti apseleri, periodontal apseler, nekrotizan periodontal hastalıklar, herpetik gingivostomatitis, perikoronar apseler veya perikoronitis ve endo-perio lezyonlar bulunur.^[2] Periodontal apseler spesifik olarak, belli bir zaman aralığında periodontal dokularda yıkım, derin periodontal cepler, sondalamada kanama, supürasyon ve ağrı ile ilişkili, akut, diş destek dokularının hızla yıkımına sebep olan lokalize irin birikimi olarak tanımlanabilirler.^[3, 4]

Periodontal apseler acil tedavi gerektirirler, dişin prognozunu olumsuz etkilerler ve bazı durumlarda sistemik semptomlara sebep olabilirler. Bu lezyonlarla birlikte diş etinde basınç hissi, mobilité, perküsyona hassasiyet ve dişin soketten yükselmesi gibi semptomlar görülebilir.^[5] Bütün bu sebeplerle periodontal apseler, dental acil durumlar içinde değerlendirilirler.^[3, 6]

Periodontal dokularda apselerin oluşumu; pulpa nekrozu (endodontik, periapikal veya dentoalveolar apseler), periodontal enfeksiyonlar (diş eti apsesi veya periodontal apse^[7]), perikoronit (perikoronar apse), travma, cerrahi^[8] veya yabancı cisim gibi farklı etiyolojilerle açıklanabilir. Periodontal apseler daha önceden var olan bir periodontal cepte veya daha önceden periodontal cep olmayan bir bölgede gelişebilirler.^[2]

Bu doğrultuda, periodontal apselerin genellikle kronik periodontitisli hastalarda oluştuğu, subgingival mikrobiyotadaki değişiklikler, konak direncindeki düşüş veya her ikisinin birlikte bulunmasıyla oluşumunun kolaylaştığı öne sürülmüştür.^[7] Genelde periodontal apse ile ilgili mikrobiyolojik çalışmalar, periodontitise benzer bir mikrobiyal kompozisyon göstermiştir.^[2] Bundan dolayı, bu klinik tabloyla ilgili mikrobiyolojik

alışmalar genellikle periodontal patojenlerle sınırlı kalmış, periodontal apse içeriğinde periodontitisten farklı patojenlerin olup olmadığı yeterince araştırılmamıştır.

Periodontal apselerde farklı tekniklerle tanımlanan en yaygın bakteri türleri *Porphromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinonycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella melaninogenica*, *Treponema* türleri, *Campylobacter* türleri, *Capnocytophaga* türleri veya gram negatif enterik çubuklardır.^[2]

Periodontal ceplerdeki periodontopatojen bakterilerin varlığını belirlemek için, peptidaz aktivite testleri^[9], benzoil-DL-arjinin-naftilamid (BANA) hidroliz testleri^[10], enzimatik metotlar^[11], antikor bazlı evalusite testleri^[12], bakteriyel kültür ve real time PCR yntemleri^[13], ve immnoslot blot testleri^[14] gibi çeşitli yöntemler günümüze kadar kullanılmıştır. Gelişen teknolojiyle birlikte periodontal patojenleri tespit etmek için PCR ve DNA/DNA veya DNA/RNA prob yöntemleri gibi teknikler geliştirilmiştir. Bununla birlikte periodontal tedavi sırasında bakteriyel değişiklikleri izleyecek basit, güvenilir ve uygun maliyetli bir test bugüne kadar geliştirilememiştir.^[15, 16]

Rekombinant DNA ve moleküler filogenetik tekniklerle birlikte organizmaların kültüre edilmesine gerek kalmadan doğal mikrobiyal toplulukların karakterize edilmesini sağlayacak yöntemler geliştirilmiştir.^[17] Mikrobiyal eşitliliği araştırmak için mevcut en iyi model DNA'nın hedef ortamdan izole edilmesine, ribozomal DNA'nın (rDNA) oğaltılmasına, amplikonların *Escherichia coli*'ye klonlanmasına ve klonlanmış 16S rDNA eklerinin sıralanmasına dayanmaktadır.^[17, 18] Bu tekniklerin gelişmesiyle birlikte, oral flora bakterilerinin 16S rRNA bölgelerinin klonlama ve sekanslamasına dayanan araştırmalarda yeni mikrobiyal türler belirlenmiştir.^[19, 20]

Moleküler tekniklerle yapılan çalışmalar, kültür temelli çalışmalarla kıyaslandığında, kültür temelli tekniklerde çoğu ortamdaki bakteri çeşitliliğinin ciddi

şekilde dikkate alınmadığını göstermektedir.^[21, 22] Oral bakterileri kültüre edebilmek için gösterilen çabalarla birlikte, oral bakterilerin yaklaşık %50 sinin kültüre edilebildiği düşünülmektedir.^[19]

Kary Mullis 1983 yılında polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) tanımlayarak moleküler biyolojide çığır açmıştır. PCR yöntemi mikroorganizmaların 16S ribozomal RNA genlerindeki özel bölgelerin çoğaltılması mekanizması ile çalışmaktadır. Daha spesifik olarak açıklamak gerekirse; PCR spesifik genlerin amplifikasyonunu sağlamıştır, ve otomatik DNA sıralama yöntemlerinin geliştirilmesi, çok sayıda organizmada hem tüm genomların hem de spesifik genlerin hızlı karakterizasyonuna izin vermiştir.^[23] Periodontal apse içeriğini belirlemeye yönelik PCR çalışmaları olsa da bu çalışmalar kültüre edilebilen bakteriler üzerine veya spesifik periodontal patojenlerin önceden belirlenerek araştırılmasına dayandığı için yeni mikroorganizmaların bulunması olasılığı genellikle göz ardı edilmiştir.

Supragingival diş taşlarından elde edilen saf kültürlerin 16S rekombinant DNA tekniğiyle incelenmesi sonucu daha önce diş taşı veya bakteriyel plakta rastlanmayan *Neisseria flava*, *Aggregatibacter segnis*, *Streptococcus tigurinus*, ve *Morococcus cerebrosus* gibi bakteriler görülmüştür.^[24]

Bu çalışmalar ışığında konak direncinde ve subgingival mikrobiyatadaki değişikliklerin periodontal apse oluşumunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taramalarında periodontal apse içeriğine yönelik çalışmaların yetersiz olduğu görülmektedir. Periodontitisli hastalarda moleküler tekniklerle yapılan bir çalışmada periodontitisle ilişkili yeni türlerin tanımlanması periodontal apse içeriğinde de yeni patojenlere rastlanabileceğini düşündürmektedir.^[25] Bu durum periodontal apse içeriğinin moleküler yöntemlerle incelenmesini zorunlu kılmaktadır. Yeni yöntemlerle periodontitis için muhtemel patojenlerin saptandığı durumlarda,^[20] periodontal apse içeriğinin kültüre

edilmeden doğal mikrobiyatasının rekombinant DNA ve moleküler filogenetik tekniklerle incelenmesi sonucu henüz saptanmamış bakterilerin belirlenmesi olasıdır.

Bu çalışmanın amacı, daha önce kültür yardımıyla periodontal apselerden ilk kez tespit edilen bakterilerin yanı sıra, periodontal apse oluşmasının nedeni olarak kabul edilmiş olan periodontitis etkeni bakteriler ve son dönemde periodontal hastalık etkeni olabileceği ileri sürülen yeni bakteri türlerinin periodontal apse örneklerinde total bakteriler arasındaki mevcudiyeti ve yoğunluğunun Real Time PCR ile kantitatif olarak belirlenmesidir.

Bu çalışmada, periodontal apse içeriğindeki bakterilerin kültüre edilmeden moleküler düzeyde incelenmesi için Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başvuran sistemik olarak sağlıklı ve periodontal apse tanısı konmuş hastalardan periodontal apse içeriği paper point ve periodontal küretler yardımıyla alınarak, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Genetik Ana Bilim Dalı laboratuvarlarında genomik DNA izolasyonu yapılarak spesifik bakterilere yönelik olmadan periodontal apse örneklerinin bakteriyel içeriği Real Time PCR ile kantitatif olarak incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Apseler

Apseler kapalı bir alanda irin birikimi ile karakterizedirler ve insan vücudunun hemen hemen tüm organ veya dokularında gelişebilirler.^[26] Apseler, bir dış fibrotik duvar, bir iç lökosit tabakası ve merkezde nekrotik bir alandan oluşurlar.^[27] Apse duvarının yapısı ve geçirgenliği enfeksiyonun süresine ve kapsül oluşum aşamasına göre değişir. Apse oluşumunun ilk aşamasında pyojenöz bir zar, pürülan lezyonları çevre dokudan ayırır. Daha sonra apse sınırında granülasyon dokusu gelişir. Kronik apselerde bu granülasyon dokusu fibröz bir kapsülle yer değiştirir.^[26]

Apseler floranın normalde steril bir vücut bölgesine girmesiyle oluşurlar ve genellikle polimikrobiyaldirler. *Staphylococcus aureus* ve grup A beta hemolitik streptokoklar, deri ve yumuşak doku apselerinde en sık görülen aeroplardır ve tüm vücut bölgelerinden izole edilirken, mukoza zarlarını kolonize eden organizmalar, vücudun bu bölgeleriyle komşulukta olan enfeksiyonlarda baskındırlar. Dolayısıyla, gastrointestinal ve servikal floranın organizmaları (Enterik gram basil ve *Bacteroides fragilis* grubu) sıklıkla karın içi, kalça ve bacak lezyonlarında bulunmuştur. Grup A beta hemolitik streptokoklar, pigmentli *Prevotella* ve *Porphyromonas* türleri ve *Fusobacterium* türleri en sık baş, boyun ve parmak lezyonlarında görülmüştür. Bu organizmalar muhtemelen bu bölgelere normal floranın bir parçası oldukları ağız boşluğundan ulaşmışlardır.^[28]

Deri ve deri altı yumuşak doku apseleri en sık stafilokoklardan kaynaklanır ve küçük bir yaralanmadan sonra veya folikülit komplikasyonu olarak gelişebilirler.^[26] Bu enfeksiyonlar yaşamı tehdit eden bakteriyemi ve metastatik apseler için enfeksiyon odağı oluştururlar. *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi gram pozitif organizmalar, bulaşıcı sürecin erken safhalarında izole edilen bakterilerdir. Bu tür enfeksiyonlar subkutanöz dokular, fasya ve kaslara yayıldığında ciddi sonuçlar

doğurabilirler.^[29] Yine kutanöz enfeksiyonlarla ilişkili olarak anal salgı bezlerinin tıkanması, bakteri üremesine ortam hazırlayarak perianal apselerin oluşumuna yol açabilir.^[30] Dışkıda baskın olan *B. fragilis* grubuna ait organizmalar, en sık perirektal alandaki apselerden kültüre edilmiştir. Ağız boşluğunun yanı sıra dışkıda da bulunan *Prevotella melaninogenica* yine bu bölge apselerinde görülen bakterilerdendir.^[28]

Beyin apsesi, beyin parankiminin fokal piyojenik enfeksiyonudur.^[31] *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* ve *Streptococcus* beyin apselerinde sıklıkla saptanan bakteri türlerindendir.^[32] Yine beyin apselerinden en yaygın izole edilen organizmalar anaerobik bakteriler, aerobik ve mikroaerofilik streptokoklar, *Enterobacteriaceae* ve *Staphylococcus aureus*'tur. Beyin apsesi için başlıca predispozan faktörler; enfeksiyon, travma ve komşu bölgelerdeki enfeksiyon odaklarından hematogen yayılımdır. Mikrobiyal etioloji birincil enfeksiyonun yerine, yaşa, altta yatan koşullara, bağışıklık durumuna ve coğrafyaya göre değişiklik gösterir.^[31]

Escherichia coli ve *Bacteroides fragilis* intraperiotoneal apse oluşumundan sorumlu tutulan bakterilerdendir.^[27, 33] Karın boşluğunda yer alan pürülan lezyonlar genellikle *Escherichia coli* ile periton enfeksiyonunun bir sekeli. *Bacteroides fragilis*'in ise ardışık intraperitoneal apse oluşumunun ana sorumlusu olduğu bildirilmiştir.^[34, 35] *Prevotella bivia* ve *Prevotella disiens* servikal kanalda baskın olan bakterilerdir ve pelvik apselerde sıklıkla rastlanırlar. Abdominal ve rektal apselerde baskın aerob ve fakültatif organizmalar *Enterobacteriaceae* ve stafilokoklardır. *Neisseria gonorrhoeae* pelvik apselerde sıklıkla görülen bir bakteridir.^[28]

İç organların perforasyonunu takiben oluşan karın içi apselerin mikrobiyolojisi benzer organizma paternlerinden ve perforasyon seviyesinde gastrointestinal floradan oluşur. Baskın anaerobik bakteriler *B. fragilis* grubu, *Peptostreptococcus* ve *Clostridium* türleridir. En sık izole edilen aerobik ve fakültatif bakteriler ise *Enterobacteriaceae* ve

Grup D *Enterococcus* türleridir. Çeşitli intra-abdominal,^[36] retroperitoneal,^[37] viseral (ör: pankreatik, hepatik,^[38] splenik^[39]) ve perirektal apselerde^[40] bu mikroorganizmalara rastlanmıştır. Rektal ve servikal floradan kaynaklanan pelvik, vulvovajinal^[41] ve prostatik^[42] apselerin mikrobiyolojisinde de benzer bir model mevcuttur.^[43, 44] Baskın anaerobik bakteriler *P. bivia*, *P. disiens* ve peptostreptokoklar iken, en sık rastlanan aerobik ve fakültatif bakteriler *Enterobacteriaceae*, *N. gonorrhoeae* ve Grup B streptokoklardır.^[28]

Dental, orofasiyal ve boyun apselerinin mikrobiyolojisi esas olarak oral flora mikroorganizmalarından kaynaklanır.^[45] Bunlar peritonsiller,^[46] retrofaringeal,^[47] parotik^[48] ve servikal lenf bezi^[49] apselerini içerirler. Bu apselerin içeriğindeki anaeroplara, *Prevotella* ve *Porphyromonas*, *Fusobacterium* ve *Peptostreptococcus* türleridir. En sık olarak izole edilen aerop ve fakültatif bakteriler ise *Streptococcus pyogenes* ve *Staphylococcus aureus*'tur.^[28]

Kişinin yaşam boyu dental apse prevalansının %5-46 arasında olduğu belirtilmiştir.^[50] Dental apseler genellikle diş çürüğü, periodontitis, travma veya endodontik enfeksiyonlara ikincil olarak ortaya çıkarlar.^[51] Bunun yanında dental apse, bakteriler ve toksik ürünlerinin periapikal dokularda akut enflamasyonu indüklemesiyle ve apikal apikal foramen yoluyla bu bölgeye ulaşmasıyla meydana gelebilir.^[52] Dental apselerin esas belirtileri genellikle etkilenen dişe bitişik olan rubor, dolor, calor, tumor ve fonksiyon kaybıdır. Dental apsenin yayılmasıyla odontojenik enfeksiyonlar ve sepsis oluşabilir.^[53]

Odontojenik enfeksiyonların çoğu, sistemik olarak sağlıklı hastalarda, çürük veya travmanın neden olduğu pulpa nekrozunun bir sonucu olarak ortaya çıkarlar. Periodontal enfeksiyonlar, perikoronit, travma ve cerrahi diğer kaynaklardır. Bu enfeksiyonların çoğu kolaylıkla iyileşse de, özellikle bağışıklığı zayıflamış hastalarda baş ve boyun bölgesinde

ciddi enfeksiyonlara yol açabilirler.^[54] Odontojenik veya dental apseler enfeksiyonun kaynağına göre endodontal veya periapikal apse, periodontal apse ve perikoronar apse olarak tanımlanabilirler.^[55] Bu apselerin mikrobiyal içeriğini inceleyen çalışmalarda, içeriğin genellikle polimikrobiyal olduğu görülmüştür.^[56]

2.2. Periodontal Apseler

Periodonsiyumdaki apseler, nekrotizan periodontal hastalıklar ve virüs enfeksiyonları ile birlikte akut periodontal durumlar başlığı altında yer almaktadırlar. Periodontal dokulardaki apseler, odontojenik veya dental apseler; perikoronitis, pulpa nekrozu (dentoalveolar apseler), endo-perio lezyonlar (endo-perio apseler), periodontal enfeksiyonlar (gingival apseler ve periodontal apseler) ve diğer apseler; cerrahi ve travmaya^[54] bağlı apseler olarak sınıflandırılmıştır.^[57]

Periodontal apseler lokalizasyonu ve lezyonu çevreleyen dokulara göre; gingival apseler, periodontal apseler ve perikoronar apseler olmak üzere üçe ayrılırlar.^[58]

Gingival apse bazen daha önce periodontal olarak sağlıklı bir alanda marjinal diş eti veya interdental papillayı da içeren lokalize, ağrılı, hızla genişleyen bir lezyondur. Genellikle diş etine sıkışmış yabancı maddelere karşı akut bir iltihaplanma tepkisidir ve erken evrelerde pürüzsüz, parlak yüzeyle, kırmızı bir şişlik olarak görülür. 24 ila 48 saat içinde, lezyon genellikle ince uçlu pürülan eksudanın çıkabileceği bir şişlik halini alır ve ilerlemesine izin verilirse kendiliğinden eksuda boşalır. Semptomlar pulpal hipersensitiviteyi de içerebilir.^[5] Diş eti apselerinin etiolojisinde yabancı cisim sıkışması yanında travma ve mikrobiyal plak enfeksiyonu gibi çeşitli etkenler de bulunabilir.^[58]

Periodontal apseler tipik olarak orta veya ileri seviyede derin periodontal cepleri bulunan tedavi edilmemiş periodontitis hastalarında bulunurlar. Genellikle önceden var olan ceplerin akut alevlenmeleri sonucu ortaya çıkarlar. Primer olarak yetersiz diş taşı temizliğine bağlı olmakla birlikte, çeşitli klinik durumlarla ilişkilidirler. Periodontal

apseler diş kaybının ana sebebi olarak bildirilmiştirler, fakat uygun periodontal tedavi ve idame ile önemli derecede kemik kaybı olan dişler dahi uzun yıllar boyunca idame edilebilirler.^[58]

Perikoronar apseler, kısmi olarak sürmüş dişleri çevreleyen yumuşak doku olan operkulumun enflamasyonu sonucu ortaya çıkarlar. Bu durum en sık olarak mandibular üçüncü molarların etrafında görülür. Gingival apselerde olduğu gibi inflamatuvar lezyon mikrobiyal plak biyofilmi, besin sıkışması veya travma sebebiyle oluşabilir.^[58] Perikoronitis öyküsü olan hastalarda genellikle yutkunma güçlüğü vardır. Perikoronitisin ciddiyeti ve apse oluşumunun gelişimi gram negatif anaerobik patojenlerin artan oranlarıyla ilişkilendirilmiştir.^[59]

Apseler lezyonun alevlenme durumuna göre akut veya kronik olarak sınıflandırılabilirler. Akut periodontal apseler sıklıkla kronik bir inflamatuvar periodontal lezyonun alevlenmesiyle ortaya çıkarlar. Bu tablonun ortaya çıkmasını kolaylaştıran faktörler azalmış doku direnciyle birlikte bakterilerin artmış sayısı, virülansı ve drenajın bozulmasıdır. Drenaj, derin kıvrımlı cep morfolojisi, debris veya cep ağzının epitel ile kapanması sonucu engellenebilir. Akut apseler gingival dokuların ağrılı, kırmızı, ödematöz, düzgün ve oval şişliği şeklinde görülürler. Çoğu olguda eksüda nazik bir basınçla gingival marjinden direne edilebilir. Diş perküsyona karşı hassastır ve soketten yükselmiş hissi olabilir. Nadiren de olsa ateş ve bölgesel lenfadenopati görülebilir.^[58]

Kronik periodontal apseler yayılan enfeksiyonun spontan drenajı ve konak cevabı veya tedaviyle kontrol altına alınmasıyla oluşurlar. Konak ile enfeksiyon arasında bir denge kurulduğunda, hasta çok az semptomata sahip olabilir veya hiç semptom göstermeyebilir. Fakat fistül yolu ve periodontal cep enflamasyonu bulgularına künt bir ağrı eşlik edebilir.^[58] Kronik periodontal apse uzun bir süre mevcut olabilir ve hastaların tedavi aradığı aralıklı bir eksüdasyon öyküsü olabilir. Genellikle derin destekleyici

dokulardan kaynaklanan ve kök boyunca diş eti mukozasına açılan bir fistül yolu olarak ortaya çıkar. Fistül ağzının tespit edilmesi zordur, bir nokta şeklinde görülebilir ve küçük pembe bir granülasyon dokusuyla kaplı olabilir. Sinüs yolunun açıklığı tıkanırsa kronik apseler akut apselere dönüşebilirler.^[60]

Periodontal apseler tek veya çoklu apseler olarak da sınıflandırılabilirler. Tek dişte görülen periodontal apseler genellikle periodontal cebin drenajına engel olan lokal faktörlerle ilişkilidirler. Çoklu periodontal apseler ise genellikle kontrol altına alınmamış diabetes mellitus hastalarında veya tedavi edilmemiş periodontitisi olan sistemik antibiyotik tedavisi uygulanan hastalar gibi sistemik durumlara bağlı olarak ortaya çıkarlar.^[61, 62]

2.3. Periodontal Apselerin Etyolojisi

2.3.1. Derin Bir Periodontal Cep Ağzının Tıkanması

Periodontal apselerin periodontal cep ağzının tıkanması ile tetiklendiğine ve bunun da bakterilerin ortamdaki uzaklaşmasına engel olarak konak hücrelerinin birikmesine neden olduğuna inanılmaktadır.^[5] Bunun sonucunda enfeksiyon, cepten çevre dokulara yayılır ve daha sonra lokalize olur. Bölgedeki doku hasarının nötrofillerden salınan lizozomal enzimlerin sonucu oluştuğu kabul edilmektedir.^[63] Yiyecek ve yabancı cisim sıkışması gibi yerel faktörlerin cep ağzını tıkanması,^[64-66] komşu dokulardan gelen eksüdanın drenajını önler. Periodontal apse çocuklarda nadir görülür ve eğer görülürse genellikle öncesinde sağlıklı olan periodontal dokulara yabancı bir cismin girmesi kaynaklıdır.^[67, 68] Periodontal apseler, periodontal tedavi sırasında diş taşlarının tamamen çıkarılamaması sonucu meydana gelebilirler.^[69] Bu gibi durumlarda, diş eti duvarı büzülerek cep ağzını kapatır ve cebin kapalı kısmında apse gelişir. Apse geliştiğinde hastanın periodontal tedavi görüyor olması, enstrümantasyonun bakterileri

doku içine iterek lokalize pürülan bir eksüda oluşumunu tetikleyebileceğini düşündürür.^[70, 71]

2.3.2. Furkasyon İlişkisi

Furkasyon bölgelerinde periodontal apse görülme sıklığı yüksektir.^[72] Akut periodontal apse insidansını ele alan bir çalışmada molarların çoğunda furkasyon tutulumu belirlenmiştir.^[70] Başka bir çalışmada yine bu klinik tablonun genellikle molar dişlerde görüldüğü bildirilmiştir.^[73] Molarların en sık çekim sebebinin periodontal apseler olduğunu belirten bir çalışma da mevcuttur.^[74]

2.3.3. Sistemik Antibiyotik Tedavisi

Çoklu periodontal apselerin oluşumu sadece lokal faktörlerle açıklanamaz ve antibiyotiklerin sistemik kullanımının periodontal apse oluşumunu tetikleyebileceği öne sürülmektedir. Tedavi edilmemiş ileri periodontal hastalığı olanlarda oral enfeksiyonlar dışındaki sebeplerle sistemik antibiyotik kullanımından kısa bir süre sonra periodontal apselerin meydana geldiği bildirilmiştir.^[75, 76] Bu çalışmaların birinde *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve *Streptococcus intermedius*'un çoklu periodontal apselerle ilişkili en yaygın türler olduğu^[75] ve diğer bir çalışmada ise subgingival *Staphylococcus aureus* prevalansında önemli derecede artış bulunduğu bildirilmiştir.^[76] Bu çalışmalar değerlendirildiğinde tedavi edilmemiş periodontitisli hastalarda sistemik antibiyotik uygulamasının fırsatçı organizmalarla süperenfeksiyona yol açarak periodontal apse oluşumuna yol açabileceği görülmektedir.

2.3.4. Diyabet

Diyabetli hastaların pürülan enfeksiyonlara yatkınlığı onları periodontal apselerle de yatkın hale getirir. Diyabetik hastalarda periodontal apselerin oluşumunda önemli etkilere sahip olabilecek sistemik değişiklikler; hücresel bağışıklığın bozulması, lökosit kemotaksisinin/ fagositozunun azalması ve bakterisidal aktivite gibi azalmış konak

direncini içerir. Diyabetiklerde ayrıca apse oluşumuna duyarlılığı artırabilen vasküler değişiklikler ve değişmiş kollajen metabolizması mevcuttur.^[5, 77] Diyabette gelişmiş glikolizasyon son ürünlerinin hücrel reseptörleriyle birlikte artmış etkileşiminin, diyabet hastalarında periodontal hastalığın ilerleme hızını artıran patojenik mekanizmalardan biri olduğu ileri sürülmüştür.^[78]

2.3.5. Diğer Faktörler

Periodontal apse oluşumu ile ilgili diğer faktörler arasında, endodontik tedavide kök perforasyonu gibi dişe yönelik travma,^[79] molar furkasyonlarında ve invajinasyonlu köklerde mine incileri^[80] gibi anatomik diş anomalileri bulunmaktadır.^[81]

2.4. Periodontitis Hastalarında Periodontal Apseler

Periodontitis hastalarında periodontal apse, kıvrımlı ceplerin varlığı, furkasyon tutulumu,^[82] vertikal bir defekt,^[82, 83] veya cebin marjinal kısmının kapanmasının enfeksiyonun uzamasına yol açabileceği bir hastalık alevlenme dönemini temsil edebilir.^[71, 84, 85] Bu duruma ek olarak, bakteriyel virülansta artış veya konak savunmasındaki bir azalma ile subgingival mikrobiyatanın bileşimindeki değişiklikler de artan supurasyonun drenajı için yetersiz kalabilir.^[57]

Periodontitis hastalarında görülen periodontal apseler değişik alt gruplara ayrılabilirler:

- a) Akut alevlenme; tedavi edilmemiş periodontitis varlığında,^[69] inatçı periodontitiste^[86] ve idame fazındaki periodontal hastalarda ortaya çıkabilir.^[57]
- b) Diş taşı temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi, cerrahi periodontal tedavi, sistemik antibiyotik tedavisi ve nifedipin^[87] gibi diğer ilaçların kullanımı da periodontitis hastalarında periodontal apse oluşumuna sebep olabilir.^[57]

Diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemleri sırasında yerinden çıkmış bir diş taşı parçası derin dokulara itilebilir^[69] veya yetersiz diş taşı temizliği diş taşının cebin derin bölgelerinde kalmasına izin verirken koronal kısmın kapanması drenajı engelleyerek apse oluşumuna neden olabilir.^[88] Cerrahi periodontal tedavide kullanılan sutur ve membranlar da oral flora bakterileri sebebiyle periodontal dokularda apse oluşumuna öncülük edebilirler.^[89]

Şiddetli periodontitis hastalarında subgingival debritleman olmaksızın verilen sistemik antibiyotikler fırsatçı bakterilerin çoğalmasına bağlı olarak periodontal apse oluşumuna neden olabilirler.^[61, 75, 76] Çoklu periodontal apse gelişimiyle ilgili bir diğer sistemik tedavi de nifedipin kullanımıdır. Bir vaka raporunda nifedipin tedavisinden hemen sonra 5 gün içerisinde sekiz periodontal apse geliştiği bildirilmiştir. Akut durum drenajla tedavi edildikten sonra nifedipin tedavisi kesilmiş ve apselerin dağıldığı görülmüştür.^[87]

2.5. Periodontitis Olmayan Hastalarda Periodontal Apseler

Periodontal apseler daha önceden sağlıklı olan periodontal dokularda da gelişebilirler. Sağlıklı dokularda periodontal apse gelişimine sebep olan etkenler şunlardır:

- a) Diş ipi, ortodontik elastikler, kürdan, rubber dam veya patlamış mısır kabuğu gibi yabancı cisimlerin sıkışması
- b) Tırnak yeme, tel ısırma, diş gıcırdatma gibi zararlı alışkanlıkların yabancı cisimlerin subgingival dokulara itilmesine veya cebin koronal ağzının tıkanmasına sebep olması
- c) Çapraz kapanış veya uygun olmayan ortodontik kuvvetler gibi ortodontik faktörler
- d) Diş eti büyümesi^[90]

e) Kök yüzeyi değişiklikleri

Bu kök yüzeyi değişiklikleri; dens evajinatus (oluklar) veya odontodisplazi gibi ciddi anatomik değişiklikleri, semet yırtıkları, mine incileri veya gelişimsel oluklar gibi küçük anatomik değişiklikleri, kök perforasyonları gibi iyatrojenik durumları, dikey kök kırığı veya kök boyunca uzanan çatlak diş sendromunu ve eksternal kök rezorpsiyonunu içerir.^[57]

2.6. Periodontal Apselerin Patogenezi

Bakteriyel metabolitler (H_2S), lipopolisakkaritler gibi bakteri ürünleri (endotoksinler), diş eti enflamasyonu oluşuma öncülük eden proinflatuar ve sitotoksik ajanlar olarak görev alırlar. Bu  r nler IL-1 , IL-18, gibi proinflatuar sitokinler, transkripsiyon faktörü NF- B salgılanmasına neden olarak enflamasyona sebep olurlar. Diğer taraftan egzotoksin salgılayan bakteriler ise hem kendilerinin hem de ortamda bulunan diğer bakterilerin konak n trofillerinden kurtulmalarını sağlayabilirler.^[91] Bu virülans faktörleri, sitotoksik ajanlar ve proinflatuar sitokinler periodontal dokularda enflamasyon ve yıkım oluşmasına öncülük ederler.

Bir periodontal apsenin gelişimindeki ilk adım, periodontal cebi çevreleyen yumuşak dokuların bakteriyel istilasıdır. Polimorfonükleer lökositleri ve diğer hücreleri çeken bakteriler tarafından salınan kemotaktik faktörler yoluyla bu bakteri istilas  iltihaplanma sürecine dönüşür. Bu durum sitokinlerin yoğun salınımını tetikleyecektir. Sitokinlerin yoğun salınımı ise, bakteriyel enfeksiyonun kapsüllenmesi ve irin üretimiyle birlikte bağ dokusu hasarına yol açar. Apse bir kez oluştuğunda, içindeki yıkım hızı bakterilerin vir lansları ve lokal pH ile birlikte (asidik bir ortam lizozomal enzimlerin aktivitesini destekleyecektir) odakların içindeki bakterilerin büyümesine bağlı olacaktır.^[84]

Apseli hastalardan alınan biyopsi örnekleri incelendiğinde dışarıdan içeriye görünenler:

- a) Normal bir epitel ve lamina propria
- b) Akut inflamatuvar infiltrat
- c) Çevreleyen bağ dokusunun tahrip olduğu ve nekrotik yoğun iltihaplanma odakları
- d) Tahrip olmuş ve ülserleşmiş bir cep epiteli
- e) Tanecikli, asidofilik ve şekilsiz bir döküntü kütlesi olarak merkezi bölgedir.

Elektron mikroskobu ile bakıldığında gram negatif bakterilerin cep epitelini istila ettiği ve bağ dokusunun değiştiği görülür.^[3]

2.7. Mikrobiyoloji

2.7.1. Oral Flora

Rahim içindeki insan fetüsü sterildir, ancak doğum kanalından geçer geçmez vajinal ve fekal mikroorganizmalar kazanır.^[92, 93] 2 hafta içerisinde yeni doğan bebeğin bağırsağında neredeyse olgun bir mikrobiyata kurulur.^[94]

Ağız boşluğunun kolonizasyonu da doğum zamanına yakın başlar. Doğumdan sonraki saatler içinde, steril ağız boşluğu düşük sayıda temelde fakültatif ve anaerob bakteriler tarafından kolonize edilir.^[95] Doğumdan hemen sonra, yeni doğanların oral mikrobiyotası annenin vajinal mikrobiyotasına veya sezaryenle doğanlarda annenin cilt mikrobiyotasına çok yakındır.^[92] İkinci günden itibaren bebeğin ağzında anaerobik bakteri saptanabilir.^[96, 97] Dış çevresel mikrobiyal kaynaklara maruz kaldıkça oral bakteri sayısı giderek artmaktadır.^[97-99]

Yeni doğanlarda ağız boşluğunu ilk ve en baskın olarak kolonize eden mikroorganizmalar *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus mitis* olarak

tanımlanmıştır.^[100-102] Ayrıca, *Veillonella* türleri, *Neisseria* türleri, *Actinomyces* türleri ve *Staphylococcus* türleri de ağız boşluğuna ilk yerleşen bakteri kolonilerindendirler.

Dişlerin sürmesiyle birlikte daha karmaşık bir oral mikrobiyata oluşur. Dişlerin ağız boşluğunda yer almasıyla birlikte dişleri kolonize eden türler arasında *Streptococcus sanguinis*, *Lactobacillus* türleri ve *Streptococcus oralis* bulunur. *S. oralis*, *Streptococcus anginosus*, mutans streptokoklar (*S. mutans* ve *S. sobrinus*) ve *Streptococcus gordonii* dahil olmak üzere oral streptokokların genellikle yaşamın ilk yılından sonra mevcut olduğu bildirilmektedir.^[99, 103-105] Buna ek olarak küçük çocuklarda, *Fusobacterium* ve *Prevotella* türleri de tespit edilebilir.^[98, 103] Daha fazla dişin sürmesiyle birlikte bakterilerin tutunması ve kolonize olması için daha fazla alan sağlanır, böylece ağız boşluğundaki bakteri çeşitliliği ve sayısı artar.^[106]

Yetişkinlerin oral bakteriyel mikrobiyomunun yaklaşık 700 türü kapsadığı tahmin edilmektedir ve bu türlerin yaklaşık yarısı herhangi bir zamanda ve kişide mevcut olabilir.^[107, 108] Oral bakterilerin çoğu zararsız kommensal türlerdir. Bu oral mikrobiyatanın konak ile uyum içinde yaşadığı ve ancak belli koşullar altında (yani artan kütle ve/veya patojenite, kommensal veya faydalı bakterilerin baskılanması ve/veya azalmış konak cevabı gibi) hastalık meydana gelebileceği anlamına gelir. Kommensal mikrobiyatanın önemi uzun süreli antibiyotik kullanımıyla mikrobiyata bakterileri baskılandığında *Candida* enfeksiyonları gelişmesiyle açıkça anlaşılmaktadır.^[109]

Dışkı ve salgı sıvılarında bulunan mikroorganizmalar haricinde, tüm bakteriler bir yüzeye yapışarak konakçıları içinde kendilerini korurlar. Bu ilke ağız boşluğu için de geçerlidir. Gingivitis veya periodontitis gibi hastalıkların başlaması için bir bakterinin konağa yapışma yeteneği çok önemlidir.^[110] *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi oral patolojik bakteriler, en önemli

özelliklerinden biri sert ve yumuşak intra-oral yüzeylere tutunmak olan pek çok virülans faktöre sahiptirler.^[111-113]

Temel fiziksel ve morfolojik kriterlere göre oral kavite altı ana ekosisteme (niş olarak da adlandırılabilir) ayrılabilir. Her bir niş farklı ekolojik belirleyicilere sahiptir, bu ekolojik belirleyiciler:

- a) İntraoral ve supraginigival sert yüzeyler (dişler, implantlar, restorasyonlar ve protezler)
- b) Periodontal ve peri-implant cepleri içeren sert yüzeylere komşu subgingival yüzeyler (kreviküler sıvı, sement veya implant yüzeyi ve cep epitelinin varlığıyla karakterizedir)
- c) Bukkal palatal epitel ve ağız tabanı epiteli
- d) Dilin dorsumu
- e) Tonsiller
- f) Tükürük'ten oluşur.

Sert ve yumuşak dokular olmak üzere ağız boşluğundaki tüm yüzeyler, pelikil olarak bilinen organik bir tabakayla kaplıdır. Diş yüzeylerindeki pelikil, keratinler, müsinler, prolin bakımından zengin proteinler, fosfoproteinler, histidinik proteinler ve bakteriler için adezyon molekülü olarak görev yapacak diğer moleküller dahil olmak üzere 180'den fazla peptit, protein ve glikoprotein içerir.^[114-116] Tükürük pelikili insan ağızında mine yüzeyi temizlendikten 1 dakika sonra tespit edilebilir.^[117] Diş yüzeyine yapışan bakteriler direk olarak mine ile temas etmeyip pelikil ile etkileşime girerler. Bununla birlikte, pelikil sadece pasif bir yapışma matriksi değildir. Pek çok protein pelikil içerisinde aktivitesini korur. Bunlardan bazıları (örneğin peroksidazlar, lizozim ve alfa amilaz) yapışan bakteri hücrelerinin fizyolojisini ve metabolizmasını etkileyebilirler.^{[118-}

İlk 4 ila 8 saat içerisinde streptokoklar baskın olma eğilimindedirler ve genellikle mevcut bakterilerin %20'sinden fazlasını oluştururlar.^[122-124] Aynı anda yaygın olarak bulunan diğer bakteriler, *Haemophilus* ve *Neisseria* gibi zorunlu anaeroplara, *Actinomyces* ve *Veillonella* türleri gibi fakültatif anaeroplardır.^[125] Bu türler, diş yüzeylerinin “primer kolonizerleri” olarak kabul edilirler. Birincil kolonizörler, diğer oral bakteriler tarafından bağlanma alanı sağlarlar. İlk kolonize olan bakterilerin metabolik aktivitesi, yerel mikro ortamı diğer bakterilerin dental plak biyofilminde hayatta kalma yeteneğini etkileyebilecek şekilde değiştirir.^[126]

Primer kolonizör bakterilerle sekonder kolonizör bakteriler arasında iyi bilinen etkileşimler içinde *F. nucleatum*’un *S. sanguinis* ile, *Prevotella loescheii*’in *A. oris* ile, ve *Capnocytophaga ochracea*’ın *A. oris* ile ko-agregasyonu yer alır.^[127-131] Streptokoklar intrajenik koagregasyon gösterirler. Bu durum hali hazırda bağlanmış olan streptokokların yeni oluşan tabakaya bağlanmasına izin verir.^[132-135] *P. intermedia*, *P. loescheii*, *Capnocytophaga* türleri, *F. nucleatum* ve *P. gingivalis* gibi ikincil kolonizörler başlangıçta temiz olan diş yüzeylerinde kolonize olamazlar, daha çok plak kütlesinde bulunan bakterilere yapışırlar.^[136] Erken supragingival dental plaktan, subgingival olgun plağa geçiş, mikrobiyal popülasyonda temel olarak gram pozitif organizmalardan yüksek sayıda gram negatif bakterilere geçişi içerir. Bu nedenle, plak oluşumunun sonraki aşamalarında, farklı gram negatif türler arasında koagregasyonun baskın olması muhtemeldir. Bu tür etkileşimlerin örnekleri, *F. nucleatum*’un *P. gingivalis* veya *T. denticola* ile birlikte koagregasyonudur.^[137-139] *F. nucleatum* ilk ve ikinci kolonizasyonlar arasında köprü görevi görmektedir.^[140]

Olgun dental plak 5 aşamada gelişir: ilk aşama dişlerin üzerinde pelikül oluşumu ile başlar; ikinci aşamada öncü bakteriler diş yüzeyine tutunurlar; üçüncü aşamada

bakteriler farklı mikrokoloniler oluşturur; dördüncü aşamada mikrobiyal artış ve ko-agregasyon ile mikrokoloniler gelişir; son aşamada ise olgun biyofilm oluşur.^[141]

Bir DNA hibridizasyon teknolojisi kullanılarak 40 subgingival mikroorganizmayı arayan 13000'den fazla plak örneğinin analizi, sağlık ve hastalıkta birlikte bulunma eğiliminde olan mikrobiyal kompleksleri tanımlamıştır. İlginç bir şekilde, erken kolonicileştiriciler tanımlanmış komplekslerden (*A. naeslundii*, *A. oris*), sarı (*Streptococcus* türleri), veya mor kompleks (*A. odontoliticus*) üyelerinden bağımsızdır. Esas olarak ikincil kolonizörler olarak kabul edilen mikroorganizmalar yeşil, turuncu ve kırmızı komplekslere dahildirler. Yeşil kompleks *Eikenella corrodens*, *A. actinomycetemcomitans* serotip a ve *Capnocytophaga* türlerini, turuncu kompleks, *Fusobacterium*, *Prevotella* ve *Campylobacter* türlerini içerir. Bu iki grup periodontal olan veya olmayan enfeksiyonlarda patojen olarak tanınan türleri içerir. Kırmızı kompleks *P. gingivalis*, *T. forsythia*, ve *T. denticola*'dan oluşur ve sondalamada kanama ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu durum biyofilm ortamındaki bakterilerin karşılıklı ilişkilerinin bir göstergesidir.^[142]

2.7.2. Periodontal Apse Mikrobiyatası

Pürülan oral enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyaldir ve kommensal bakterilerden kaynaklanırlar.^[143] Periodontal apselerle ilgili mikrobiyolojik raporlarda, gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilere, çubuklar ise büyük oranda zorunlu anaeroplara birlikte koklara göre baskındırlar.^[75, 85, 144]

Periodontal apse üzerine yapılan çalışmalarda apsenin mikrobiyolojisinin periodontopatojen bakterilerden ve diğer süper-enfeksiyon bakterilerden kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Periodontal apsenin mikrobiyal içeriğine yönelik çalışmalarda genellikle periodontitis etkeni olan mikroorganizmalar araştırılmıştır. Çoğu zaman

periodontal apse mikrobiyatası subgingival mikrobiyatadan ayırt edilemez durumdadır.^[85]

Kültüre dayalı veya moleküler tabanlı teknikler kullanılarak periodontal apselerde tanımlanan en yaygın bakteri türü *Porphyromonas gingivalis* 'tir ve prevalansı %50 ila %100 arasında değişmektedir.^[75, 85, 144-148] Tedavi sonrasında bu bakterinin tedavi öncesi apseli bölgelerde görülmemesi apse oluşumuyla yakından ilgili olduğunu düşündürmektedir.^[146]

Sıklıkla tespit edilen diğer zorunlu anaeroplarda *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Treponema* türleri, *Parvimonas micra*, *Actinomyces* türleri ve *Bifidobacterium* türleri yer alır. Fakültatif anaerobik gram negatifler arasında ise, *Campylobacter* türleri, *Capnocytophaga* türleri, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve ayrıca gram negatif enterik çubuklar bildirilmiştir.^[146, 147]

A.actinomycetemcomitans periodontal hastalıklarda sıklıkla rastlanan patojenlerden biridir. Ancak periodontal apse içeriğini inceleyen çalışmalarda *A. actinomycetemcomitans*'a hiç rastlanmayan çalışmalar da olmakla birlikte, yapılan bazı kültür çalışmalarında %25 ve %30 oranlarında *A. actinomycetemcomitans* tespit edilmiştir.^[144, 147, 149]

Periodontal apselerle birlikte periodontal cepleri bulunan periodontitis hastalarını karşılaştıran bir çalışmada, en dominant 10 bakterinin 8'inin aynı olduğu belirtilmiştir. *Porphyromonas*, *Treponema*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, ve *Tannerella* türlerinin periodontal cep ve periodontal apse grupları içeriğinin %61'ini oluşturduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte periodontal apseli hasta grubuyla periodontitisli hasta grubu arasında mikrobiyal içerik bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır.^[150]

Yine aynı çalışmada kontrol grubuyla periodontal apseli hasta grubu karşılaştırıldığında *P. gingivalis* W83, *Prevotella türleri*, *Prevotella intermedia*, *P. gingivalis* TDC60 ve *Prevotella heparinolytica* 'nın apse içeriğinde anlamlı olarak baskın olduğu bildirilmiştir.^[150] Bu duruma ek olarak kontrol grubunda ise *Streptococcus türleri*, *Actinomyces türleri*, *Lautropia türleri*, *Neisseria türleri*, *Veilonella türleri*, *Fusobacterium türleri*, *P. intermedia* ve *Bacteroides neonati* 'nin baskın olduğu belirlenmiştir. İlginç bir şekilde *P. intermedia* 'nın bazen apse grubundaki hastalarda, bazen kontrol grubundaki hastalarda baskın olduğu tespit edilmiştir.^[150] Diğer taraftan *P. intermedia* gibi proteinaz üretme kapasitesi olan bakteriler, kullanılabilir besin miktarını artırabildikleri için bakteri sayısının artmasına sebep olurlar.^[151, 152]

F. nucleatum gram negatif siyah pigmentli anaerop bir bakteridir ve dental enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilir. *F. nucleatum* Plaut-Vincent anjini, Ludwig anjini, gangrenöz stomatit, karaciğer ve beyin apseleri gibi ciddi klinik tablolara sebep olabilir. Periodontal apselerde bakteriyel kültür yöntemleriyle yapılan bir çalışmada, *F. nucleatum* en sık rastlanan patojen olarak belirtilmiştir.^[144] *F. nucleatum* 'un periodontal apselerde tespit edilmesi için farklı teknikler kullanılmıştır.^[75, 85, 146, 147, 153]

Periodontal apselerden değişik çalışmalarda farklı mikroorganizmalar izole edilmiştir. *T. forsythia* periodontal dokularda yıkıma sebep olan bakterilerden biridir ve farklı tekniklerle yapılan çalışmalarda periodontal apse içeriğinde değişik oranlarda izole edilmiştir.^[144, 147, 154, 155]

Gelişen teknikler ve yapılan yeni çalışmalarla birlikte daha önce periodontal apse içeriğinde rastlanmayan bakterilere rastlanmıştır. Herrera ve ark.'nın kültür tekniğiyle yaptıkları çalışmada *Parvimonas micra* (*Peptostreptococcus micros* veya *Micromonas micros* eski adıyla bilinen) ilk kez izole edilmiştir. Bu bakterinin periodontal apse içeriğinde değişik sıklıklarda tespit edildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur.^[144, 147]

Campylobacter rectus yine periodontal apse içeriğinde rastlanan bakterilerdendir ve farklı çalışmalarda farklı oranlarda bulunduğu belirtilmiştir.^[144, 146, 147]

D. pneumosintes'in, periodontitisli hastalarda yapılan bir PCR çalışmasında şüpheli periodontal patojen olarak sınıflandırılması önerilmiştir.^[156] *D. pneumosintes* periodontal apse içeriğinde düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bu bakterinin yıkıcı periodontal hastalıklardaki mikrobiyal komplekslerde önemli bir role sahip olabileceği düşünülmektedir.^[157]

Jaramillo ve ark.'nın yaptığı çalışmada periodontal apselerde kültürü takiben enzimatik ve biyokimyasal testlerle *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas türleri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter lwoffii* ve tam olarak tanımlanamayan non fermenter gram negatif rodler izole edilmiştir.^[147]

Yakın zamanda kültür yöntemiyle periodontal apse içeriğini belirlemeye yönelik yapılan bir tez çalışmasında, *S.mitis*, *S.gordonii*, *S.haemolyticus*, *S.constellatus*, *N.sicca*, *A.naeslundii* ve *S.pneumoniae* gibi yeni türlerin periodontal apse içeriğinde saptandığı bildirilmiştir.^[158]

2.8. Periodontal Apselerin Bakteriye İçeriğini Belirleme Yöntemleri

2.8.1 Faz Kontrast ve Karanlık Alan Mikroskopisi

Karanlık alan mikroskobu kullanımı ve subgingival mikrobiyaya hücrelerinin morfolojik kriterleri kullanılarak sınıflandırılmasıyla insan periodonsiyumundaki sağlıklı ve hastalıklı bölgelerin arasında belirgin farklılıklar görülebilir.^[159] Kombine bir klinik-bakteriyolojik histolojik çalışmada Listgarten ve ark.^[160] sondalama sırasında kanayan derin periodontal ceplerin spiroketlerin baskın olduğu bir subgingival plak ile ilişkili olduğunu, sık cepler ile karakterize dişeti lezyonlarında ise kokoid hücrelerin baskın olduğu bir subgingival flora olduğunu göstermişlerdir.^[160]

Karanlık alan mikroskopisi bakteri türlerinin ayırt edilmesi konusunda yetersizdir. Bu nedenle periodontal patojenlerin tanınması açısından doğru bir teknik değildir. Ancak karanlık alan mikroskopisi, subgingival plakta koronalden apikale değişen morfolojiyi gösterebilmektedir.^[161]

2.8.2. Bakteriyel Kültür Yöntemi

Tarihsel olarak kültür yöntemleri subgingival mikrofloranın kompozisyonunu karakterize etmeyi amaçlayan çalışmalarda yaygın olarak kullanılmıştır ve periodontolojide yeni bir mikrobiyal teşhisin etkinliğini belirlemede referans yöntem olarak kullanılmaktadır. Genel olarak subgingival plak numuneleri anaerobik olarak yetiştirilir ve seçici ve seçici olamayan ortamlar kullanılarak, çeşitli biyokimyasal ve fiziksel testlerle birlikte, farklı varsayılan patojenler tanımlanabilir. Bu yöntemin temel avantajı ekilmiş türlerin görelî ve mutlak sayılarını elde etme olanağıdır. Dahası uygun yeni türleri karakterize edebilen ve büyüyen bakterilerin antibiyotik duyarlılığını değerlendirebilen tek yöntemdir.^[162-165]

Bununla birlikte, kültür tekniklerinin önemli eksikleri vardır. Kültür yöntemleri yalnızca canlı bakterileri yetiştirebilir, bu durum numune alma ve taşımada zorlukları beraberinde getirir. Dahası, *Treponema* türleri gibi patojen olduğu varsayılan bazı bakterilerin kültüre edilmesi oldukça zordur.^[166] Bakteriyel kültür tekniğinin duyarlılığı, özellikle seçici olmayan ortamlar için, ortalama 10³-10⁴ bakteri hücrelerini belirleme limitleriyle oldukça düşük olabilir ve bu nedenle subgingival örneklerdeki az sayıda olan bakteriler tespit edilemeyecektir. Ayrıca en önemli dezavantajı, zaman alıcı ve pahalı olmasının yanında özel laboratuvar ekipmanı ve deneyimli personel gerektirmesidir.^[167]

2.8.3. Enzim Aktivite Testleri

T. forsythia, *P. gingivalis*, küçük bir spiroket olan *T. denticola* ve *Capnocytophaga* türleri ortak bir enzimatik profil paylaşırlar, çünkü hepsinin tripsin benzeri bir enzimi

ortaktır. Bu enzimin aktivitesi, renksiz substrat N-benzoil-DL-arjinin-2-naftilamid'in (BANA) hidrolizi ile ölçülebilir. Plak örneklerinde bakteriyel profilin tanımlanması için bu reaksiyon kullanılarak bir tanısal kit geliştirilmiştir (Perioscans, Oral B Laboratuvarları, Belmont, CA, ABD Loesche)^[168]. BANA reaksiyonuna maruz kalmayan örneklerin, bu periodontal patojenlerden herhangi birinin varlığını tespit etmek için kullanımını önermiştir ve bu nedenle, bir hastalık aktivitesi belirteci olarak hizmet etmektedir. Derin ceplerin (7mm) %80-90 pozitif BANA reaksiyonları sergilerken sığ ceplerin sadece %10'unun pozitif BANA reaksiyonu gösterdiği bildirilmiştir.^[167]

Bu teknikle hasta başı hızlı kullanım olanağı olması avantaj olmakla birlikte, sadece birkaç patojeni belirleyebilmesi sebebiyle diğer patojenleri ve henüz tespit edilmemiş muhtemel patojenlerin varlığını belirlemekte yetersizdir. Bilinen türleri de birbirinden ayırt edemeyebilir ve bunun yanında BANA testiyle saptanan tripsin benzeri aktivite konak tarafından da oluşturulabilir.^[169]

2.8.4. İmmünolojik Testler ve Nükleik Asit Probe Testleri

Bakteriyel patojenlerin saptanmasını amaçlayan moleküler biyoloji düzeyinde tekniklerin gelişmesi, mikrobiyal genetik bilgilerin elde edilmesinin yanında tanısal tekniklerin gelişimi için de temel oluşturmuştur.^[170, 171] İmmünolojik testler veya nükleik asit problemleri, değişik kombinasyonlarla kullanılabilir. Bu testler arasında immünofloresans mikroskopisi, membran immünotest ve lateks aglütinasyon testleri bulunur. Membran immünotest ve lateks aglütinasyon testleri klinikte uygulanıp hızlı sonuç alınabilen testlerdir.^[172-176]

Bir prob, özel bir mikroorganizmadan elde edilen, bilinen bir nükleik asit molekülüdür (DNA veya RNA), yapay olarak sentezlenmiş ve bir plak örneğiyle birlikte yerleştirildiğinde mikroorganizmanın tespiti için etiketlenmiştir. DNA problemleri, tamamlayıcı nükleik asit sekanslarına hibridize olabilen ve böylece hedef

mikroorganizmanın bir enzim veya radyoizotop ile etiketlenmiş tek sarmallı bir nükleik asit segmentini içerir.^[168, 177-179]

2.8.5. Checkerboard DNA-DNA Hibridizasyon Tekniği

Socransky ve arkadaşları, ağız boşluğunda yaygın olarak bulunan 40 bakteri türünün tespiti ve seviyeleri için bu tekniği geliştirmiştir. Test tam genomik, digoksisijenin etiketli DNA problemlerini kullanır ve tek bir test 40 oral türe kadar çoklu hibridizasyona bağlı olarak çok sayıda plak örneğinin hızlıca işlenmesini kolaylaştırır. Bu teknolojiye kullanılan DNA problemleri, genellikle her türden 10^4 hücrenin saptanmasına izin verecek şekilde ayarlanır, ancak 10^3 hücreyi saptayacak şekilde de ayarlanabilir. Yöntem sofistike laboratuvar ekipmanı, uzmanlık gerektirir ve son derece spesifiktir. Bu faktörler teşhis amaçlı bu tekniğin yaygınlaşmasına neden olmuştur. Bununla birlikte, canlı bakteri gerektirmediğinden, ve çok sayıda plak örneğinin ve çok çeşitli türlerin değerlendirilmesine izin verdiğinden, epidemiyolojik araştırmalar ve ekolojik çalışmalarda özellikle kullanılabilir.^[180-186]

2.8.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, genlerin ve bunların RNA transkriptlerinin amplifikasyonu için kullanılan en güçlü araç olarak ortaya çıkmıştır. Kary Mullis tarafından 1985'te geliştirilen bu teknik, çeşitli dokulardan elde edilen DNA ve RNA'yı incelemek için neredeyse evrensel olarak kullanılan tek tekniktir. PCR basit bir şekilde yüksek miktarda DNA elde edilmesini sağlar.^[177, 187-189] PCR ile tek bir mikroorganizma tespit edilebilir, mikrobiyolojik yöntemler değerlendirildiğinde en yüksek hassasiyete sahip olduğu görülebilir.^[190]

DNA segmentlerinin polimeraz zincir reaksiyonu tespitinin anahtarı, genellikle 18-28 baz uzunluğunda sentetik oligonükleotidler olan iki DNA primerinin seçimidir. Bu primerler amplifiye edilecek DNA bölgesine göre seçilirler. Primerler çift sarmallı DNA

içeren bir çözeltiye eklenirler.^[190] PCR tipik olarak DNA'nın taze bir doku örneğinden izolasyonu ile başlar. Isıtma yoluyla, DNA'nın tamamlayıcı çift sarmalları, *in vitro* nükleotid dizisini dikte eden şablon görevi görmesi amaçlanan tek sarmallı biçimlere ayrılırlar. Daha sonra amplifikasyon, primer gerektiren DNA polimeraz veya amplifiye edilen bölgenin sınırına karşılık gelen bilinen kısa oligonükleotid sekansı kullanılarak takip edilir. Sabit uzunlukta ve yüksek miktarlarda büyütülmüş fragmanlar elde etmek amacıyla, şablonu bağlamak ve ilgilenilen bölgeyi kuşatmak için karşıt zincire tamamlayıcı ikinci bir primer kullanılmalıdır. Bu amplifikasyon döngüler halinde birkaç kez gerçekleştirilebilir. Her döngüde, tamamlayıcı zincirlerin denatürasyonu, primer hibridizasyonu ve polimeraz vasıtasıyla primer uzatma işlemleri yer alır. Her seferinde DNA miktarında üstel bir artış olur. Tüm bu işlemler sırasında, çift zincirli DNA denatürasyonu ve model parçası ile primer arasındaki hibridizasyonun stabilitesini kontrol etmek için döngü sırasındaki sıcaklık kritiktir. 1988'de, *Thermus aquaticus* organizmasından izole edilen ve Taq polimeraz olarak bilinen, termostabil bir DNA polimeraz^[170], termo-döngüleyiciler adı verilen özel cihazlar kullanılarak reaksiyonun otomatikleştirilmesine izin vermiştir. Bu dizilenmiş DNA tespit edilir, agaroz jel ve etidyum bromürde elektroforez yoluyla görselleştirilerek kalitatif bir sinyal elde edilir.^[189, 191]

PCR yönteminin gelişmesiyle birlikte, çeşitli DNA izolasyon yöntemleri kullanılarak *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, ve *Tannerella forsythia*'nın saptanması için çeşitli mikrobiyolojik testler geliştirilmiştir. PCR veya kültür yöntemleri kullanılarak periodontitisli hastalardan alınan plak örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis*'in tespiti karşılaştırılmış ve PCR tekniğinin hedef patojenleri saptamada daha başarılı olduğu görülmüştür.^[192] Morillo ve arkadaşları, tek kopya gen sekansına ve SYBR Green I

kimyasına dayanan, subgingival plak örneklerinde *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis*'in miktarının belirlenmesini amaçlayan bir real time PCR testini denemişler. Bu teknik, bu patojenik türleri ölçmek için yüksek derecede özgüllük, çok tekrarlanabilir ve tutarlı bir yöntem göstermiştir, ancak pahalı laboratuvar ekipmanı gerektirmektedir.^[193]

2.8.6.1. PCR'da Kullanılan Temel Bileşenler

PCR yöntemi basit reaksiyonların tekrarlayan döngüleri sayesinde DNA'nın *in vitro* replikasyonuna dayanır. PCR'da kullanılacak temel bileşenler, amplifiye edilecek hedef DNA, hedef DNA'nın bilinen sekanslarını tamamlayan tek iplikli oligonükleotidler (primerler), fazla miktarda dört deoksiribonükleosit trifosfat (dNTP'ler) ve ısıya dayanıklı bir DNA polimerazdır. DNA polimeraz olarak en sık *Thermus aquasticus* bakterisinden izole edilen Taq DNA polimeraz kullanılır. Amplifikasyon reaksiyonları için özel DNA termocycler kullanılır.^[194] MgCl₂ PCR reaksiyonlarının özgüllüğü ve verimi üzerinde etkilidir, Mg⁺² iyonları dNTP'ler ile çözülebilir kompleksler oluştururlar ve polimeraz aktivitesini uyarırlar. Mg⁺² iyon konsantrasyonunun düşük olması ürün oluşumunda azalmaya, yüksek olması ise spesifik olmayan ürün birikimine neden olur.^[195]

2.8.6.2. PCR Oluşum Mekanizması

PCR tipik olarak DNA'nın taze bir doku örneğinden izolasyonu ile başlar. Isıtma yoluyla, DNA'nın tamamlayıcı çift sarmalları *in vitro* nükleotid dizisini dikte eden şablon görevi görmesi amaçlanan tek sarmallı biçimlere ayrılır. Daha sonra amplifikasyon primer gerektiren bir DNA polimeraz veya büyütülen bölgenin sınırına karşılık gelen bilinen kısa oligonükleotid sekansı kullanılarak takip edilir. Sabit uzunlukta ve yüksek miktarlarda genişletilmiş fragmanlar elde etmek için, şablonu bağlamak ve ilgilenilen bölgeyi sabitlemek için karşıt zinciri tamamlayıcı ikinci bir primer kullanılmalıdır. Bu

işlem döngü şeklinde birkaç kez tekrar edilebilir. Her döngüde, tamamlayıcı zincirlerin denaturasyonu, primer hibridizasyonu ve polimeraz aracılığıyla primer uzatma işlemleri yer alır. Her seferinde DNA miktarında üstel bir artış olur. Tüm bu işlemler sırasında, çift zincirli DNA denaturasyonu ve model parçası ile primer arasındaki hibridizasyonun stabilitesini kontrol etmek için döngü sırasındaki sıcaklık kritiktir.^[189, 191]

Reaksiyon çift sarmallı DNA'da hedef bölgeyi içeren iki oligonükleotid primerinin bağlanmasına ve uzatılmasına dayanır. DNA'nın denaturasyonundan sonra, her bir primer, her bir 3' hidroksil ucundan gelen uzantı diğerine doğru yönlendirilecek şekilde iki ayrılmış sarmaldan birbirine hibridize olur. Bağlanmış primerler daha sonra bir DNA polimeraz ile şablon şerit üzerinde uzatılır. Bu üç adım (denaturasyon, primer bağlama ve DNA sentezi) PCR döngüsünün basamaklarını teşkil eder. Her adım ayrı bir sıcaklıkta gerçekleşmesine rağmen denaturasyon ve primer bağlama sıcaklıkları arasındaki bir reaksiyon genellikle kısa PCR ürünlerinin büyümesi için polimeraz aktivitesine yeterli süre sağlar. Yeni sentezlenen parça, diğer primeri tamamlayıcı bölgeye veya ötesine uzanırsa, sonraki primer uzatma reaksiyonları için bir primer bağlama bölgesi ve şablon olarak hizmet edebilir. Sonuç olarak tekrarlanan denaturasyon döngüleri, primer bağlama ve primer uzatma işlemleri, uçları primerlerin 5' uçları ile tanımlanan ayrı bir parçanın üstel birikimiyle sonuçlanır. PCR sırasında üretilen ürünlerin uzunluğu, primerler arasındaki hedef DNA'nın uzunluğu ve iki primerin uzunlukları toplamına eşittir. PCR çift veya tek sarmallı DNA'yı amplifiye edebilir ve RNA'nın bir cDNA kopyasına ters transkripsiyonu ile RNA aynı zamanda bir hedef olarak hizmet edebilir.^[196-198]

Tipik olarak yaklaşık 30 tam döngüden geçen reaksiyondaki adımlar ilerledikçe, primerler ve deoksiribonükleosit trifosfatlar giderek azalır ve yeni DNA ipliklerinin sayısı artar.^[194] Uzama aşamasında DNA zincirleri üzerine yapışan primerler Taq DNA

polimeraz enzimiyle uzatılırlar. Bu enzim için optimum sıcaklık 72 santigrat derece olduğu için genellikle çoğaltma işlemlerinde bu sıcaklık kullanılır.^[198] PCR ürünleri etidyum bromürde boyandıktan sonra izlenebilir.^[199]

2.8.6.3. PCR Çeşitleri

PCR tek bir DNA kopyasını bile tespit edebilen oldukça hassas bir yöntem olmakla birlikte, tekniğin bazı sınırlamaları mevcuttur.^[200] PCR için gerekli bileşenler yeterli hedef üretilmeden tükenebilir. Bu nedenle küçük miktarlarda DNA tespitinde sorunlarla karşılaşılabilir. Reaksiyonun özgüllüğü, oligonükleotid primer boyutu, bağlanma sıcaklığı, tampon tuz konsantrasyonu gibi birbiriyle ilişkili pek çok faktöre bağlıdır. PCR'ın en önemli sınırlamalarından biri sürecin kontaminasyona duyarlılığıdır.^[171, 191] Bu problemlerin bazılarını aşabilmek amacıyla değişik PCR teknikleri geliştirilmiştir. Gerekli primerlerin tamamını tek bir reaksiyona yerleştirerek aynı anda birkaç hedef bölgenin çoğaltılmasını sağlayan Multiplex PCR bu tekniklerden biridir.^[201-203]

Nested PCR (nPCR) tekniği, PCR teknolojisinin bir modifikasyonudur. Bu teknikte, bir DNA sekansının bir primer seti ile amplifikasyonunun ardından, birinci PCR ürünleri içerisindeki daha küçük spesifik sekansları tamamlayan ikinci bir primer seti ile yeniden amplifikasyonu sağlanır. nPCR, tek PCR ile karşılaştırıldığında artmış duyarlılık ve gelişmiş özgüllük gösterebilir. nPCR tekniğinde yüksek oranlarda hatalı pozitif sonuç riski vardır, bu durumdan kaçınmak için özel stratejiler uygulanmalıdır.^[204, 205]

PCR testlerinin çoğu kalitatif veya yarı kalitatifdir. Bunun bir istisnası, reaksiyon boyunca ürünlerin sürekli olarak ölçülmesiyle karakterize edilen real-time PCR yöntemidir. Bu yöntemde genellikle floresans rezonans enerji saptamasıyla ilişkili sekansa özgü probler kullanılır. Her PCR döngüsünde floresan salınımı izlenerek, reaksiyonun ilerlemesi gerçek zamanlı olarak kaydedilir ve numunedeki DNA miktarı

ölçülebilir. Real time PCR testleri tek tek hedef türleri belirlemenin yanında toplam bakteri miktarının da belirlenmesine olanak tanır ve birkaç dakika içinde bakteriler tespit edilebilir.^[204, 206, 207] SYBR-Green testi real time PCR için en basit ve hesaplı yöntemdir. Bu yöntem oldukça duyarlıdır, ancak herhangi bir çift sarmallı DNA da floresan oluşturabileceği için çok spesifik değildir. Taq polimerazın 5'→3' eksonükleaz aktivitesinin kullanımı sayesinde TaqMan yöntemi daha spesifiktir.^[208, 209] Moleküler beacon yönteminde, moleküler işaretleyiciler spesifik özelliklerini vermek için birleşen gövde ve halka yapısına sahip tek sarmallı nükleik asit molekülleridir. Halka kısmı, bir hedef nükleik asitte önceden belirlenmiş bir diziye tamamlayıcıdır. Gövde ise her sekans sırasında probun her iki tarafında bulunan birbirini tamamlayan kol sekanslarının bağlanmasıyla oluşturulur. Bir floresan kısım kovalent olarak bir kolun ucuna ve bir söndürme kısmı da diğer kolun ucuna bağlanır.^[210]

Real time PCR TaqMan yöntemi daha önce subgingival plakta *T. forsythensis* miktarı belirlemede ve *P. gingivalis*'in hem yoğunluğunu hem de miktarını belirlemede kullanılmıştır.^[211, 212] SBYR Green dye ve Light Cycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) PCR yöntemleri subgingival plak ve tükürük örneklerinde ilk olarak *A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *T.socranskii* gibi periodontal patojenlerin miktarını ve varlığını tespit etmek için kullanılmıştır.^[213]

Bu çalışmalar ışığında konak direncinde ve subgingival mikrobiyatadaki değişikliklerin periodontal apse oluşumunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taramalarında periodontal apse içeriğine yönelik yapılan çalışmaların yetersiz olduğu görülmektedir. Periodontitsli hastalarda moleküler tekniklerle yapılan bir çalışmada periodontitisle ilişkili yeni türlerin tanımlanması,^[25] periodontal apse içeriğinde de yeni patojenlere rastlanabileceğini düşündürmektedir. Bu durum periodontal apse içeriğinin moleküler yöntemlerle incelenmesini zorunlu kılmaktadır.

Buradan yola çıkarak bu çalışmada daha önce kültür yardımıyla periodontal apselerde ilk kez tespit edilen bakterilerin yanı sıra,^[158] periodontal apse oluşmasının nedeni olarak kabul edilmiş olan periodontitis etkeni bakteriler ve son dönemde periodontal hastalık etkeni olabileceği sürülen yeni bakteri türlerinin periodontal apse örneklerinde total bakteriler arasındaki mevcudiyeti ve yoğunluğunun Real Time PCR ile kantitatif olarak belirlenmesi amaçlanmaktadır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı'na, ilgili dental bölgedeki dişetinde lokalize ağrı, şişlik ve hassasiyet şikayeti ile tedavi için başvuran, sondalamada kanama ve süpürasyonu olup periodontal apse teşhisi konan 30 gönüllü birey dahil edildi.



Şekil 3.1. Periodontal apsenin sondalama görüntüsü

Hasta seçiminde;

- Sistemik olarak sağlıklı olması (diyabet, tümör, AIDS, böbrek veya karaciğer hastalıkları, gastrointestinal problemleri olmayan periodontal apseli hastalar),
- 18 yaş üzeri olması,
- Gebelik ve laktasyon bulunmaması,
- Son üç ay içinde herhangi bir antibiyotik veya antienflamatuar ilaç kullanmamış olması,

- Son altı ay içinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olması,^[214]
- Rutin muayene sonucunda radyografik muayene ve vitalite testlerini temel alan endodontal apse teşhisi konulmamış olması kriterleri arandı.

Çalışmamız için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 26.09.2019 tarih ve 06/28 numara ile onay alındı. Hasta seçim kriterlerine uyan hastalardan tedaviye başlamadan önce ‘Bilgilendirilmiş Onam Formu’ alındı. Apse örneklerinde farklı bakteri içeriklerinin olası mevcudiyetinin ve yoğunluklarının apsenin şiddeti üzerine etkisini araştırmak maksadı ile de bazı periodontal indeksler (Sondalanabilir Cep Derinliği, Diş mobilitesi, Ataşaman seviyesi) her bir bireyde belirlendi.

3.2. Periodontal Apse Örneklerinin Alınması

Periodontal apse örneği alınacak bölge pamuk rulolar ile izole edilerek, supragingival ve muhtemel bu bölgede olabilecek subgingival plak uzaklaştırıldı. Ardından supragingival alan klorheksidin veya povidon iyot ile dezenfekte edildi. Nazik subgingival enstrümantasyon yapılarak veya yapılmasına ihtiyaç olmadan, pus periodontal cebin ağzından çıkana kadar apse dış duvarına hafif basınç uygulandı ve cebin en derin kısmına doğru steril paper pointler yerleştirilip 10 saniye emdirildi.^[214] Örnekler steril bir presel ile tutulan steril emici paper point ile toplanıp, içerisinde steril PBS (Phosphate Buffer Saline PH: 7.2) içeren 2mL’lik eppendorf deney tüplerine konularak, genomik DNA izolasyonuna başlanıncaya kadar +4°C’de saklandı. Alınan örnekler mümkün oldukça taze olarak çalışıldı.



Şekil 3.2. Paper point ile periodontal apse örneği alınması

3.3. Periodontal Apse Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

Toplanan Periodontal Apse örneklerinden genomik DNA izolasyonu için Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, A1120) sistemi kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre aşağıdaki gibi yapıldı:

Paper point ile toplanan ve içerisinde steril PBS (phosphate buffer saline PH: 7.2) bulunan 2mL'lik eppendorf deney tüpündeki örnek 13,000–16,000 g'de 2 dakika santrifüj edilip süpernatant kısmı atılarak, çöken pelet ile işleme devam edildi.

1. Hücreler 480µL 50mM EDTA içerisinde süspanse edilerek ve 120 µL lizozim (lysozyme, 10mg/mL) (Sigma Cat.# L4919) eklenip 30-60 dakika 37 °C su banyosunda inkübe edildi.

2. Su banyosundan alınan örnekler 13.000–16.000 g'de 2 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırılarak, Nuclei Lisis Solüsyonundan 600µL eklenip pipet ile yavaşça karıştırıldı.
3. Örnekler 80 °C'de 5 dakika inkübe edilip sonrasında oda sıcaklığına gelene kadar beklendi. Ardından 3µL RNaz Solüsyonu eklenip karıştırıldıktan sonra 15-60 dakika 37 °C'de inkübe edilip oda sıcaklığına gelinceye kadar beklendi.
4. Örneklerdeki proteinleri uzaklaştırmak için 200µL Protein Precipitation Solüsyonu eklendi ve vortekslendi. Buz üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra 3 dakika boyunca 13.000–16.000 g'de santrifüjlendi. Proteinler çöktü ve kalan süpernatant genomik DNA'yı içermekteydi.
5. Oda sıcaklığında 600µL izopropanol içeren temiz bir tüpe süpernatant eklenerek genomik DNA çöktürüldü ve genomik DNA bulutumsu şekilde gözlemlendi.
6. 13.000 g'de 2 dakika santrifüj sonrası genomik DNA pelet olarak çöktürüldü. Süpernatant uzaklaştırılıp pelet üzerine oda sıcaklığındaki % 70'lik etanolden 600µL eklenip 13.000 g'de 2 dakika santrifüj yapılarak yıkama işlemi gerçekleştirildi.
7. Etanol aspire edilerek geriye kalan pelet 10-15 dakika hava ile kurutuldu.
8. DNA peletinin üzerine 100 µL DNA Rehidrasyon Solüsyonu eklenerek 1 saat 65 °C'de veya gece boyunca 4 ° C'de genomik DNA çözöldü.
9. Genomik DNA'nın saflığı ve sağlamlığı agaroz (%1'lik) jel elektroforezi ile kontrol edildi. İzole edilen genomik DNA'nın konsantrasyonu ve saflık derecesi nanodrop cihazı (Thermo Scientific Multiscan GO) kullanılarak spektroskopik olarak belirlendi.
10. İzolasyonu yapılan genomik DNA örnekleri 2-4 °C'de muhafaza edildi.^[215]

3.4. Periodontal Apse İçerisindeki Kantitatif Bakteri Miktarı Tayini İçin SYBR Green Real Time PCR (qPCR) Uygulaması

Periodontal apse örneklerinde Tablo 3.1’de belirtilen bakterilerin kantitatif miktarının belirlenmesi amacıyla SYBR Green Real Time PCR (qPCR) yöntemi kullanıldı. İzole edilen genomik DNA’nın konsantrasyonu ve saflık derecesi nanodrop cihazı (Therma Scientific Multiscan GO) kullanılarak spektroskopik olarak belirlendi. Her bir örneğin konsantrasyonu 50 ng/ μ L olacak şekilde ayarlandı. qPCR reaksiyon karışımına; 2 μ L Genomik DNA, her bir primerden 0,5 μ M, Syber Green master miksten 12,5 μ L eklenerek ve nükleaz free su ile toplam hacim 20 μ L’ye tamamlandı ve Tablo 3.2’deki PCR protokolü takip edildi.^[216, 217] Toplam bakteri yükünü ve prevalansını ölçmek için 16S rRNA genine spesifik evrensel (Universal) primerler kullanıldı. Negatif kontrol olarak reaksiyon karışımına örneklerden elde edilen genomik DNA yerine steril su konuldu. Tüm ölçümler 3 tekrar olacak şekilde yapıldı.^[218]

DNA izolasyonu ve PCR işlemleri sırasında;

- DNA izolasyon kiti (Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, A1120))
- LB agar
- LB broth
- Lizozim
- 50mM EDTA
- İzopropanol
- Etanol
- SYBR Green Master Mix kullanıldı.



Şekil 3.3. Periodontal apse içeriğinin incelendiği PCR cihazı



Şekil 3.4. *E.coli* 'nin optik dansitesinin belirlendiği spektrofotometre cihazı



Şekil 3.5. Periodontal apse örneklerinden izole edilen DNA konsantrasyonlarının ölçüldüğü nanodrop cihazı



Şekil 3.6. İşlemlerde kullanılan santrifüj cihazı



Şekil 3.7. Kullanılan primerlerin santrifüj cihazında görüntüsü

Tablo 3.1. Periodontal apse örneklerinde kantitatif miktarına bakılacak bakteriler için primer listesi

NO	Bakteri	Real Time PCR için Primerler	Referans
1	<i>Tannerella forsythia</i>	F 5'- GCGTATGTAACCTGCCCCGCA -3' R 5'- TGCTTCAGTGTCTAGTTATACCT-3'	(Sakamoto et al., 2001) ^[219]
2	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	F 5'- CTTGACTTCAGTGGCGGCAG -3' R 5'- AGGGAAGACGGTTTTTCACCA -3'	(Maeda et al., 2003) ^[220]
3	<i>Treponema denticola</i>	F 5'- AGAGAAAGGGTAATTTGAAG -3' R 5'- TATTATTGTCCTTCTTTCTT -3'	(Orrù et al., 2006) ^[221]
4	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	F 5'-CTAGGTATTGCGAAACAATTTG-3' R 5'- CCTGAAATTAAGCTGGTAATC -3'	(Goncharoff et al., 1993) ^[222]
5	<i>Prevotella intermedia</i>	F 5'- AATACCCGATGTTGTCCACA -3' R 5'- TTAGCCGGTCCTTATTCGAA -3'	(Maeda et al., 2003) ^[220]
6	<i>Prevotella nigrescens</i>	F 5'- TTCCGTCGTACCAACCAAAAAC-3' R 5'- CTAAAAGATTTCGCCCAAGTGCT-3'	(Park et al., 2013) ^[223]
7	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	F 5'-CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT-3' R 5'-TGGTCCTCACTGATTCACACAGA-3'	(Suzuki et al., 2004b) ^[224]

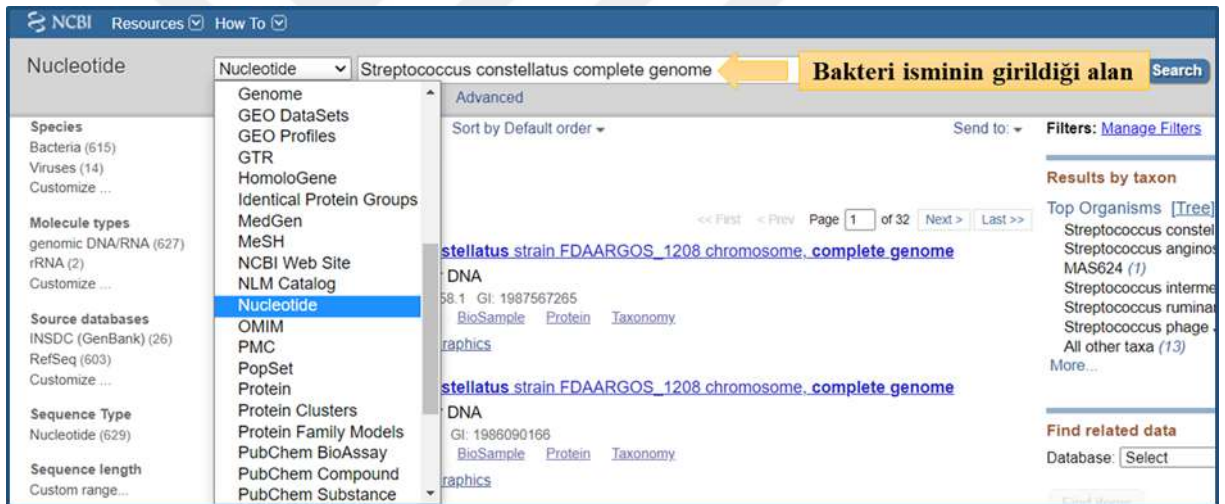
Tablo 3.1. (Devamı)

8	<i>Campylobacter rectus</i>	F	5'- AGCTATCATCGCCGAGCTAA -3'	(Chaban et al., 2009) ^[225]
		R	5'- TGAATGGATTTTGCCTCCTC -3'	
9	<i>Parvimonas micra</i> (<i>Peptostreptococcus micros</i>)	F	5'- TCGAACGTGATTTTGTGGAAA-3	(Price et al., 2007) ^[226]
		R	5'-GGTAGGTTGCTCACGTGTTACTCA-3'	
10	<i>Dialister pneumosintes</i>	F	5'- TTCTAAGCATCGCATGGTGC -3'	(Slots et al., 1995) ^[227]
		R	5'- GATTTTCGCTTCTCTTTGTTG -3'	
11	<i>Filifactor alocis</i>	F	5'-CAGGTGGTTTAACAAGTTAGTGG-3'	(Siqueira Jr and Rôças, 2004) ^[228]
		R	5'-CTAAGTTGTCCTTAGCTGTCTCG -3'	
12	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	F	5' -GCTGCAGCTCAACTGTAGTCT TG-3'	(Martin et al., 2002) ^[229]
		R	5'- TCAGTGTCTCAGACGGAGCCTAGTAC -3'	
13	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	F	5'- AGCGATAGCTTTCTCCAAGTGG -3'	(Greiner et al., 2001) ^[230]
		R	5'- CTTAGCCAACAAATCGTTTACCG -3'	
14	<i>Streptococcus mitis</i>	F	5'- AAGGAGGAGCTTGCTTCTCT -3'	(Wolff et al., 2010) ^[231]
		R	5'- ACCTTTCAAACAGTTATCATGC-3'	
15	<i>Streptococcus gordonii</i>	F	5'- GGTGTTGTTTGACCCGTTTACAG -3'	(Suzuki et al., 2004a) ^[232]
		R	5'- AGTCCATCCCACGAGCACAG -3'	
16	<i>Neisseria sicca</i>	F	5'- TTTCTTCAACGGTCTTCAGG -3'	
		R	5'- GGCAGCAATGTTTATTTGGT -3'	
17	<i>Actinomyces naeslundii</i>	F	5'- CAACGTCGAGGAGATCCAGG -3'	(Kommerein et al., 2017) ^[233]
		R	5'- TATTGAGGACCACCTTGCGC -3'	
18	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	F	5'- TATGCATGATGGTTTAACAGATG -3'	(Kilic and Basustaoglu, 2011) ^[234]
		R	5'- GAACTCATCTTGCAATTCAC -3'	
19	<i>Morococcus cerebrosus</i>	F	5'- GTAGGTGGTTCAACGGCAAA -3'	(Park et al., 2013) ^[223]
		R	5'- TCGCGGATTTGCAACTAAAT -3'	
20	<i>Streptococcus constellatus</i>	F	5'- TAAACGACCAATCTCCCACA -3'	
		R	5'- ATCGCAAAGAGCACAAGAAA -3'	
21	<i>Propionibacterium acnes</i>	F	5'-GACATGGATCGGGAGTGCTC-3'	(Fujii et al., 2018) ^[235]
		R	5'-CATAACGTGCTGGCAACAGTG-3'	
22	16S rRNA spesifik evrensel primer (Universal)	F	5'-ACTACGTGCCAGCAGCC-3'	(Png et al., 2010) ^[236]
		R	5'-GGACTACCAGGGTATCTAATC-3'C	

* Literatür verilmemiş primerler grubumuz tarafından dizayn edilmiştir.

3.5. Primer Dizaynı

Tez kapsamında Tablo 3.1’de bliertilen periodontal apse örnekleri içeriğindeki bakterilerin kantitatif miktarını belirlemek için 19 bakteri türüne ait primerler, literatürden bulunurken *Neisseria sicca* ve *Streptococcus constellatus* bakteri türleri için <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/> programı kullanılarak primerler dizayn edildi. İlk önce ilgili bakterilere ait genom baz dizilerine ulaşmak için National Center for Biotechnology Information (NCBI) databazı kullanıldı. Şekil 3.8’de gösterildiği gibi NCBI ana sayfasında (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) “All databases” bölümünden “Nucleotide” seçilerek arama motoruna bakteri türünün ismi ya da ID numarası girilerek arama yapıldı ve ilgili bakterilerin genom dizilimine ulaşıldı (Şekil 3.9, Şekil 3.10).



Şekil 3.8. Primer dizaynının yapılacağı bakteri türünün genom bilgisine ulaşmak için kullanılan NCBI anasayfasının görüntüsü

Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050, complete genome	
GenBank: CP003859.1	
FASTA	Graphics
Go to: 	
LOCUS	CP003859 1991156 bp DNA circular BCT 07-MAR-2014
DEFINITION	Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050, complete genome.
ACCESSION	CP003859
VERSION	CP003859.1
DBLINK	BioProject: PRJNA50421 BioSample: SAMN02603661
KEYWORDS	.
SOURCE	Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050
ORGANISM	Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050 Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Streptococcaceae; Streptococcus; Streptococcus anginosus group.
REFERENCE	1 (bases 1 to 1991156)
AUTHORS	Olson,A.B., Kent,H., Sibley,C.D., Grinwis,M.E., Mabon,P., Ouellette,C., Tyson,S., Graham,M., Tyler,S.D., Van Domselaar,G., Surette,M.G. and Corbett,C.R.
TITLE	Phylogenetic relationship and virulence inference of Streptococcus Anginosus Group: curated annotation and whole-genome comparative analysis support distinct species designation
JOURNAL	BMC Genomics 14, 895 (2013)
PUBMED	24341328
REMARK	Publication Status: Online-Only
REFERENCE	2 (bases 1 to 1991156)
AUTHORS	Olson,A.B., Kent,H., Sibley,C.D., Grinwis,M.E., Mabon,P., Ouellette,C., Tyson,S., Graham,M., Tyler,S.D., Van Domselaar,G., Surette,M.G. and Corbett,C.R.

Şekil 3.9. İlgili bakterinin genom dizisine ulaşmak için bağlantı linkinin verildiği NCBI sayfasının görüntüsü

Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050, complete genome

GenBank: CP003859.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>CP003859.1 Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050, complete genome
GTTAATTTTATTTTTAACTCACAGGATTATCCACTATTATTTTATAAGAAAATCTTGATAAATCACAG
GAAAATTGTTTTATTACAATCTGTGGAAAACTCGAAAGAACATGTGAATTTATTTCCACAGATTGTGG
AAAACTTTACAGTTTATGGTAAATATTTTTATAGATTATTAAGAAGACAAAAAATGAATTAGC
AAAGAAGGTTTTCTATGGCACAAAGAACTAGTTTTTGGGCGCGTGTTTTAGAATTAGCTCAAAAACAAAT
CAAAAAAATACGTATGATTATTTCTGTCAGGAGCTCGATTAATTAAGTTGAAAATTTTCAAGCTACT
ATACCTCTCGATAGTACAGTCAACAATTATTTTGGGAACAAAATTTAGCAGATGTTATCATTACTGCAG
GTTTTGAAGTGTCAATAATCAAAATACAATGCATTATATCTTTCAAGAAGAGAAGGATGAGGTTAATCA
GTCAACAAATACAAATCATTCAAGTAATTACCAAGCCTTCCTCTATTGAACTGGTTAAAAACAAAA
TATACATTTTGATAATTTTGTCAAGGTGATGGAATGTTTGGGCACATATCAGCTGCACCTTGCTGTTCTG
AAAATTTGGCAACAACCTATAATCCGTTATTTATTTATGGTGGTCCAGGCTTAGGAAAAACCCATTACT
AAACGCAATTGGAAATCAAATTTTAGAAAATATACCAGATGCCAGAGTAAATACATTCTCTGCTGAGACT
TTTATCAACGACTTTTTAGAACACCTTCGATTAGGTGAAATGGAAGCTTTAAGAGAACCTATCGAAGCC
TTGATCTCTTATTAATGATGATATTCATCTTTAGGAGGAAAGAAAGTTTCTACTCAAGAAGAATTTTT
CAATACTTTTAAATGCTTTGACGGAGATAATAACAATGTACTAACAAGTGACCGTAGTCTGATCAT
CTGGACAATCTGAAGAACGTTTAGTCACGCGCTTTAAATGGGGATTAACCAAAATATTACCCACCAG
ATTTGCAAAACAGAGTTGCCATTTACGCAATAAAATAGAAGATTTAGACTATATTTTCCAAATGATAC
TTTGGAACTACTAGCAGGTCAATTTGATTCAAATGTTCCAGATTTAGAAGGTGCCCTTAAATGATATTTCT
CTCATGGCCAGAGTGAAAATCTTAAAGAAATTACAATTGATGTTGCTGCTGAAGCTATTCGAGCTCGAA
AACAGATGCAAGTCAAAATGTTAGTTATTTCAATTGATAAAATCCAAACAGAAAGTTGGAAATTTCTATGG
CGTTAGCGTTAAAGAAATGAAAGGAAGTCGTCGATTCAAAATATTGTTCTTGCTAGACAAGTAGCTATG
TATCTTGCTCGTGAGTTAACTGATAATAGCCTTCCAAAAATGGAAGAGAATTTGGCGGCAAGATCATA
CAACAGTTATACATGCTCATGGAAAAATTAACAATGCTCAAAACAGATGATAATCTTCGCTTAGAAAT
AGAAAATATAAGAATAAAATCAAATAATTGTGTATAATTGTAGAAAAAGAGTTAAAGTTATTCACAATT
TATAAACAAAGGTTATTTCTGCACCTCGAACACTAATTTGAAAACCTTTCCACAAGTTTCACACAACTACT
ATTACTACTAATTAATAATCATAAAATAATAAAGGAGTTTCTATGATTAACTTTTCAATCAATAAAAA
TTTATTTTTACAAGCTTTAAATACCACCAAGCGGGCTATTAGTCACAAAAATGCTATACCAATTCTTTCT
ACAGTAAAAATTGATGTCACAAATGAAGGGATTACATTGATTGGCTCTAATGGTCAAATCTCTATTGAAA
ATTTTATTTCAATTAACAAACGAAAATGCAGGGCTTTTAGTAACCTCTTCGGGCTCTATTTTACTTGAAGC
AACTTTTTTTCATCAATGTAGTATCAAGTCTTCTGATATAACACTTGATTTTAAAGAAATGATCAAAAG
CAGATTGTTCTAACCAAGTGGAAAATCAGAAATCACTTTAAAGGAAAAGATGCAGATCAATATCCTCGTA
TTCAAGAAATTTCAAGTAATCCCTTGGTTCTTGAACAAGTGTCTTAAAAATATCATTAAATGAGAC
AGCTTTTGGCGCTAGTACACAAAGAAAGTCGTCGATTTTAAACAGGAGTTCATTTGTCTTAAACAGAAAAT
AAAAATTTAAAGACAGTTGCAACAGATTCTCATCGGATGAGTCAAAAGCAATCATTTTAGAAAAAATG
GAGATAACTTTGATGTTGTTATTCCTAGTCGTTCTTTACGCGAATTTTACGCTGTTTTACGGATGATAT
TGAAACAGTAGAAATTTACTTCACAAATAATCAATTGCTCTTTAGAAGTGAAAATATTAGCTTTTATACA
CGGCTCTTGAAGGAACTATCCTGATACCGATCGTTAATTCCAACGTATTTAATAACATAATTACTT
```

Şekil 3.10. Primer dizaynının yapılacağı bakterinin genomuna ait nükleotit sekansının verildiği internet sayfası

Primer dizayn etme aşamasında aşağıda belirtilen konulara dikkat edildi;

- Forward ve revers primerlerin bağlanma sıcaklıkları arasındaki fark en fazla 0,5 kadar olmalıdır.
- Primer sekanslarının adenin veya timin bazları ile başlamalı, guanin veya sitozin bazları ile sonlanmalıdır.
- Primerlerin GC içeriği genellikle %35-65 arasında olmalıdır.
- Primer kendi kendilerine bağlanma ihtimalleri olabildiğince düşük olması için 4 ve daha fazla baz tekrarlarından kaçınılmalıdır.
- Amplifikasyon bölgesinin boyutu yaklaşık 60-150 bp arasında olmalıdır.

Primer3 (v. 0.4.0) Pick primers from a DNA sequence.	Checks for mispriming in template.	disclaimer	Primer3 Home
	Primer3plus interface	cautions	FAQ/WIKI

There is a newer version of Primer3 available at <http://primer3.ut.ee>

Paste source sequence below (5'→3', string of ACGTNacgt -- other letters treated as N -- numbers and blanks ignored). FASTA format ok. Please N-out undesirable sequence (vector, ALUs, LINEs, etc.) or use a [Mispriming Library \(repeat library\)](#):

NONE

```

TCGAATGGCTAGAATTGCAGGAATGTTACGCTCATCAATGCCCTCCATATTTTACGAAGCGGCGTCCAA
AGATGAATCCCTTTGCATCCAAGCGTTCTTTTAGCACTTTACCTAGGTATCCCAATCTCCTAAACGC
GAGAATAAGGGACACGGTCTCCAGCAATTCTTCTGCTACCTGAATAGGCAAGGGTAACCAGATAATCCAA
AATATAGCCCGACTCTGTCACCGCCAAATGCACCTTCAAACCGTAGAACACATCTTTTGGAGCACAG
TAGCCAATGTTGATCGCTCATTCAAGAATTGACTCGATGATTCTGACAGGTTGGAAAAAGAGGACTG
GAAAGCTGTCAATGATGACCAATTCATCAAAATCCAGTTGATTGAAATAGGGGCGAATCAACCGAAG
  
```

☒ Pick left primer, or use left primer below:	☐ Pick hybridization probe (internal oligo), or use oligo below:	☒ Pick right primer, or use right primer below (5' to 3' on opposite strand):

Şekil 3.11. Primerin dizayn edildiği veri tabanı

Şekil 3.11’de gösterildiği gibi ilgili baz dizilimi kutucuğa yapıştırıldı ve left primer - right primer kutucukları işaretlendi. Açılan sayfadaki ‘General Primer Picking Conditions’ bölümünde primer dizaynı için gerekli olan amplifikasyon bölgesinin boyutu, primerin boyutu, primer bağlanma sıcaklığı, primer % GC oranı vs. bilgileri Şekil 3.12’deki gibi ilgili alanlara girilerek "Pick Primer" sekmesine tıklanarak Şekil 3.13’de verilen primer dizileri elde edildi.

Product Size Ranges: 80-200

Number To Return: 5 Max 3' Stability: 9.0

Max Repeat Mispriming: 12.00 Pair Max Repeat Mispriming: 24.00

Max Template Mispriming: 12.00 Pair Max Template Mispriming: 24.00

Pick Primers Reset Form

General Primer Picking Conditions

Primer Size: Min: 20 Opt: 20 Max: 22

Primer Tm: Min: 57 Opt: 58 Max: 59 Max Tm Difference: 100.0 Table of thermodynamic parameters: Breslauer et al. 1986 v

Product Tm: Min: Opt: Max:

Primer GC%: Min: 35 Opt: Max: 65

Max Self Complementarity: 3.00 Max 3' Self Complementarity: 3.00

Max #N's: 0 Max Poly-X: 3

Inside Target Penalty: Outside Target Penalty: 0 Note: you can set Inside Target Penalty to allow primers inside a target.

First Base Index: 1 CG Clamp: 0

Concentration of monovalent cations: 50.0 Salt correction formula: Schildkraut and Lifson 1965 v

Concentration of divalent cations: 0.0 Concentration of dNTPs: 0.0

Annealing Oligo Concentration: 50.0 (Not the concentration of oligos in the reaction mix but of those annealing to template.)

☒ Liberal Base ☐ Show Debugging Info ☒ Do not treat ambiguity codes in libraries as consensus ☐ Lowercase masking

Pick Primers Reset Form

Şekil 3.12. Primer dizaynı yaparken gerekli olan bilgilerin girildiği veritabanındaki ilgili alanlar

Primer3 Output

```
No mispriming library specified
Using 1-based sequence positions
OLIGO      start  len  tm  gc%  any  3'  seq
LEFT PRIMER    926   20  58.97  45.00  2.00  0.00 TAAACGACCAATCTCCCACA
RIGHT PRIMER   1123   20  58.65  40.00  2.00  0.00 ATCGCAAAGAGCACAAGAAA
SEQUENCE SIZE: 3497
INCLUDED REGION SIZE: 3497

PRODUCT SIZE: 198, PAIR ANY COMPL: 3.00, PAIR 3' COMPL: 0.00

  1 TGTATCGAAATGAAGAAGGCAGGTAAGTCTAGGTAAAGGTCTGGAGGAGCTATCTAAAGT

61 AGAACAACTACGACTACAGGTACAACCTTAAAAAAGTATCGGAACTTGGTCAGGCAATC

121 GACAAAGTAAACCTTATCAAGCTGGTGAAGAATACAAGAAAATCTATCCTGTGTCAGTT

181 ATCCTGGACTGTTTCGGCGTCAAACGCTCAACTTTCTACCGTTGGAAAGCAAGAGGCGAA

241 AAACCTTGAGAAGAGAGACGAGGTTGTAGAGAAAATCGAGCAACTCTGTATGGAACATCAT

301 TTTATCTACGGCTATCGTACTATTACACGACTACTTAAGAAAATCCATGGACTAATCGTT
```

Şekil 3.13. Veritabanı tarafından ilgili bakteri genomuna ait önerilen primerlerin bazı dizilimlerinin ve özelliklerinin verildiği sayfanın görüntüsü

İlgili bakteri genomuna ait dizayn edilen primerlerin başka bakteri türleri ile homolojisinin olup olmadığı yani primerlerin bağlanma spesifiklikleri <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> programı ile Şekil 3.14’de gösterildiği üzere kontrol edilerek Şekil 3.15’deki blast sonuçları elde edildi.

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA s **İlgili bakteri türüne ait primer sekansının yazıldığı alan**

TAAACGACCAATCTCCACA

Or, upload file Dosya Seç Dosya seçilmedi

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

☐ Align two or more sequences

Choose Search Set

Database ☒ Standard databases (nr etc.): ☐ rRNA/ITS databases ☐ Genomic + transcript databases ☐ Betacoronavirus

Nucleotide collection (nr/nt)

Organism Optional

Enter organism name or id--completions will be suggested ☐ exclude [Add organism](#)

Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown

Exclude Optional

☐ Models (XM/XP) ☐ Uncultured/environmental sample sequences

Limit to Optional

☐ Sequences from type material

Entrez Query Optional

Enter an Entrez query to limit search

Program Selection

Optimize for ☒ Highly similar sequences (megablast) ☐ More dissimilar sequences (discontiguous megablast) ☐ Somewhat similar sequences (blastn)

Choose a BLAST algorithm

BLAST Search database Nucleotide collection (nr/nt) using Megablast (Optimize for highly similar sequences)

Şekil 3.14. İlgili bakteri türüne ait primerlerin başka bakteri türlerle homolojisinin araştırılacağı Nucleotide BLAST veri tabanı

Job Title: Nucleotide Sequence

RID: MSKYZSEM01R Search expires on 09-24 17:58 pm Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: IcdQuery_471931

Description: None

Molecule type: nucleic acid

Query Length: 20

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism: only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Streptococcus milleri strain NCTC10708 genome assembly chromosome 1	Streptococcus...	40.1	80.3	100%	0.87	100.00%	1890902	LR134307.1
Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C1050 complete genome	Streptococcus c...	40.1	40.1	100%	0.87	100.00%	1991156	CP003659.1
Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C818 complete genome	Streptococcus c...	40.1	40.1	100%	0.87	100.00%	1935662	CP003840.1
Streptococcus constellatus subsp. pharyngis C232 complete genome	Streptococcus c...	40.1	40.1	100%	0.87	100.00%	1935414	CP003800.1
Streptococcus constellatus strain FDAARGOS_1208 chromosome complete genome	Streptococcus c...	40.1	40.1	100%	0.87	100.00%	1979680	CP069558.1
Streptococcus constellatus strain FDAARGOS_1156 chromosome complete genome	Streptococcus c...	40.1	80.3	100%	0.87	100.00%	1903262	CP068213.1
Streptococcus constellatus strain FDAARGOS_1015 chromosome complete genome	Streptococcus c...	40.1	40.1	100%	0.87	100.00%	2038583	CP066055.1
Streptococcus sp. NSL-72 chromosome	Streptococcus s...	40.1	80.3	100%	0.87	100.00%	2014404	CP060489.1
Danio rerio genome assembly chromosome 4	Danio rerio	38.2	68.4	100%	3.4	100.00%	62664720	LR812086.1
Danio rerio strain TSD chromosome 4	Danio rerio	38.2	68.4	100%	3.4	100.00%	76559324	CP068738.1

Şekil 3.15. İlgili bakteri türüne ait primerlerin başka bakteri türlerle homolojisinin verildiği blast sonuçları

Real-Time PCR deneyi için literatürden bulunan ve dizayn edilen primerler Tablo 3.1’de verilmiştir.

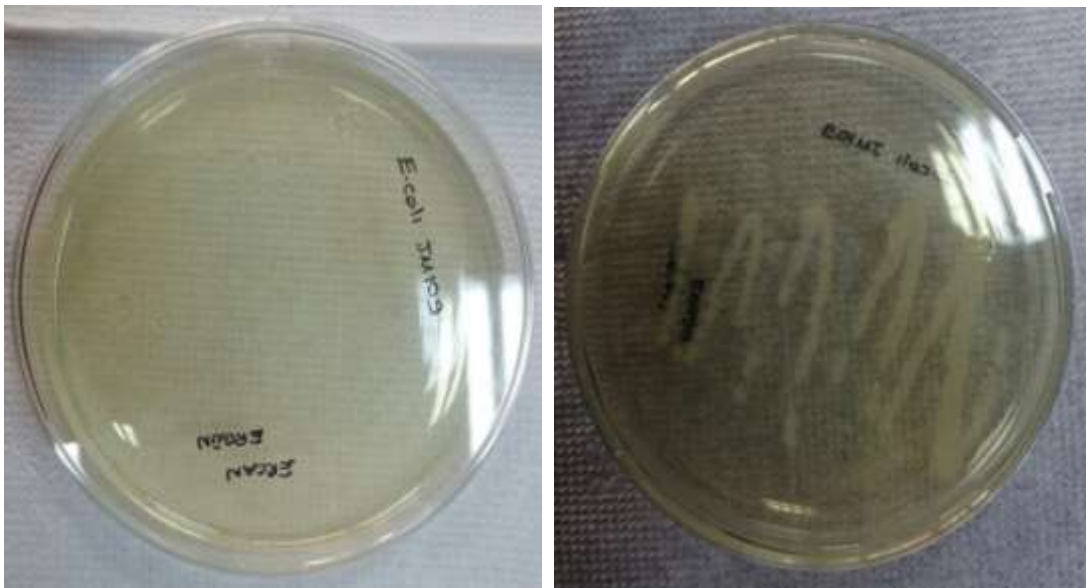
3.6. SYBR Green Real Time PCR (qPCR) Sonuçların Değerlendirilmesi ve Analizi

Periodontal apse içerisindeki bakterilerin nispi ölçümü için Real-Time PCR hassas, etkili ve güvenilir bir yöntemdir. Sunulan çalışmada toplam bakteri yükü içerisindeki hedef bakteri prevalansını ölçmek için oluşturulan standart eğri için *Escherichia coli* jm 109 suşu kullanıldı (Şekil 3.16, Şekil 3.17). İlk olarak 108 den 101 e kadar değişen sayılarda *Escherichia coli* hücrelerinden izole edilecek genomik DNA’lar kullanılarak SYBR Green Real Time PCR yöntemiyle her bir genomik DNA için CT (cycle threshold) değeri hesaplanarak standart grafik oluşturuldu. Daha sonra 30 gönüllü bireyden toplanan periodontal apse örneklerinden elde edilen genomik DNA

kullanılarak Tablo 3.1’de belirtilen her bir bakteri ve total bakteri (16S rRNA) için qPCR yapıldı. Elde edilen CT değerleri standart grafiğe yerleştirilerek total bakteri içindeki araştırılan bakterinin sayısı belirlendi.^[217, 218, 237]



Şekil 3.16. Standart grafikte kullanılacak *E.coli* jm109 suşunun besiyerine ekimi



Şekil 3.17. Besiyerine ekilen *E.coli*’nin üremeden önce ve üredikten sonraki görüntüsü

Tablo 3.2. Real Time PCR programında kullanılan sıcaklık döngüsü (Rocas and Siqueira, 2012).[216]

Basamak	Sıcaklık, °C	Süre	Döngü sayısı
Ön Denatürasyon	95	10 dak.	1
Denatürasyon	95	1 dak.	40
Primer bağlanma basamağı (Annealing)	60 (Opsiyonel)	1 dak.	
Primer Uzama Basamağı (Extension)	72	1 dak.	

3.7. İstatistiksel Analiz

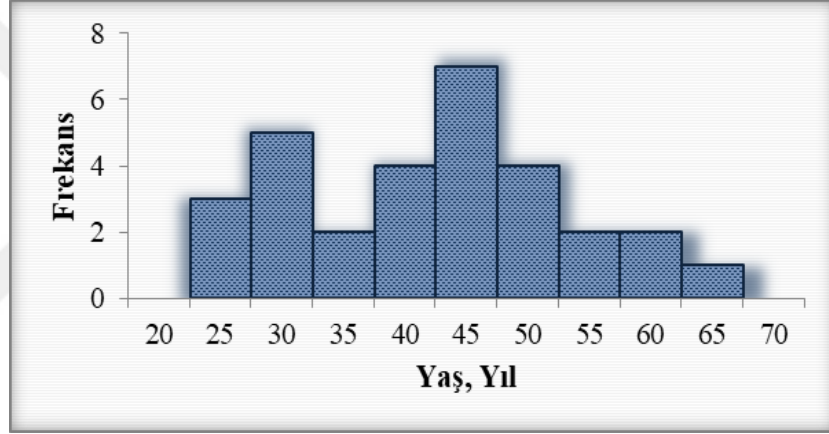
Sürekli değişkenler için normallik koşulu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. İki grubun verileri, normallik koşulunun sağlanması durumunda Student t testi, sağlanmadığı durumlarda Mann-Whitney U testi, üç grubun verileri ise Kruskal Wallis testi (Post-Hoc: Dunn testi) kullanılarak karşılaştırıldı. İki sürekli değişken arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayısı ve Spearman'ın sıralama korelasyon katsayısı ile incelendi. Bakteri miktarları, mutlak sayıları ile birlikte toplam bakteri sayısına normalize edilerek rölatif sayılar üzerinden oransal olarak değerlendirildi. Sürekli veriler ortalama ve standart sapma ($\text{Ort} \pm \text{ss}$), medyan, minimum ve maksimum değer (Med (Min-Maks)) olarak özetlendi. Analizler, istatistiksel yazılım SPSS version 23 (SPSS Inc., Armonk, NY) ile gerçekleştirildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışma, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı'na tedavi için başvuran periodontal apse teşhisi konulan 30 gönüllü hastadan alınan örnekler üzerinde yapıldı.

4.1. Genel Özellikler

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 22 ile 65 arasında değişmekte olup ortalaması 40.23 ± 10.9 idi. Hastaların yaşlarının dağılımını gösteren histogram grafiği Şekil 4.1'de paylaşıldı. Hastalar cinsiyet özellikleri açısından incelendiğinde %63,3'ünün erkek olduğu görüldü.



Şekil 4.1. Hastaların yaşları dağılımına ilişkin histogram grafiği

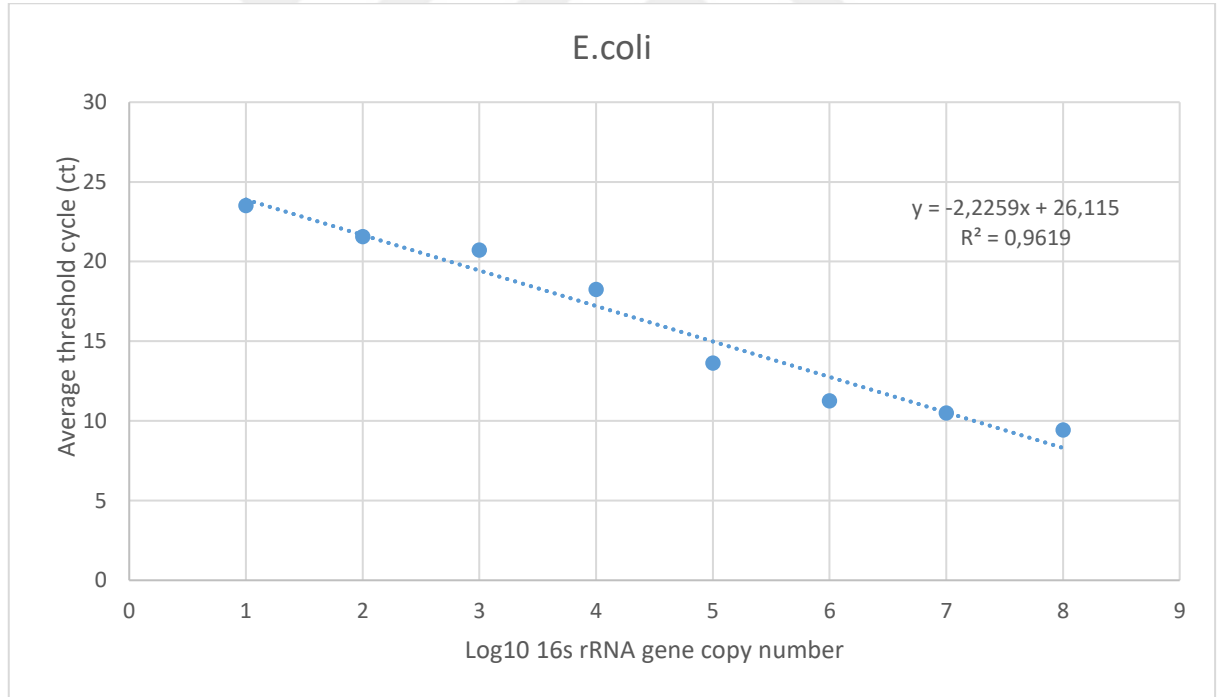
Hastaların %23,3'ü sigara içmekteydi. Cep derinliği için yapılan incelemede, medyan değeri 8,5 (6-15) olarak belirlendi. Hastaların periodontal apseli dişlerinin %36,7'sinin mobilitesi 1, %40,0'ının 2 ve %23,3'ünün 3 olarak tespit edildi.

Tablo 4.1. Hastaların genel özellikleri

	n / Ort±ss	% / Med (Min-Maks)
Yaş	40,23±10,9	41 (22-65)
Cinsiyet		
Kadın	11	%36,7
Erkek	19	%63,3
Sigara		
İçmiyor	23	%76,7
İçiyor	7	%23,3
Cep derinliği	8,7±2,4	8,5 (6-15)
Mobilite		
1	11	%36,7
2	12	%40,0
3	7	%23,3

Ort±ss: Ortalama ± standart sapma, **Med (Min-Maks):** Medyan (Minimum-Maksimum).

4.2. Mikrobiyolojik Bulgular



Şekil 4.2. E.coli suşundan incelenen bakterilerin sayısını belirlemek amacıyla elde edilen standart grafik

Toplanan örnekler PCR yapılmadan önce saflık ve konsantrasyon açısından değerlendirildi. Nükleik asitlerde bulunan pürin ve primidin bazlarının 260-280 nm’de kuvvetli şekilde ultraviyole ışığı (UV) absorbe etmeleri sebebiyle kantitatif tayinleri

spektrofotometrik yöntemlerle yapılmaktadır. Nükleik asitlerin protein kirliliği taşıyıp taşımadığı ise 280 nm’de absorbans ölçümü yapılarak belirlenmektedir. Saf olarak elde edilen örneklerde A260/A280 oranı yaklaşık olarak 1,8 ile 2 arasında yer almaktadır.^[238] Saflık ve konsantrasyon değerleri PCR için uygun olan örnekler Tablo 4.2’de belirtildi.

Tablo 4.2. Periodontal apse örneklerinin DNA saflık ve konsantrasyon değerleri

ÖRNEK	SAFLIK	KONSANTRASYON
H-3	1,9632	95,400
H-7	1,9632	74,600
H-15	1,9579	88,300
H-16	1,9105	85,400
H-17	1,9102	129,700
H-21	2,0139	87,000
H-22	1,8589	89,600
H-25	1,9720	49,300
H-28	1,96583	195,800
H-31	2,107345	37,300
H-32	1,895556	589,100
H-33	2,093458	44,800
H-34	2,08046	36,200
H-35	1,970938	149,200
H-36	1,926714	244,500
H-38	1,895556	85,300
H-39	2,0251	209,800
H-40	2,0590	66,300
H-41	2,0100	120,800
H-42	1,92221	130,700
H-43	1,9645	71,900
H-45	1,9451	244,300
H-46	1,9691	38,200
H-47	1,9946	36,900
H-48	2,0177	79,700
H-49	2,0036	55,700
H-50	1,8406	258,600
H-51	1,8378	122,400
H-53	1,8678	90,400
H-54	1,8444	88,900

- Periodontal apse örneği alınan her hastaya H kodu ve numara verildi uygun DNA saflık ve konsantrasyon değerlerini sağlayanlara bu tabloda yer verildi.

Hastalardan alınan örneklerden yalnızca, *A.actinomycetemcomitans*, *S.pneumoniae*, *M.cerebrosus* ve *S.haemolyticus* için PCR sonuçları elde edilemedi.

Çalışılan örneklerde, *P.gingivalis*, *P.intermedia* ve *F.nucleatum* bakterileri tamamında tespit edilirken *A.actinomycetemcomitans*, *S.pneumoniae*, *S.haemolyticus* ve *M.cerebrosus* bakterilerine rastlanmadı. *P.gingivalis* (30, %100), *P.intermedia* (30, %100) ve *F.nucleatum* (30, %100) ardından en sık gözlenen diğer bakteriler sırasıyla; *C.rectus* (29, %96,6), *P.endodontalis* (29, %96,6), *T.forsythia* (28, %93,3), *F.alocis* (28, %93,3) ve *A.naeslundii* (28, %93,3) idi. Tablo 4.3’de bakterilerin tespit sayısına ve oranlarına yer verildi.

Tablo 4.3. İncelenen 30 periodontal apse örneği içeriğindeki bakterilerin tespit sayı ve oranları

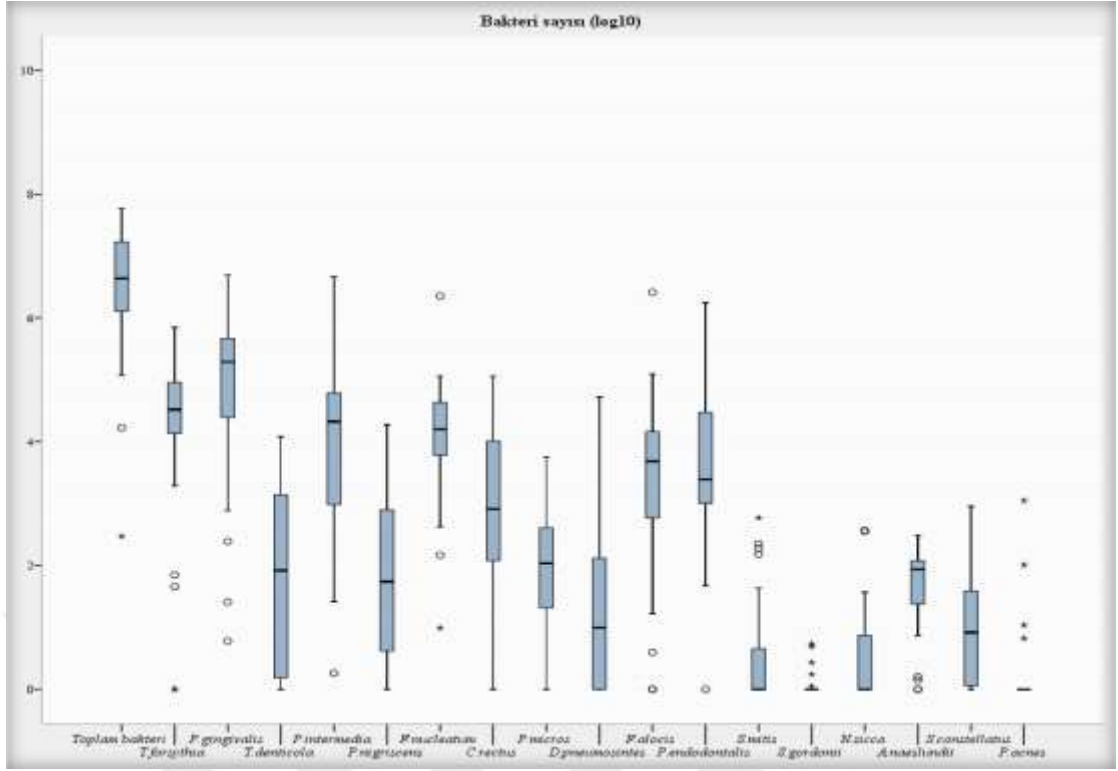
	Tespit sayısı	Tespit oranı
Toplam bakteri	30	%100
<i>T.forsythia</i>	28	%93,3
<i>P.gingivalis</i>	30	%100
<i>T.denticola</i>	23	%76,6
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	0	%0,0
<i>P.intermedia</i>	30	%100
<i>P.nigrescens</i>	25	%83,3
<i>F.nucleatum</i>	30	%100
<i>C.rectus</i>	29	%96,6
<i>P.micra</i>	26	%86,7
<i>D.pneumosintes</i>	19	%63,3
<i>F.alocis</i>	28	%93,3
<i>P.endodontalis</i>	29	%96,6
<i>S.pneumoniae</i>	0	%0,0
<i>S.mitis</i>	12	%40,0
<i>S.gordonii</i>	5	%16,6
<i>N.sicca</i>	14	%46,6
<i>A.naeslundii</i>	28	%93,3
<i>S.haemolyticus</i>	0	%0,0
<i>M.cerebrosus</i>	0	%0,0
<i>S.constellatus</i>	24	%80,0
<i>P.acnes</i>	5	%16,6

Çalışmada, toplam bakteri sayısının medyan değeri 6,63 (2,47-7,77) idi. Örneklerde en yüksek oranda tespit edilen bakteri *P.gingivalis* idi. *P.gingivalis*'in ardından sırasıyla *T.forsythia*, *F.nucleatum* ve *P.intermedia* gözlemlendi. *P.gingivalis* sayıları ve rölatif sayıları (oranları) medyan değerleri 5,25 (0,78-6,69) ve 1,11 (0,43-1,56) olarak elde edilirken bu değerler sırasıyla; *T.forsythia* için 4,61 (0-5,84) ve 0,98 (0-1,6), *F.nucleatum* için 4,3 (0,99-6,35) ve 0,93 (0,67-1,17), *P.intermedia* için 4,31 (0,26-6,66) ve 0,87 (0,29-1,27) idi. Tüm bakteri türlerinin sayısı ve rölatif sayısı Tablo 4.4'te yer almaktadır.

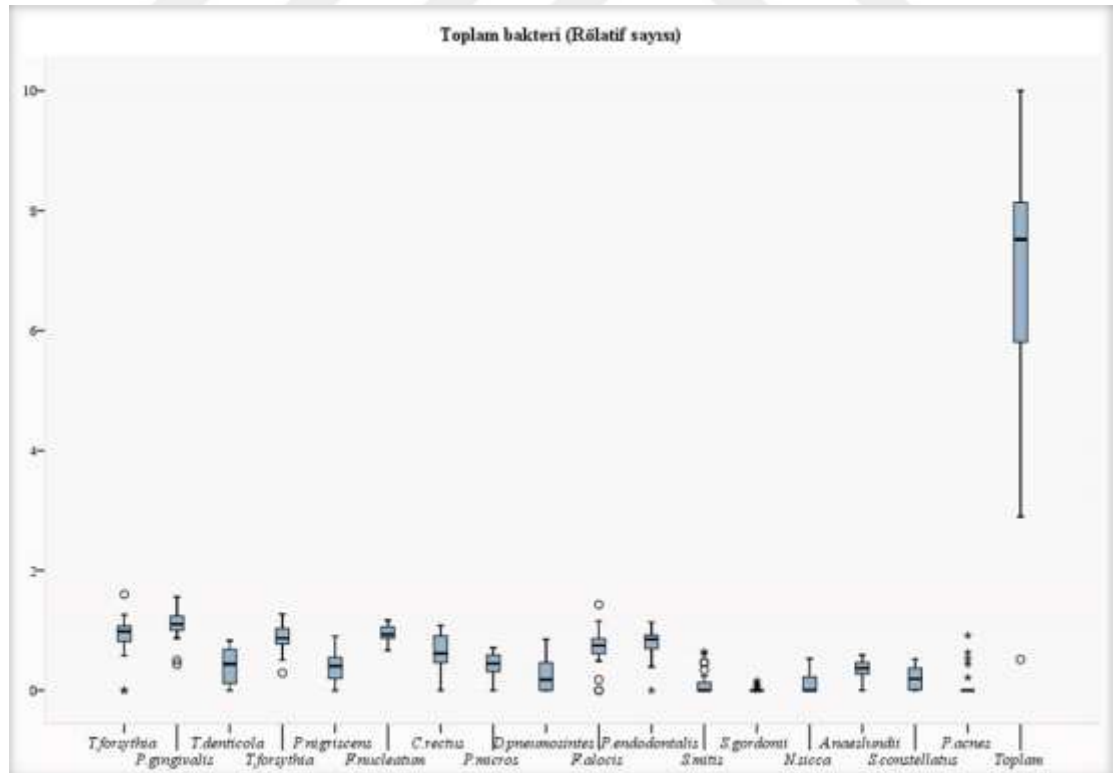
Tablo 4.4. Bakteri sayıları

	n	Bakteri sayısı (log10)		% Toplam bakteri (Rölatif sayısı)	
		Ort±ss	Med (Min-Maks)	Ort±ss	Med (Min-Maks)
Toplam bakteri	30	6,45±1,1	6,63 (2,47-7,77)	-	-
<i>T.forsythia</i>	30	4,12±1,5	4,61 (0-5,84)	0,92±0,3	0,98 (0-1,6)
<i>P.gingivalis</i>	30	4,82±1,4	5,25 (0,78-6,69)	1,1±0,2	1,11 (0,43-1,56)
<i>T.denticola</i>	30	1,9±1,4	1,95 (0-4,08)	0,4±0,3	0,44 (0-0,83)
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	12	0	0	0	0
<i>P.intermedia</i>	30	3,94±1,4	4,31 (0,26-6,66)	0,87±0,2	0,87 (0,29-1,27)
<i>P.nigrescens</i>	30	1,9±1,4	1,81 (0-4,61)	0,4±0,3	0,41 (0-0,9)
<i>F.nucleatum</i>	30	4,12±1	4,3 (0,99-6,35)	0,95±0,1	0,93 (0,67-1,17)
<i>C.rectus</i>	30	2,84±1,4	2,87 (0-5,06)	0,62±0,3	0,62 (0-1,08)
<i>P.micra</i>	29	1,98±1,1	2,13 (0-3,76)	0,41±0,2	0,45 (0-0,71)
<i>D.pneumosintes</i>	30	1,17±1,2	0,96 (0-4,73)	0,24±0,2	0,18 (0-0,86)
<i>F.alocis</i>	30	3,32±1,5	3,69 (0-6,41)	0,73±0,3	0,75 (0-1,43)
<i>P.endodontalis</i>	30	3,66±1,3	3,58 (0-6,25)	0,81±0,2	0,85 (0-1,14)
<i>S.pneumoniae</i>	26	0	0	0	0
<i>S.mitis</i>	29	0,55±0,9	0 (0-2,77)	0,11±0,2	0 (0-0,65)
<i>S.gordonii</i>	29	0,07±0,2	0 (0-0,74)	0,01±0	0 (0-0,16)
<i>N.sicca</i>	30	0,54±0,8	0 (0-2,57)	0,11±0,2	0 (0-0,53)
<i>A.naeslundii</i>	30	1,62±0,8	1,91 (0-3,04)	0,34±0,2	0,37 (0-0,59)
<i>S.haemolyticus</i>	27	0	0	0	0
<i>M.cerebrosus</i>	30	0	0	0	0
<i>S.constellatus</i>	30	0,98±0,9	0,93 (0-2,96)	0,2±0,2	0,19 (0-0,52)
<i>P.acnes</i>	30	0,29±0,7	0 (0-3,05)	0,09±0,2	0 (0-0,92)

Ort±ss: Ortalama ± standart sapma, **Med (Min-Maks):** Medyan (Minimum-Maksimum).



Şekil 4.3. Bakteri sayılarını gösteren grafik (log10)



Şekil 4.4. Rölatif bakteri sayılarını gösteren grafik

4.3. Hastaların Genel Özelliklerine Göre Mikrobiyolojik Bulguların Analizi

Hastaların genel özellikleri ile örneklerden elde edilen mikrobiyolojik bulgular arasındaki ilişkiler incelendi.

Tablo 4.5. Hastaların yaşları ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi

	Yaş (n=30)			
	r	p		
Toplam bakteri	0,114	0,547	<i>F.alocis</i>	0,041 ^a 0,830
<i>T.forsythia</i>	-0,014	0,939	<i>P.endodontalis</i>	0,270 ^a 0,149
<i>P.gingivalis</i>	0,285	0,127	<i>S.pneumoniae</i>	- -
<i>T.denticola</i>	0,143	0,451	<i>S.mitis</i> ¹	0,342 0,069
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	-	-	<i>S.gordonii</i> ¹	0,184 0,339
<i>P.intermedia</i>	0,238 ^a	0,205	<i>N.sicca</i>	0,048 0,800
<i>P.nigrescens</i>	0,274 ^a	0,143	<i>A.naeslundii</i>	0,246 0,190
<i>F.nucleatum</i>	0,027	0,887	<i>S.haemolyticus</i>	- -
<i>C.rectus</i>	0,192 ^a	0,309	<i>M.cerebrosus</i>	- -
<i>P.micra</i> ¹	0,165	0,393	<i>S.constellatus</i>	0,031 0,872
<i>D.pneumosintes</i>	0,084	0,658	<i>P.acnes</i>	0,124 0,514

r: Spearman sıralama korelasyon katsayısı, a: Pearson korelasyon katsayısı.

¹ : n=29.

Hastaların yaşları ile tüm bakteri türleri sayısı (log10) arasında yapılan incelemede, anlamlı doğrusal ilişki bulunmadı (p>0,05). Yaş ile bakteri sayıları için yapılan korelasyon analizi bulguları Tablo 4.5’de paylaşıldı.

Hastaların cinsiyetlerine göre bakteri sayıları incelendiğinde, *P.nigrescens* sayılarının erkeklerde kadınlara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu sonucuna ulaşıldı (p=0,019). *P.nigrescens* sayılarının ortalama değeri kadınlarda 1,13±1 iken erkeklerde 2,34±1,4 olarak elde edildi.

Kadın hastalarda toplam bakteri miktarı medyan değeri 6,56 olup 4,23 - 7,4 aralığında değişirken erkeklerde ise medyan değerinin 6.89 olup 2,47 - 7,77 aralığında değiştiği görüldü. Yapılan incelemede, kadın ve erkeklerde toplam bakteri miktarı

açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0,175$). *P.nigrescens* dışında tüm bakteri türleri açısından yapılan incelemelerde, kadın ve erkek hastalar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Cinsiyete göre yapılan incelemelerden elde edilen tüm bulgular Tablo 4.6'da paylaşıldı.

Tablo 4.6. Hastaların cinsiyetleri ile bakteri sayılarının ($\log_{10}$) ilişkisi

	Cinsiyet				
	Kadın (n=11)		Erkek (n=19)		
	Ort±ss	Med (Min-Maks)	Ort±ss	Med (Min-Maks)	p
Toplam bakteri	6,23±0,9	6,56 (4,23-7,41)	6,58±1,2	6,89 (2,47-7,77)	0,175
<i>T.forsythia</i>	4,19±1,3	4,34 (1,85-5,84)	4,08±1,6	4,7 (0-5,58)	0,983
<i>P.gingivalis</i>	4,94±1,1	4,86 (2,89-6,69)	4,75±1,6	5,4 (0,78-6,35)	0,747
<i>T.denticola</i>	1,54±1,4	1,32 (0-3,35)	2,11±1,4	2,35 (0-4,08)	0,269
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	0	0	0	0	-
<i>P.intermedia</i>	3,68±1	3,88 (1,65-4,94)	4,09±1,6	4,38 (0,26-6,66)	0,542 ^a
<i>P.nigrescens</i>	1,13±1	1,12 (0-2,63)	2,34±1,4	2,49 (0-4,61)	0,019^a
<i>F.nucleatum</i>	4,16±0,9	4,34 (2,17-5,06)	4,1±1,1	4,26 (0,99-6,35)	0,846
<i>C.rectus</i>	3,04±1,2	2,91 (1,31-5,06)	2,73±1,4	2,85 (0-5,02)	0,558 ^a
<i>P.micra</i> ¹	1,99±1,2	2,02 (0-3,68)	1,98±1	2,31 (0-3,76)	0,890
<i>D.pneumosintes</i>	0,72±1,1	0(0-2,57)	1,43±1,3	1,23 (0-4,73)	0,152
<i>F.alocis</i>	3,28±1,4	3,68 (0,6-5,09)	3,34±1,6	3,69 (0-6,41)	0,915 ^a
<i>P.endodontalis</i>	3,29±1,1	3,39 (1,67-5,37)	3,87±1,4	4,02 (0-6,25)	0,252 ^a
<i>S.pneumoniae</i>	0	0	0	0	-
<i>S.mitis</i> ¹	0,77±0,9	0,39 (0-2,28)	0,43±0,8	0 (0-2,77)	0,166
<i>S.gordonii</i> ²	0	0	0,12±0,2	0 (0-0,74)	0,060
<i>N.sicca</i>	0,74±0,8	0,52 (0-2,57)	0,42±0,7	0 (0-2,55)	0,154
<i>A.naeslundii</i>	1,44±0,6	1,6 (0,21-2,17)	1,73±0,8	2 (0-3,04)	0,162
<i>S.haemolyticus</i>	0	0	0	0	-
<i>M.cerebrosus</i>	0	0	0	0	-
<i>S.constellatus</i>	0,96±0,9	0,94 (0-2,07)	0,99±0,9	0,92 (0-2,96)	0,746
<i>P.acnes</i>	0,45±0,8	0 (0-2,01)	0,2±0,7	0 (0-3,05)	0,246

Ort $\pm$ ss: Ortalama $\pm$ standart sapma, **Med (Min-Maks):** Medyan (Minimum-Maksimum).

Mann-Whitney U testi, ^a: Student T testi.

1: Kadın hasta sayısı; n=10, **2:** Erkek hasta sayısı; n=18.

Hastaların sigara kullanma durumlarına göre toplam bakteri miktarı incelendiğinde, sigara içenlerde içmeyenlere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,047$). Sigara içmeyen hastalarda toplam bakteri miktarı medyan değeri 6,55 (2,47-7,67) iken sigara içenlerde 7,02 (6,51-7,77) idi.

Yapılan incelemede, *P.nigrescens*, *S.gordonii* ve *A.naeslundii* sayıları açısından sigara içen ve içmeyen hastalar arasında anlamlı fark tespit edildi (Sırasıyla; $p=0,047$, $p<0,001$, $p=0,015$). Bu bakteriler için sayılar ($\log_{10}$) sigara içenlerde içmeyenlere göre anlamlı derecede daha yüksekti. Sigara içmeyen ve içen hastalarda medyan sayıları sırasıyla; *P.nigriscens* için 1,7 (0-4,27) ve 3,03 (0-4,61), *S.gordonii* için 0 (0-0,05) ve 0,34(0-0,74), *A.naeslundii* için 1,6 (0-2,45) ve 2,04 (1,94-3,04) idi.

Diğer tüm bakteri türleri açısından yapılan incelemelerde, hastaların sigara kullanma durumlarına göre aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Hastaların sigara kullanma durumlarına göre yapılan tüm incelemelerden elde edilen bulgulara Tablo 4.7’de yer verildi.

Tablo 4.7. Hastaların sigara kullanımı ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi

	Sigara kullanımı				
	Hayır (n=23)		Evet (n=7)		p
	Ort±ss	Med (Min-Maks)	Ort±ss	Med (Min-Maks)	
Toplam bakteri	6,25±1,2	6,55 (2,47-7,67)	7,1±0,5	7,02 (6,51-7,77)	0,047
<i>T.forsythia</i>	4,1±1,4	4,48 (0-5,84)	4,22±1,9	4,85 (0-5,58)	0,377
<i>P.gingivalis</i>	4,78±1,5	5,2 (0,78-6,69)	4,96±1,2	5,4 (2,39-5,75)	0,902
<i>T.denticola</i>	1,64±1,4	1,36 (0-4,08)	2,79±1,3	3,2 (0-3,98)	0,057
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	0	0	0	0	0
<i>P.intermedia</i>	3,68±1,4	4,26 (0,26-5,82)	4,8±1,2	4,61 (2,99-6,66)	0,059
<i>P.nigrescens</i>	1,63±1,3	1,7 (0-4,27)	2,79±1,5	3,03 (0-4,61)	0,047
<i>F.nucleatum</i>	3,95±1	4,2 (0,99-5,06)	4,69±0,8	4,57 (3,77-6,35)	0,162
<i>C.rectus</i>	2,62±1,4	2,59 (0-5,06)	3,57±1	3,2 (2,43-5,02)	0,091
<i>P.micra</i> ¹	1,77±1,1	1,85 (0-3,68)	2,64±0,7	2,53 (1,7-3,76)	0,083
<i>D.pneumosintes</i>	0,96±1,1	0,58 (0-2,89)	1,84±1,5	1,64 (0-4,73)	0,183
<i>F.alocis</i>	3,15±1,5	3,69 (0-5,09)	3,85±1,2	3,56 (2,74-6,41)	0,825
<i>P.endodontalis</i>	3,42±1,3	3,39 (0-5,37)	4,42±1,1	4,34 (3,32-6,25)	0,091
<i>S.pneumoniae</i>	0	0	0	0	0
<i>S.mitis</i> ¹	0,7±0,9	0,06 (0-2,77)	0,09±0,2	0 (0-0,61)	0,077
<i>S.gordonii</i> ²	0,002±0,01	0 (0-0,05)	0,35±0,3	0,34(0-0,74)	<0,001
<i>N.sicca</i>	0,51±0,8	0 (0-2,57)	0,62±0,9	0,48 (0-2,55)	0,709
<i>A.naeslundii</i>	1,43±0,8	1,6 (0-2,45)	2,27±0,4	2,04 (1,94-3,04)	0,015
<i>S.haemolyticus</i>	0	0	0	0	0
<i>M.cerebrosus</i>	0	0	0	0	0
<i>S.constellatus</i>	0,8±0,8	0,63 (0-2,07)	1,55±1	1,83 (0-2,96)	0,104
<i>P.acnes</i>	0,38±0,8	0 (0-3,05)	0	0	0,186

Ort±ss: Ortalama ± standart sapma, **Med (Min-Maks):** Medyan (Minimum-Maksimum).

Mann-Whitney U testi.

1: Sigara içmeyen hasta sayısı; n=22, **2:** Sigara içen hasta sayısı; n=6.

Hastaların cep derinlikleri ve toplam bakteri ile birlikte her bir bakteri sayısının arasındaki doğrusal ilişkiler incelendi. Yapılan incelemede, *P.nigrescens* ve *P.endodontalis* sayıları ile cep derinlikleri arasında negatif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi (Sırasıyla; $r=-0,404$, $p=0,027$, $r=-0,384$, $p=0,036$).

Diğer tüm bakteri türleri ile hastalardan elde edilen cep derinlikleri arasında anlamlı doğrusal ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Yapılan korelasyon analizi sonuçlarına Tablo 4.8’de yer verildi.

Tablo 4.8. Hastaların cep derinlikleri ile bakteri sayılarının (log10) ilişkisi

Cep derinliği (n=30)					
	r	p		r	p
Toplam bakteri	-0,251	0,182	<i>F.alocis</i>	0,096	0,614
<i>T.forsythia</i>	0,021	0,914	<i>P.endodontalis</i>	-0,384	0,036
<i>P.gingivalis</i>	-0,223	0,237	<i>S.pneumoniae</i>	-	-
<i>T.denticola</i>	-0,205	0,278	<i>S.mitis</i> ¹	-0,041	0,835
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	-	-	<i>S.gordonii</i> ¹	-0,266	0,164
<i>P.intermedia</i>	-0,335	0,070	<i>N.sicca</i>	0,053	0,780
<i>P.nigrescens</i>	-0,404	0,027	<i>A.naeslundii</i>	-0,226	0,229
<i>F.nucleatum</i>	-0,067	0,727	<i>S.haemolyticus</i>	-	-
<i>C.rectus</i>	-0,337	0,069	<i>M.cerebrosus</i>	-	-
<i>P.micra</i> ¹	-0,021	0,913	<i>S.constellatus</i>	-0,203	0,283
<i>D.pneumosintes</i>	-0,033	0,864	<i>P.acnes</i>	0,023	0,904

r: Spearman sıralama korelasyon katsayısı, *: Pearson korelasyon katsayısı.

1: n=29.

4.4. Mikrobiyolojik Bulgularda Korelasyon Analizi

Toplam bakteri miktarı ile birlikte tüm bakteri cinslerinin/türlerinin (log10 sayıları) birbirleriyle olan doğrusal ilişkileri incelendi.

Korelasyon analizi bulguları:

Tablo 4.9. Bakteri sayılarının (log10) korelasyon analizi

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
1. Toplam bakteri	1,000	0,598**	0,594**	0,338	0,891**	0,581**	0,821**	0,659**	0,651**	0,723**	0,459*	0,846**	0,055	0,480**	0,001	0,674**	0,472**	-0,294
2. <i>T.forsythia</i>	0,598**	1,000	0,553**	0,248	0,520**	0,251	0,618**	0,244	0,459*	0,513**	0,553**	0,422*	0,090	0,022	0,071	0,454*	0,384*	-0,421*
3. <i>P.gingivalis</i>	0,594**	0,553**	1,000	0,304	0,640**	0,394*	0,488**	0,436*	0,488**	0,417*	0,438*	0,574**	0,322	-0,071	0,233	0,669**	0,279	-0,261
4. <i>T.denticola</i>	0,338	0,248	0,304	1,000	0,360	0,394*	0,109	0,129	0,230	0,254	0,643**	0,438*	0,204	0,163	0,125	0,446*	0,131	-0,115
5. <i>P.intermedia</i>	0,891**	0,520**	0,640**	0,360	1,000	0,573** ^a	0,720**	0,561** ^a	0,728**	0,681**	0,570** ^a	0,816** ^a	-0,014	0,520**	-0,010	0,611**	0,429*	-0,253
6. <i>P.nigriscens</i>	0,581**	0,251	0,394*	0,394*	0,573** ^a	1,000	0,455*	0,404 ^a	0,494**	0,522**	0,205 ^a	0,529** ^a	0,081	0,482**	0,030	0,546**	0,462*	-0,133
7. <i>F.nucleatum</i>	0,821**	0,618**	0,488**	0,109	0,720**	0,455*	1,000	0,523**	0,734**	0,668**	0,340	0,712**	0,045	0,338	0,170	0,535**	0,500**	-0,204
8. <i>C.rectus</i>	0,659**	0,244	0,436*	0,129	0,561** ^a	0,404 ^a	0,523**	1,000	0,517**	0,301	0,281 ^a	0,595** ^a	0,109	0,406*	0,187	0,532**	0,538**	-0,076
9. <i>P.micros</i> ¹	0,651**	0,459*	0,488**	0,230	0,728**	0,494**	0,734**	0,517**	1,000	0,559**	0,330	0,645**	-0,094	0,488**	0,098	0,459*	0,562**	-0,198
10. <i>D.pneumosintes</i>	0,723**	0,513**	0,417*	0,254	0,681**	0,522**	0,668**	0,301	0,559**	1,000	0,533**	0,518**	-0,226	0,482**	0,067	0,416*	0,272	-0,310
11. <i>F.alocis</i>	0,459*	0,553**	0,438*	0,643**	0,570** ^a	0,205 ^a	0,340	0,281 ^a	0,330	0,533**	1,000	0,497** ^a	0,058	0,042	0,062	0,407*	0,244	-0,282
12. <i>P.endodontalis</i>	0,846**	0,422*	0,574**	0,438*	0,816** ^a	0,529** ^a	0,712**	0,595** ^a	0,645**	0,518**	0,497** ^a	1,000	0,266	0,435*	0,158	0,573**	0,494**	-0,046
13. <i>S.mitis</i> ¹	0,055	0,090	0,322	0,204	-0,014	0,081	0,045	0,109	-0,094	-0,226	0,058	0,266	1,000	-0,382*	0,161	0,274	0,127	0,256
14. <i>S.gordonii</i> ¹	0,480**	0,022	-0,071	0,163	0,520**	0,482**	0,338	0,406*	0,488**	0,482**	0,042	0,435*	-0,382*	1,000	-0,042	0,273	0,400*	-0,206
15. <i>N.sicca</i>	0,001	0,071	0,233	0,125	-0,010	0,030	0,170	0,187	0,098	0,067	0,062	0,158	0,161	-0,042	1,000	0,098	0,075	0,088
16. <i>A.naeslundii</i>	0,674**	0,454*	0,669**	0,446*	0,611**	0,546**	0,535**	0,532**	0,459*	0,416*	0,407*	0,573**	0,274	0,273	0,098	1,000	0,501**	-0,274
17. <i>S.constellatus</i>	0,472**	0,384*	0,279	0,131	0,429*	0,462*	0,500**	0,538**	0,562**	0,272	0,244	0,494**	0,127	0,400*	0,075	0,501**	1,000	-0,322
18. <i>P.acnes</i>	-0,294	-0,421*	-0,261	-0,115	-0,253	-0,133	-0,204	-0,076	-0,198	-0,310	-0,282	-0,046	0,256	-0,206	0,088	-0,274	-0,322	1,000

r: Spearman sıralama korelasyon katsayısı, ^a: Pearson korelasyon katsayısı.

*: p<0,05, **: p<0,010

¹: n=29.

1. Toplam bakteri miktarı ile *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *D.pneumosintes* ve *P.endodontalis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü güçlü, *T.forsythia*, *P.gingivalis*, *P.nigrescens*, *C.rectus*, *P.micra* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *F.alocis*, *S.gordonii* ve *S.constellatus* sayıları arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi.
2. *T.forsythia* sayıları (log10) ile *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *D.pneumosintes* ve *F.alocis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.micra*, *P.endodontalis*, *A.naeslundii* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf, *P.acnes* sayıları (log10) arasında negatif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi.
3. *P.gingivalis* sayıları (log10) ile *T.forsythia*, *P.intermedia*, *P.endodontalis* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.nigrescens*, *F.nucleatum*, *C.rectus*, *P.micra*, *D.pneumosintes* ve *F.alocis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki bulundu.
4. *T.denticola* sayıları (log10) ile *F.alocis* arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.nigrescens*, *P.endodontalis* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki bulundu.
5. *P.intermedia* sayıları (log10) ile *F.nucleatum*, *P.micra* ve *P.endodontalis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü güçlü, *T.forsythia*, *P.gingivalis*, *P.nigrescens*, *C.rectus*, *D.pneumosintes*, *F.alocis*, *S.gordonii* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki saptandı.
6. *P.nigrescens* sayıları (log10) ile *P.intermedia*, *D.pneumosintes*, *P.endodontalis* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.gingivalis*, *T.denticola*, *F.nucleatum*, *C.rectus*, *P.micra*,

S.gordonii ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki saptandı.

7. *F.nucleatum* sayıları (log10) ile *P.intermedia*, *P.micra* ve *P.endodontalis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü güçlü, *T.forsythia*, *C.rectus*, *D.pneumosintes*, *A.naeslundii* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.gingivalis* ve *P.nigrescens* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi.
8. *C.rectus* sayıları (log10) ile *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *P.micra*, *P.endodontalis*, *A.naeslundii* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.gingivalis*, *P.nigrescens* ve *S.gordonii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki bulundu.
9. *P.micra* sayıları (log10) ile *P.intermedia* ve *F.nucleatum* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü güçlü, *C.rectus*, *D.pneumosintes*, *P.endodontalis* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *T.forsythia*, *P.gingivalis*, *P.nigrescens*, *S.gordonii* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi.
10. *D.pneumosintes* sayıları (log10) ile *T.forsythia*, *P.intermedia*, *P.nigrescens*, *F.nucleatum*, *P.micra*, *F.alocis* ve *P.endodontalis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.gingivalis*, *S.gordonii* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi.
11. *F.alocis* sayıları (log10) ile *T.forsythia*, *T.denticola*, *P.intermedia* ve *D.pneumosintes* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.gingivalis*, *P.endodontalis* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki saptandı.

12. *P.endodontalis* sayıları (log10) ile *P.intermedia* ve *F.nucleatum* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü güçlü, *P.gingivalis*, *P.nigrescens*, *C.rectus*, *P.micra*, *D.pneumosintes* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *T.forsythia*, *T.denticola*, *F.alocis*, *S.gordonii* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki saptandı.
13. *S.mitis* sayıları (log10) ile *S.gordonii* sayıları (log10) arasında negatif yönlü zayıf doğrusal ilişki bulundu.
14. *S.gordonii* sayıları (log10) ile *P.intermedia* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *P.nigrescens*, *C.rectus*, *P.micra*, *D.pneumosintes*, *P.endodontalis* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf, *S.mitis* sayıları (log10) arasında negatif yönlü zayıf doğrusal ilişki bulundu.
15. *N.sicca* sayıları (log10) ile diğer tüm bakteri sayıları arasında anlamlı doğrusal ilişki saptanmadı.
16. *A.naeslundii* sayıları (log10) ile *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *P.nigrescens*, *F.nucleatum*, *C.rectus*, *P.endodontalis* ve *S.constellatus* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *T.forsythia*, *T.denticola*, *P.micra*, *D.pneumosintes* ve *F.alocis* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki saptandı.
17. *S.constellatus* sayıları (log10) ile *F.nucleatum*, *C.rectus*, *P.micra* ve *A.naeslundii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü orta derecede, *T.forsythia*, *P.intermedia*, *P.nigriscens*, *P.endodontalis* ve *S.gordonii* sayıları (log10) arasında pozitif yönlü zayıf doğrusal ilişki saptandı.
18. *P.acnes* sayıları (log10) ile *T.forsythia* sayıları (log10) arasında negatif yönlü zayıf doğrusal ilişki tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Pürülan oral enfeksiyonların polimikrobiyal olduğu ve endojen bakterilerin sorumlu tutulduğu belirtilmektedir. Bu enfeksiyonlar içinde yer alan periodontal apselerin mikrobiyal etiyolojisine yönelik çalışmalarda da genellikle periodontal patojenler sorumlu tutulmaktadır.^[143] Ancak spesifik olarak periodontal apse mikrobiyatasını araştıran çalışma sayısı oldukça azdır. Yapılan çalışmalarda PCR testleri, kültür yöntemi, enzimatik ve biyokimyasal testler kullanılmıştır. PCR testleri kullanılarak periodontal apse içeriği incelenen bir çalışmada yüksek prevalanslarda *P.gingivalis* (%100) ve *T.denticola* (%71,4) bulunmuştur.^[155] Bu oranlar çalışmamızdaki bulgularla paralellik göstermektedir. Bakteriyel kültür teknikleriyle yapılan çalışmalarda *P.gingivalis* (%55-100), *P.intermedia* (%25-100), *F.nucleatum*'un (%44-65) yüksek prevelansları bildirilmiştir.^[4, 55, 239, 240] Kültür yöntemiyle yapılan başka bir çalışmada ise periodontal patojenlerin tespit sıklığı ile ilgili olarak en sık tespit edilen bakteri *F.nucleatum* (%70.8) iken, bunu *P.micra* (%70.6), *P.gingivalis* (%62.5), *P.intermedia* (%50), *T.forsythia* (%47.1), *P.melaninogenica* (%16.7) daha düşük oranlarda izlemektedir. Bu çalışmada *A.actinomycetemcomitans* tespit edilememiştir.^[241] Yine yapılan farklı çalışmalarda *A.actinomycetemcomitans* %24, %25 ve %30 arasında değişen farklı oranlarda tespit edilmiştir.^[4, 242, 243] Son zamanlarda yapılan bir PCR çalışmasında *A.actinomycetemcomitans*'ın kronik periodontitis hastalarında yüksek oranda tespit edilirken periodontal apseli hastalarda sağlıklı bireylerde olduğu gibi düşük oranlarda bulunduğu bildirilmiştir.^[244] Benzer şekilde bizim çalışmamızda da *A.actinomycetemcomitans* varlığını araştırıp tespit edemediğimiz bakteriyel türler arasında yer aldı.

Periodontal patojenlerden *T.forsythia* yapılan farklı kültür çalışmalarında periodontal apse içeriğinde %15, %47.1, ve %66.7 gibi değişen oranlarda tespit

edilmiştir.^[241, 242, 245] Son zamanlarda periodontal hastalıkların içeriğine yönelik yapılan bir PCR çalışmasında periodontitis, periodontal apse, ve nekrotizan ülseratif periodontitis hastalarından alınan örnekler incelenmiş ve her grupta *T.forsythia*'nın *P.gingivalis* ve *P.intermedia* ile birlikte %50'den fazla oranlarda tespit edildiği bildirilmiştir.^[246] Bizim çalışmamızda da *T.forsythia* %93.3'lük tespit oranıyla en sık rastlanılan patojenlerden biri olurken, sayısal olarak bakıldığında rölatif bakteri sayısı değeri 0.92'dir.

Ashimoto ve arkadaşları^[155] PCR tekniğiyle yaptıkları bir çalışmada *P.gingivalis* (%100) ve *T.denticola*'yı (%71.4) yüksek oranlarda tespit etmişlerdir. Bunun yanında yapılan farklı bakteriyel kültür çalışmalarında *P.gingivalis* %55 ile %100, *P.intermedia* %25 ile %100, *F.nucleatum* %44 ile 65 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir.^[4, 55, 239, 240] Bizim araştırmamızda bu üç bakteri de bütün örneklerde (%100 oranda) tespit edildi. Toplam bakteri sayısı göze alındığında ise *P.gingivalis*'in 1.1'lik rölatif sayısı ile en yüksek miktarda tespit edilen bakteri olduğu belirlendi. *F.nucleatum* ise sayısal olarak 0.95'lik oranıyla ikinci sırada yer aldı. Bizim çalışmamızda *T.denticola*'nın tespit sıklığı %76.6 olurken toplam bakteri sayısı içindeki rölatif değeri 0.4'tür.

Önemli periodontal patojenlerden biri olan *P.intermedia* periodontal apse içeriğini inceleyen değişik çalışmalarda %25 ile %100 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir.^[4, 239] Bakteriyel kültür tekniğiyle yapılan diğer bir çalışmada siyah pigmentli bakteriler olan *P.intermedia* ve *P.nigrescens*'in %60 oranında saptandığı bildirilmiştir. Son zamanlarda bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmek için yapılan bir bakteriyel kültür çalışmasında *P.intermedia* ve *P.nigrescens*'in benzer şekilde %65 sıklıkta tespit edildiği bildirilmiştir.^[243] Koroner arter hastalıklarıyla periodontal hastalıkların mikrobiyotasını inceleyen bir çalışma yapılmış ve *P.intermedia*'nın koroner arter hastalıklarıyla ilişkili bir periodontal patojen olduğu bildirilmiştir.^[247] Sigara içen ve içmeyen ergenlerde periodontal bakterilerin incelendiği bir çalışmada, sigara içenlerde

periodontal bakteriler *P.nigrescens*, *P.intermedia*, *T.forsythia*, ve *T.denticola* sigara içmeyenlere göre daha yüksek oranlarda saptanmıştır.^[248] Diğer taraftan başka bir çalışmada ise erkek cinsiyetin ağız boşluğu ve tükürükte *P.intermedia* ve *P.nigrescens* bulunması açısından risk faktörü olduğu belirtilmiştir.^[249] Bu bulgulara paralel olarak bizim bulgularımızda da *P.nigrescens* sigara kullanan hastalardan alınan apse örneklerinde ve erkek cinsiyette daha fazla miktarda tespit edildi. Ayrıca bizim araştırmamızda *P.intermedia* %100 ve *P.nigrescens* ise %83.3 oranlarda tespit edildi. *P.intermedia* 0.87'lik rölatif sayısı ile incelediğimiz örneklerde en fazla miktarda bulunan dördüncü bakteridir. *P.nigrescens*'in ise toplam bakteri miktarı içerisinde rölatif sayısı 0.4'tür.

F.nucleatum periodontal hastalıklardan sorumlu tutulan patojenlerden biridir. Bugüne kadar periodontal apse içeriğine yönelik kültür ve PCR testleriyle yapılan çalışmalarda %44.4 ile %75 arasında değişen oranlarda periodontal apse içeriğinde tespit edilmiştir.^[4, 239-242] Covid-19 pandemisi nedeniyle diş sağlığı hizmetlerine erişemeyen bir hastada, periodontal apse kaynaklı *F.nucleatum* bakteriyemisi geliştiği ve sonucunda periodontal hastalıklarda nadir görülen bir komplikasyon olarak karaciğer apsesi olduğu bildirilmiştir. Sistemik olarak problemli hastalarda bu tip komplikasyonların gelişebileceği dikkate alınmalıdır.^[250] *F.nucleatum*'un çok nadir de olsa protektif eklem enfeksiyonlarıyla ve miyoperikarditle ilişkilendirilebileceğini bildiren vaka raporları da mevcuttur.^[251, 252] Bu bilgiler, periodontal bir patojen olan *F.nucleatum*'un vücudun farklı bölgelerinde de fırsatçı enfeksiyonlara sebep olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda incelediğimiz bütün periodontal apse örneklerinde *F.nucleatum* (%100) tespit edildi. Miktar olarak bakıldığında ise 0.95'lik rölatif sayısı ile en fazla bulunan ikinci bakteri oldu.

C.rectus uzun zaman boyunca oral mikrofloranın kommensal bir bakterisi olarak düşünöldü, fakat son zamanlarda ortaya çıkan bulgular majör periodontal patojenlerden biri olduğunu düşöndürmektedir.^[253] Bir vaka sunumunda dental apseli bir hastanın dişi çekildikten 10 hafta sonra tespit edilen beyin absesinde *C.rectus* tespit edilmiştir.^[254] Bu durum *C.rectus*'un vücudun başka bölgelerinde de apse oluşturabileceğini düşöndürmektedir. Periodontal apse içeriğine yönelik yapılan çalışmalarda *C.rectus* %4.2, %11, ve %80 gibi değışen oranlarda tespit edilmiştir.^[4, 241-243] Çalışmamızda incelediğimiz örneklerde *C.rectus* %96.6 gibi yüksek bir oranında tespit edildi. Toplam bakteri sayısı göze alındığında 0.62 rölatif sayısı ile yüksek miktarda bulundu.

P.micra tıbbi enfeksiyonlar oluşturabilen bir patojendir. Periodontitis hastalarında yapılan bir çalışmada *P.micra* prevalansının %58 ila %63 olduğu bildirilmiştir.^[255] Periodontal apse örneklerinin incelendiğı bir çalışmada ise *P.micra* %70.6'lık bir prevalansda tespit edilmiştir. Son zamanlarda bildirilen bir vaka raporunda *P.micra* ve *A.cardiffensis* kaynaklı bir beyin absesi geliştiğı bildirilmiştir. Odontojenik kaynaklı beyin apseleri nadir gelişse de bu vakada apsenin odontojenik kaynaklı olduğu düşönlmüştür.^[256] Bu durum odontojenik enfeksiyonların ve bu enfeksiyonlarda yer alan bakterilerin önemini vurgulamaktadır. Bizim çalışmamızda ise *P.micra* %86.7 oranda saptandı. Toplam bakteri sayısı içindeki rölatif sayısı 0.41 oldu.

Contreras ve arkadaşlarının^[156] 105 periodontits ve 30 gingivitis hastası üzerinde yaptıkları PCR çalışmasında *D.pneumosintes* şiddetli periodontitis hastalarının %83'ünde ve hafif periodontitis hastalarının %19'unda tespit edildi ve bu bulgulara dayanarak *D.pneumosintes*'in şüpheli periodontal patojenler sınıfına dahil edilmesi önerildi.^[156] Bunun üzerine yapılan daha yeni bir çalışmada ise *D.pneumosintes* periodontitisli ve sağlıklı bölgelerde araştırılmış ve hastalıklı bölgelerde daha yüksek oranlarda saptanmış ve periodontitisle ilişkili olabileceğı bildirilmiştir.^[257] Son zamanlarda yayınlanan

periodontal apse mikrobiyatasını inceleyen bir çalışmada ise apse içeriğinde *Dialister* cinsi bakteri tespit edildiği bildirilmiştir.^[150] Periodontal patojenler ve tetrasiklin direci üzerine yapılan başka bir çalışmada ise kronik periodontitisli hastalarda *D.pneumosintes*, *E.corrodens* ve kırmızı kompleks bakterileriyle birlikte en sık rastlanan bakterilerden olmuştur.^[258] *D.pneumosintes* 'e bağlı iki farklı beyin absesini bildiren bir vaka raporunda, enfeksiyonların nazofaringeal veya diş kaynaklı olduğundan şüphelenilmiştir. Bununla birlikte *D.pneumosintes* 'i tanımlamak için geleneksel biyokimyasal testlerin yetersiz kaldığı ve bu nedenle PCR testleri kullanıldığı bildirilmiştir.^[259] Yakın zamanda bildirilen bir vaka raporunda ise 13 yaşında obez bir hastanın akut solunum yetmezliği ve sepsisle başvurduğu, frontal, ethmoidal ve maksiller sinüzit ile birlikte alınan anaerobik kan kültüründe *D.pneumosintes* saptandığı bildirilmiştir.^[260] Sigara içen ve içmeyen periodontitis hastalarının karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise orta ve derin ceplerle ilişkili olarak *D.pneumosintes* 'in sigara içenlerde önemli ölçüde fazla olduğu saptanmıştır.^[261] Periodontal apse örneklerini incelediğimiz bu PCR çalışmamızda ise *D.pneumosintes* %63.3 sıklıkta saptandı. Miktar olarak bakıldığında toplam bakteri sayısına göre rölatif değeri 0.24 oldu.

F.alocis son zamanlarda periodontal hastalıklarda rol oynayabilecek önemli bir patojen olarak kabul edilmektedir. Patojenik özellikleri, periodontal cebin oksidatif stres bakımından zengin ortamında hayatta kalması, biyofilmler oluşturarak ve birkaç oral bakteri ile etkileşime girerek mikrobiyal topluluk dinamiklerini önemli ölçüde değiştirebilmesiyle önem arz eder.^[262] Son zamanlarda yayınlanan bir vaka sunumunda dental problemi olan 85 yaşındaki bir erkek hastada meydana gelen beyin absesinde 16S rRNA gen dizilimi yoluyla *F.alocis* saptandığı bildirilmiştir.^[263] Periodontal patojen olduğu düşünülen *F.alocis*, *D.pneumosintes* ve *P.endodontalis* 'in periodontitisle ilişkisini araştıran bir çalışmada *F.alocis* ve *D.pneumosintes* 'in kronik periodontitisin

etiyojisiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir.^[264] Son zamanlarda genealize agresif periodontitisli hastaların subgingival mikrobiyomu üzerine yapılan bir çalışmada ise *F.alocis*, *P.gingivalis*, ve *T.forsythia*'nın generalize agresif periodontitis ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu bildirmiştir.^[265] Yine yakın zamanda periodontal apse içeriğine yönelik yapılan bir çalışmada ise *P.gingivalis*, *P.intermedia* ve *prevotella* türlerinin periodontal apselerde baskın türler olduğunu bildirmiştir. Bunun yanında *F.alocis*'in ve *A.rimae*'nin periodontal apselerde periodontal ceplerde olduğundan önemli ölçüde yüksek olduğunu bildirmiştir.^[214] Bu durum *F.alocis*'in periodontal apse oluşumunda rol alabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda bu bulgulara paralel olarak *F.alocis* %93.3 oranla periodontal apse içeriğinde en sık saptanan türlerden biri olmuştur. Bunun yanında *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *T.forsythia*, *F.nucleatum* ve *P. endodontalis* miktar olarak en fazla bulunan bakterilerdi. Bu türlerden sonra miktar olarak en fazla bulunan bakteri ise 0.73'lük rölatif değeri ile *F.alocis* oldu.

P.endodontalis endodontik enfeksiyonlarla ilişkili siyah pigmentli anaerobik gram negatif bir rodur. Endodontal kökenli enfekte diş kanallarından ve submukozal apselerden izole edilmiştir. Enfekte diş kök kanallarında *P.endodontalis* varlığı, akut enfeksiyon semptomları ile ilişkilendirilmiştir. Oral mukoza zarlarında ve periodontal ceplerde de varlığı bildirilmiştir.^[266] Kronik periodontitis hastalarında *P.endodontalis* varlığını araştıran bir çalışmada, *P.gingivalis* ve *T.forsythia* ile benzer şekilde hastalıklı bölgelerin sağlıklı bölgelere oranla oldukça yüksek *P.endodontalis* seviyelerine sahip olduğu saptanmıştır. Bunun yanında *P.endodontalis*'in hastalıklı grupta *T.forsythia* ve *P.gingivalis* varlığıyla anlamlı şekilde korele olduğu tespit edilmiştir.^[267] Periodontal hastalığın teşhisindeki bakteriyel markerlara yönelik bir çalışmada ise *P.endodontalis*'in sağlıklı ve hastalıklı bölgeler arasında anlamlı derecede farklılık gösterdiği ve periodontitisle ilişkili bakteri florasının rutin teşhisinde araştırılan türlere eklenmesi

gerektiği bildirilmiştir.^[268] Akut periradiküler apselere yönelik yapılan bir çalışmada ise olguların %70'inde *P.endodontalis*, %50'sinde *T.denticola*, %40'ında *P.gingivalis* ve %10'unda ise *P.intermedia* bulunduğu saptanmıştır.^[269] Akut apikal apselerle asemptomatik apikal periodontitis vakalarını karşılaştıran bir çalışmada ise *P.endodontalis*'in akut apikal apselerde %53 oranında saptandığı ve asemptomatik apikal periodontitis örnekleriyle karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha sık görüldüğü bildirilmiştir.^[270] Yaptığımız literatür araştırmalarında *P.endodontalis* ve periodontal apse arasındaki ilişkinin bugüne kadar incelenmediği görüldü. Bu bilgiler ışığında incelediğimiz 30 periodontal apse örneğinde *P.endodontalis* %96.6 gibi yüksek bir sıklıkta tespit edildi ve bizim çalışmamızla birlikte *P.endodontalis*'in periodontal apse içeriğindeki varlığı ilk kez ortaya konuldu. Sayısal olarak değerlendirildiğinde ise *P.endodontalis*'in rölatif değeri 0.81 idi. Bunun yanında *P.endodontalis*'in *P.intermedia* ve *F.nucleatum* ile güçlü pozitif korelasyon gösterdiği saptandı.

S.mitis'in erken çocukluk döneminden itibaren oral kavitenin baskın öncü kolonizeri olduğu bilinmektedir.^[99] *S.mitis* grubundaki streptokok türleri ve *S.anginosus* grubu periodontitiste tanımlanmışlardır ve diş fıtalama, dental tedaviler gibi nedenlerle bakteriyemi yoluyla kalbe taşınarak endokardite sebep olabilecekleri bilinmektedir.^[271] Subgingival biyofilm içeriğindeki streptokokları periodontal tedavi öncesi ve sonrasında değerlendiren bir çalışmada ise, *S.mitis* prevalansının 2 profesyonel tedavi seansı sonrasında azaldığı saptanmıştır.^[272] Tavşanlar üzerinde yapılan bir hayvan çalışmasında ise monokültürle aşılana *Prevotella* suşları 3 günden fazla yaşayamayıp apse oluşturamazken, *S.mitis* ile birlikte aşılana *P.intermedia* ve *P.nigrescens*'in %42-100 oranlarda apse oluşturduğu bildirilmiştir.^[273] Fareler üzerinde yapılan bir başka hayvan çalışmasında ise *A.viscosus*'un *S.mitis* ile birlikte, *A.viscosus*'un veya *S.mitis*'in tek tek oluşturduğundan daha yüksek oranda apse oluşturduğu tespit edilmiştir.^[274] Öte yandan

diğer bir çalışmada *S.mitis*'in en önemli periodontal patojenlerin başında gelen *P.gingivalis*'in adezyonunu önleyerek, antagonisti olduğu bildirilmiştir.^[275] Kültür tekniğiyle periodontal apselerin bakteriyel içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada *S.mitis* periodontal apse içeriğinde ilk kez tespit edilmiştir.^[158] Bütün bu bilgiler *S.mitis*'in polimikrobiyal enfeksiyonlarda aktif bir rol alabileceğini düşündürmektedir. 30 gönüllü periodontal apse hastasından alınan apse örneklerini incelediğimiz çalışmamızda *S.mitis*'in tespit edilme sıklığı %40 idi. Bunun yanında total bakteriyel yük açısından bakıldığında *S.mitis*'in rölatif sayısı 0.11'dir.

S.gordonii bakteriyel endokardite neden olabileceği bilinen, periodontal floranın ilk kolonizörlerinden biridir. Literatürde ender olarak da olsa ampiyeme neden olabileceği bildirilmiştir.^[276] Son zamanlarda oral biyofilmlerin mikrobiyal sinerjisini araştıran bir çalışmada ise *S.gordonii*'nin periodontal patojenler olan *F.nucleatum* ve *P.gingivalis* ile birlikte polimikrobiyal sinerji gösterdiği bildirilmiştir.^[277] *P.gingivalis* ve *S.gordonii*'nin biyofilm oluşumundaki etkileşimlerini inceleyen başka bir çalışmada ise *S.gordonii*'nin potansiyel patojen olan *P.gingivalis*'e kolonizasyon ve biyofilm birikimi için bağlanma substratı sağlayabileceği bildirilmiştir.^[278] Dental plak oluşumunun ilk aşamaları, *S.gordonii* ve *A.naeslundii* gibi erken kolonizörlerin birbirlerine ve diş yüzeyine yapışmasını içerir. *S.gordonii* yüzey proteinleri SspA ve SspB'nin tükrük proteinlerine yapışmasına ve diğer bakterilerle koagregasyonuna aracılık ettiği bilinmektedir.^[279] Diğer taraftan ise *S.gordonii*'nin periodontal sağlıkla ilişkili olduğunu bildiren bir başka çalışma da mevcuttur.^[280] Endodontik kaynaklı enfeksiyonları araştıran bir çalışmada ise *S.gordonii* periapikal apselerde %11.1 sıklıkta tespit edilmiştir.^[281] Sigara içmek periodontal hastalık için ikinci en yüksek risk faktörüdür ve sigara dumanı ekstraktının *P.gingivalis*-*S.gordonii*'nin birlikte biyofilm oluşumunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Bunun yanında nikotinin *S.gordonii* planktonik hücre büyümesini,

biyofilm oluşumunu, agregasyonunu, bağlayıcı proteinlerin gen ekspresyonunu uyardığı ve dolayısıyla bu etkilerin daha sonra diş yüzeylerine patojen bağlanmasını, diş taşlarının birikmesini ve sigara içenlerde periodontal hastalık gelişimini tetikleyebileceği bildirilmiştir.^[282] Kültür tekniğiyle periodontal apse içeriğindeki bakterileri araştıran bir tez çalışmasında *S.gordonii* periodontal apse içeriğinde varlığı ilk kez tespit edilen bakterilerden biri olmuştur.^[158] Bütün bu bilgiler ışığında *S.gordonii*'nin periodontal hastalıkların başlangıcında önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Ancak periodontal apseler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde bu türün yeterince araştırılmadığı ortaya çıkmıştır. Periodontal apse örnekleri üzerinde yaptığımız çalışmada *S.gordonii* %16.6'lık oranla en az sıklıkta tespit edilen bakterilerden biri oldu. Toplam bakteriyel yük açısından bakıldığında ise toplam bakteri sayısı rölatif değeri 0.01 oldu. Bununla birlikte sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre *S.gordonii*'nin anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı.

N.sicca oral mikrobiyal floranın sağlıkta ve erken plakta bulunduğu bildirilen bir türüdür.^[283] Öte yandan *N.sicca*'nın menenjit, pnömoni, enflamatuvar spondilit, septik bursit ve sıklıkla endokardite neden olabileceği bildirilmiştir.^[284, 285] Periodontal apse içeriğine yönelik yapılan bir tez çalışmasında, örnekler bakteriyel kültür yapılarak PCR'da incelenmiş ve *N.sicca*'nın periodontal apselerden ilk kez izole edildiği bildirilmiştir.^[158] Literatür taraması yapıldığında *N.sicca*'nın peiodontal apselerde yeterince araştırılmadığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda incelediğimiz 30 periodontal apse örneğinde *N.sicca* %46.6 oranında tespit edilmiştir. Toplam bakteri sayısı değerlendirildiğinde *N.sicca*'nın rölatif değerinin 0.11 olduğu belirlendi. Bu bakterinin periodontal hastalıklar ve periodontal apselerin oluşumundaki rolünü belirlemek için daha fazla araştırılması gerekmektedir.

Periodontal sağlık, gingivitis ve başlangıç periodontitisin mikrobiyatasını inceleyen bir çalışmada *A.naeslundii*'nin periodontal sağlıkla ilişkili olduğu ve bukkal aktif periodontitisli bölgelerde baskın kolonizrlerden biri olduğu bildirilmiştir.^[286] İnsan oral kavitesinde *A.naeslundii* ve *A.viscosus*'un varlığını ve dağılımını araştıran başka bir çalışmada ise, yaşları bebekten genç yetişkine kadar değişen 108 denekten tükürük ve plak örnekleri, yetişkinlerden dil ve yanak mukozası örnekleri alınarak incelenmiştir. Bu alışmada *A.naeslundii* dişsiz bebeklerin ve tüm deneklerin tükürük numunelerinin %40'ından izole edilmiştir.^[287] *Actinomyces* türlerini periodontal sağlık ve hastalıkta inceleyen bir çalışmada *A.naeslundii*'nin supragingival plakta subgingival plaktan daha fazla bulunduğu, sondalama derinliği ve ataşman kaybı arttıa azaldığı ve periodontal tedavi sonrasında miktarının subgingival plakta önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir.^[288] öte yandan *A.naeslundii*'nin *P.gingivalis* ile koagregasyonu üzerine yapılan bir çalışmada ise *A.naeslundii* agregasyon faktörünün karbonhidrat bileşeninin *P.gingivalis* ile koagregasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir.^[289] Dental plak oluşumunun ilk aşamaları *S.gordonii* ve *A.naeslundii* gibi erken kolonizör mikroorganizmaların tükürük kaplı diş yüzeyine yağışmalarını ve koagregasyonlarını içerir. *S.gordonii*'nin yüzey proteinleri olan SspA ve SspB'nin tükürük proteinlerine yağışmada ve diğer bakterilerle koagregasyonda rol oynadığı bilinmektedir. Bu proteinlerin erken plak oluşumunda *S.gordonii*-*A.naeslundii* toplulukları oluşumunda rol oynayabileceği bildirilmiştir.^[279] Yakın zamanda yapılan bir tez çalışmasında periodontal apse içeriği kültür yardımıyla incelenmiş ve içeriğinde *A.naeslundii* periodontal apselerde ilk kez tespit edilmiştir.^[158] Bizim alışmamızda da bu bilgilerle paralellik gösterecek şekilde *A.naeslundii* ve *P.gingivalis* arasında orta derecede pozitif korelasyon tespit edildi. Ancak *A.naeslundii* ve *S.gordonii* arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi. *A.naeslundii*'nin fırsatçı enfeksiyona sebep olarak 6 aylık iyileşmeyen pnömoni

vakasından alınan bronkoalveolar lavaj örneğinden izole edildiği bildirilmiştir.^[290] Son zamanlarda yapılan bir çalışmada *A.naeslundii*'nin baş boyun apselerinde ve yumuşak doku apselerinde sıklıkla rastlandığı belirtilmiştir.^[291] *A.naeslundii* kaynaklı bir servikal aktinomiköz vakası da bildirilmiştir.^[292] Erken başlayan periodontitiste klinik ve mikrobiyolojik bulguları inceleyen bir çalışmada *A.naeslundii*'nin sigara içmeyenlerde daha sık ve yüksek oranda saptandığı belirtilmiştir.^[293]

Bunun aksine bizim çalışmamızda *A.naeslundii*'ye sigara içen periodontal apseli hastalarda anlamlı şekilde fazla miktarda rastlanmıştır. Periodontal apselerde bugüne kadar yeterince araştırılmamış olan *A.naeslundii* incelediğimiz apse örneklerinin %93.3'ünde mevcuttu. Toplam bakteri sayısı değerlendirildiğinde ise rölatif bakteri sayısı değerinin 0.34 olduğu saptandı. *A.naeslundii*'nin *S.gordonii* ve *P.gingivalis* ile koagregasyonunu ve sigara ile ilişkisini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Streptococcus constellatus esas olarak insan oral kavitesinde yaşayan *Anginosus* grubu streptokoların bir üyesidir.^[294] *S.constellatus*, karaciğer apseleri,^[295, 296] orta kulak iltihabı ve sinüzit,^[297] piyojenik uyluk apsesi,^[298] miyokardial apseler,^[299] gibi vücudun değişik bölgelerinde apse oluşturabilme potansiyeli olduğu bilinen bir bakteridir. Bununla birlikte immün sistemi baskılanmış bir periodontitis hastasında meydana gelen beyin absesinde *S.constellatus* izole edilmiştir.^[300] Kronik periodontitis mikrobiyatasının antibiyotik direnci üzerine yapılan bir çalışmada bu türün antibiyotik direnci gösteren bakteriler arasında yer aldığı bildirilmiştir.^[301] Periodontal tedaviye direnç gösteren periodontitis hastalarında yapılan bir çalışmada ise *S.constellatus* dirençli deneklerde daha büyük oranlarda tespit edilmiştir.^[302] Diğer taraftan, bu bakterinin diştaşı içerisinde bulunduğu ve kalsifikasyon gösterdiği de belirlenmiştir.^[24] Periodontal apse içeriğinin kültür tekniğiyle incelendiği bir çalışmada ise apse içerisinde varlığı ilk kez

belirlenmiştir.^[158] Bütün bu literatürler bize bu türün apse içerisinde patolojik bir bakteri olarak görev alabileceğini düşündürmektedir. Bu bilgiler ışığında periodontal apse içeriklerini incelediğimiz çalışmamızda *S.constellatus* %80 gibi yüksek bir oranda tespit edildi ve total bakteri miktarına göre rölatif değeri 0.2 oldu.

P.acnes yaygın bir cilt organizmasıdır, özellikle akne vulgaris'teki rolüyle bilinir. Ayrıca ameliyat sonrası cihazla ilgili enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir, bunun yanında kesin rolü bilinmemekle birlikte sarkoidoz ve sinovit, akne, püstüloz hiperostoz ve osteit gibi bir dizi klinik tabloyla ilişkilendirilmiştir.^[303] *P.acnes*'in beyin apseleri,^[304, 305] dalak apsesi,^[306] apse oluşumuyla birlikte protetik kapak endokarditi,^[307] akciğer apsesi,^[308] spondilodiskit,^[309] gibi vücudun değişik bölgelerinde enfeksiyonlar oluşturduğu bildirilmiştir. Diğer yandan intraoral fistül yolu olan ve olmayan primer olarak endodontik lezyonların mikrobiyatasını inceleyen bir çalışmada, fistül yolu olmayan örneklerde *P.acnes* saptanmazken, fistül yolu olan örneklerin tamamında tespit edilmiştir.^[310] Bu tablo fırsatçı bir patojen olan bu bakterinin periodontal enfeksiyonlar içinde de yer alabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada *P.acnes*'in periodontal apse içeriğinde varlığı ilk kez tespit edildi ve %16.6'lık oranla en az sıklıkta tespit ettiğimiz bakteriler arasında yer aldı. Toplam bakteri sayısı içindeki rölatif değeri 0.09 olarak saptandı.

Son zamanlarda periodontitisin patojenik mikrobiyal profili ve antibiyotik direnciyle olan ilişkisini araştıran bir çalışmada *S.pneumoniae*'nin beta laktam antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direnci gösterdiği bildirilmiştir.^[311] *S.pneumoniae*, trombosit aktive edici faktör reseptörü (PAFR) gibi konakçı reseptörlere bağlanma yoluyla alveolar epiteli enfekte ederek pnömoniye neden olur. Kronik periodontitis bir pnömoni risk faktörü olarak tanımlanmış olmasına rağmen periodontal patojenlerin

pnömoniye nasıl neden olduğu bilinmemektedir. Bu durumu açıklamaya yönelik son zamanlarda yapılan bir çalışmada *P.gingivalis*'in PAFR ekspresyonunu indükleyerek insan alveollerine pnömokok yapışmasını arttırdığı ve bundan da gingipainlerin sorumlu olduğunu bildirmiştir.^[312] Bu durum *S.pneumoniae*'nin periodontal bakterilerle sinerjistik etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte odontojenik olan ve olmayan sinüzit vakalarının incelendiği bir çalışmada *S.pneumoniae*'nin *S.aureus* ile birlikte odontojenik sinüzit vakalarında en baskın bakteriler oldukları bildirilmiştir.^[313] *S.pneumoniae*'nin akciğer absesi, mastoidit, bartholin bezi absesi gibi komplikasyonlara neden olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur.^[314-316] *S.pneumoniae* kültür yöntemiyle yapılan bir çalışmada periodontal apse içeriğinde tespit edilmiştir.^[158] Öte yandan periodontal hastalıklarla ilişkili biyofilmler üzerine yapılan bir çalışmada ise *S.pneumoniae*'nin periodontal sağlıkla ilişkilendirilen bakteriler arasında olduğu bildirilmiştir.^[317] Bizim çalışmamızda da 30 periodontal apse örneğinin hiçbirinde *S.pneumoniae* tespit edilmedi.

S.haemolyticus kommensal olarak deride yaşayan koagülaz negatif stafilokoklardan biridir. Diyabetik ayak ülseri enfeksiyonları dahil olmak üzere fırsatçı enfeksiyonlarda giderek daha fazla yer almaktadır. Bununla birlikte günümüzde *S.haemolyticus*'un virulansı ile ilgili bilgilerimiz sınırlıdır.^[318] *S.haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*'ten sonra klinik vakalardan, özellikle sepsis dahil kan enfeksiyonlarından en sık izole edilen ikinci koagülaz negatif stafilokoktur.^[319] Koagülaz negatif stafilokoklara bağlı enfeksiyonlar sıklıkla tıbbi cihazların implantasyonundan sonra ortaya çıkar ve bu klinik durum, fırsatçı bir patojen olan *S.haemolyticus*'un biyofilm oluşturabilme potansiyeliyle açıklanır.^[320] Öte yandan bu bakterinin çoklu antibiyotik direnci gösterdiği de bildirilmiştir.^[321] Bir vaka raporunda ise kolon kanseri olan bir hastada gelişen karaciğer absesinde *S.haemolyticus* saptanmıştır.^[322] Bununla birlikte

periodontal apse içeriğinde bu fırsatçı patojenin saptandığını bildiren bir çalışma da mevcuttur.^[158] Bütün bu bilgiler, biyofilm kaynaklı periodontal hastalıklar ve periodontal apseler içerisinde *S.haemolyticus* 'un bir patojen olarak yer alabileceğini akla getirmektedir. Buradan hareketle 30 periodontal apse örneği içerisinde araştırdığımız bakterilerden biri olan *S.haemolyticus* hiçbir örnekte tespit edilmedi.

M.cerebrosus, *Neisseriaceae* ailesinden, nadir görülen nonmotile, oksidaz pozitif, gram negatif bir diplokoktur. Bu bakterinin supragingival diştaşı içerisinde bulunduğu ve kalsifikasyon özelliğinin tespit edildiği bildirilmiştir.^[24] *Morococcus cerebrosus* 'un beyin apsesinden izole edildiğini bildiren bir vaka raporu mevcuttur.^[323] Daha yakın zamanda yayınlanan bir literatürde ise bu bakteriye bağlı post katarakt endoftalmit vakası bildirilmiştir.^[324] Kültür tekniğiyle yapılan bir çalışmada bu bakterinin periodontal apse içeriğinde saptandığı bildirilmiştir.^[158] Bu veriler ışığında periodontal apseler içerisinde varlığı ve patojenitesinin araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Bu çalışmada incelediğimiz periodontal apse örnekleri içerisinde varlığı tespit edilemedi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. İncelediğimiz periodontal apse örneklerinin tamamında *P.ginivalis*(%100), *P.intermedia*(%100) ve *F.nucleatum*(%100) tespit edildi. Toplam bakteri sayısı olarak bakıldığında ise en fazla miktarda tespit edilen bakteriler *P.gingivalis* (1.1), *F.nucleatum* (0.95), *T.forsythia* (0.92) ve *P.intermedia* (0.87) oldular. Bu sonuçlar bugüne kadar yapılan çalışmalara benzer şekilde periodontal patojenlerin periodontal apse içerisindeki baskın türleri oluşturduğunu göstermektedir. Diğer taraftan bakteriyel yoğunluk olarak bakıldığında tek bir bakteri öne çıkmamaktadır bu da periodontal apselerin polimikrobiyal yapıda olduğunu doğrulamaktadır.
2. Bugüne kadar periodontal hastalıklarda etken olduğu bildirilen ve araştırmamızda periodontal apse içeriğinde varlığı araştırılan *C.rectus* %96.6 , *P.micra* %90, *P.nigrescens* %83.3 ve *T.denticola* %76.6 gibi yüksek prevalanslarda tespit edildi. Rölatif bakteri sayıları açısından değerlendirildiğinde *C.rectus* (0.62), *P.micra* (0.41), *P.nigrescens* (0.4) ve *T.denticola* (0.4) için yukarıda bahsettiğimiz periodontal patojenlerden daha düşük değerler tespit edildi. Periodontal apselerin polimikrobiyal yapıları düşünüldüğünde bu bakterilerin periodontal apselerin oluşumundaki etkili olduğu düşünülmektedir.
3. Son dönemde yapılan çalışmalara göre periodontal hastalıklardan sorumlu tutulabileceği düşünülen bakteriyel türler olan *D.pneumosintes*, *F.alocis* ve *P.endodontalis* incelediğimiz periodontal apse örnekleri içeriğinde tespit edildi. Yukarıda bahsettiğimiz en fazla sayıda bulunan periodontal patojenler ardından en fazla bulunan bakteriler sırasıyla *P.endodontalis* (0.81) ve *F.alocis* (0.73) oldu. *D.pneumosintes*'in ise rölatif bakteri sayısı değeri 0.24 olarak

saptandı. Periodontal hastalıklarda etken olabileceği düşünülen bu bakterilerin tespit sıklıkları ise *P.endodontalis* %96.6, *F.alocis* %93.3 ve *D.pneumosintes* için %63.3 gibi yüksek oranlardaydı. Bu veriler değerlendirildiğinde *P.endodontalis* ve *F.alocis*'in yukarıda bahsettiğimiz periodontal patojenler olduğu bilinen *C.rectus*, *P.micra*, *P.nigrescens* ve *T.denticola*'dan daha yüksek sıklık ve sayılarda tespit edildiği görülmektedir. Bunun yanında *P.endodontalis*'in periodontal apse içeriğindeki varlığı, prevalansı ve sayısal miktarı ilk kez bizim çalışmamızda tespit edilmiştir. Bu durum bu bakterilerin periodontal apselerin gelişiminde etkin rol alabileceklerini düşündürmektedir.

4. Daha önce kültür çalışması yapılarak periodontal apseler içeriğinde varlıkları ilk kez tespit edilen bakteriler olan, *S.mitis*'in %40, *S.gordonii*'nin %16.6, *A.naesslundii*'nin %93.3, *S.constellatus*'un %80 ve *N.sicca*'nın %46.6 sıklıkta periodontal apse içeriğinde varlıkları saptandı. Toplam bakteri rölatif sayıları ise *S.mitis*'in 0.11, *S.gordonii*'nin 0.01, *A.naesslundii*'nin 0.34, *S.constellatus*'un 0.2 ve *N.sicca*'nın 0.11 olarak belirlendi. Bu bakterilerin periodontal apse içeriğindeki prevalans ve sayıları ilk kez bizim çalışmamızda ortaya konmuştur. Bunun yanında daha önce dental apselerde tespit edildiği bildirilen *P.acnes*'in periodontal apselerde varlığı, prevalansı ve rölatif sayısı ilk kez bizim çalışmamızda tespit edilmiştir. *P.acnes* incelediğimiz periodontal apse örneklerinde %16.6 sıklıkta saptandı ve rölatif bakteri sayısı değeri 0.09 idi. Tespit sıklıkları ve miktarları göze alındığında polimikrobiyal mikrobiyataya sahip olan periodontal apse içeriğinde bulunan bu bakterilerin de periodontal apselerin gelişiminde rol alabileceği düşünülmüştür. Bu bakterilerin periodontal hastalıklardaki rolünün ve bilinen periodontal

patojenlerle olan ilişkilerinin ortaya çıkarılması için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

5. Toplam bakteri miktarıyla bilinen periodontal patojenler olan *F.nucleatum* ve *P.intermedia*, diğer taraftan şüpheli periodontal patojenler olan *D.pneumosintes* ve *P.endodontalis* arasında güçlü pozitif korelasyon saptandı. Öte yandan *P.intermedia*, *F.nucleatum* ve *P.endodontalis* arasında, ayrıca *P.intermeida*, *F.nucleatum* ve *P.micra* arasında da güçlü pozitif yönlü korelasyon olduğu belirlendi. Bu durum yukarıda da bahsettiğimiz gibi bilinen periodontal patojenler yanında şüpheli periodontal patojenlerin de periodontal apseler içerisinde etkin rol aldığını düşündürmektedir.
6. İncelediğimiz periodontal apse örneklerinde pek çok bakteri arasında bulgular kısmında da belirttiğimiz gibi orta derecede pozitif yönlü korelasyon saptandı. İncelediğimiz periodontal apse örnekleri içeriğinde en fazla sayıda tespit ettiğimiz *P.gingivalis* ve *F.nucleatum* ile öncü kolonizörlerden olduğu bilinen *A.naeslundii* arasında orta derecede pozitif korelasyon saptandı. Bu durum apse oluşumunda ilk kolonizörlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu bakteriyel ilişkilerin periodontal hastalıklardaki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.
7. Sigaranın periodontal hastalıklar için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Buna paralel olarak incelediğimiz apse örneklerinde toplam bakteri sayısı, *P.nigrescens*, *S.gordonii* ve *A.naeslundii* sayıları sigara içenlerde sigara içmeyen hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Diğer taraftan *P.nigrescens* erkeklerden alınan örneklerde kadınlara göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Her ne kadar çalışmamız bu amaçla yapılmassa dahi bu veriler sigara, cinsiyet ve periodontal hastalıkların mikrobiyolojisi arasındaki ilişkinin

eşit gruplar arasında daha detaylı şekilde incelenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

8. Periodontal apselerin polimikrobiyal oluşu ve içeriğindeki bakterilerin vücudun çeşitli bölgelerinde apse ve ciddi komplikasyonlar oluşturabilecek patojeniteye sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebeple dental acil durumlar içerisinde yer alan bu durumun tedavisinin önemli olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKÇA

1. Anonymous, *Parameter on acute periodontal diseases*. American Academy of Periodontology. J. Periodontol., 2000. **71**: p. 863-866.
2. Herrera, D., et al., *Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions*. Journal of clinical periodontology, 2018. **45**: p. S78-S94.
3. Herrera, D., S. Roldán, and M. Sanz, *The periodontal abscess: a review*. Journal of Clinical Periodontology: Review article, 2000. **27**(6): p. 377-386.
4. Hafström, C.A., et al., *Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses*. Journal of periodontology, 1994. **65**(11): p. 1022-1028.
5. Meng, H.X., *Periodontal abscess*. Annals of Periodontology, 1999. **4**(1): p. 79-82.
6. Herrera, D., et al., *Acute periodontal lesions*. Periodontology 2000, 2014. **65**(1): p. 149-177.
7. Meng, H.X., *Periodontal abscess*. Ann Periodontol, 1999. **4**(1): p. 79-83.
8. Gill, Y. and C. Scully, *Orofacial odontogenic infections: review of microbiology and current treatment*. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, 1990. **70**(2): p. 155-158.
9. Suido, H., et al., *Identification of periodontopathic bacteria based upon their peptidase activities*. Adv Dent Res, 1988. **2**(2): p. 304-9.
10. Loesche, W.J., et al., *Development of a diagnostic test for anaerobic periodontal infections based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide*. J Clin Microbiol, 1990. **28**(7): p. 1551-9.

11. Ishihara, K., et al., *A sensitive enzymatic method (SK-013) for detection and quantification of specific periodontopathogens*. J Periodontal Res, 1992. **27**(2): p. 81-5.
12. Boyer, B.P., et al., *Colonization by Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia in adult periodontitis patients as detected by the antibody-based Evalusite Test*. J Clin Periodontol, 1996. **23**(5): p. 477-84.
13. Boutaga, K., et al., *Comparison of real-time PCR and culture for detection of Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque samples*. J Clin Microbiol, 2003. **41**(11): p. 4950-4.
14. Tanaka, S., et al., *The detection of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans in tooth, tongue and buccal mucosa plaques in children, using immunoslot blot assay (IBA)*. J Clin Pediatr Dent, 2006. **30**(3): p. 251-6.
15. Ashimoto, A., et al., *Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions*. Oral microbiology and immunology, 1996. **11**(4): p. 266-273.
16. Conrads, G., *DNA probes and primers in dental practice*. Clin Infect Dis, 2002. **35**(Suppl 1): p. S72-7.
17. Hugenholtz, P. and N.R. Pace, *Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach*. Trends Biotechnol, 1996. **14**(6): p. 190-7.
18. Pace, N.R., et al., *The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences*. Advances in microbial ecology, 1986: p. 1-55.

19. Paster, B.J., et al., *Bacterial diversity in human subgingival plaque*. Journal of bacteriology, 2001. **183**(12): p. 3770-3783.
20. Contreras, A., et al., *Importance of Dialister pneumosintes in human periodontitis*. Oral microbiology and immunology, 2000. **15**(4): p. 269-272.
21. Amann, R.L., W. Ludwig, and K.-H. Schleifer, *Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation*. Microbiological reviews, 1995. **59**(1): p. 143-169.
22. Hugenholtz, P., et al., *Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring*. J Bacteriol, 1998. **180**(2): p. 366-76.
23. Wade, W.G., et al., *Molecular detection of novel anaerobic species in dentoalveolar abscesses*. Clin Infect Dis, 1997. **25 Suppl 2**: p. S235-6.
24. Baris, O., T. Demir, and M. Gulluce, *Investigation of In vitro Mineral forming bacterial isolates from supragingival calculus*. Nigerian journal of clinical practice, 2017. **20**(12): p. 1571-1575.
25. Dahlen, G. and Å. Leonhardt, *A new checkerboard panel for testing bacterial markers in periodontal disease*. Oral microbiology and immunology, 2006. **21**(1): p. 6-11.
26. Wagner, C., R. Sauermann, and C. Joukhadar, *Principles of antibiotic penetration into abscess fluid*. Pharmacology, 2006. **78**(1): p. 1-10.
27. Bartlett, J.G., *Experimental aspects of intraabdominal abscess*. Am J Med, 1984. **76**(5a): p. 91-8.
28. Brook, I., *Microbiology of polymicrobial abscesses and implications for therapy*. J Antimicrob Chemother, 2002. **50**(6): p. 805-10.

29. Cardona, A.F. and S.E. Wilson, *Skin and soft-tissue infections: a critical review and the role of telavancin in their treatment*. Clin Infect Dis, 2015. **61 Suppl 2**: p. S69-78.
30. Force, S.P.T., A.S.o. Colon, and R. Surgeons, *Practice parameters for treatment of fistula-in-ano*. Diseases of the Colon & Rectum, 1996. **39**: p. 1361-1372.
31. Brook, I., *Microbiology and treatment of brain abscess*. J Clin Neurosci, 2017. **38**: p. 8-12.
32. Muzumdar, D., S. Jhawar, and A. Goel, *Brain abscess: an overview*. Int J Surg, 2011. **9**(2): p. 136-44.
33. Bosscha, K., et al., *A standardised and reproducible model of intraabdominal infection and abscess formation in rats*. Eur J Surg, 2000. **166**(12): p. 963-7.
34. Bartlett, J.G., *Experimental aspects of intraabdominal abscess*. The American journal of medicine, 1984. **76**(5): p. 91-98.
35. Bosscha, K., et al., *A standardised and reproducible model of intra-abdominal infection and abscess formation in rats*. European Journal of Surgery, 2000. **166**(12): p. 963-967.
36. Brook, I., *A 12 year study of aerobic and anaerobic bacteria in intra-abdominal and postsurgical abdominal wound infections*. Surgery, gynecology & obstetrics, 1989. **169**(5): p. 387-392.
37. Brook, I. and E.H. Frazier, *Aerobic and anaerobic microbiology of retroperitoneal abscesses*. Clinical infectious diseases, 1998. **26**(4): p. 938-941.
38. Brook, I. and E.H. Frazier, *Microbiological analysis of pancreatic abscess*. Clinical infectious diseases, 1996. **22**(2): p. 384-385.
39. Brook, I. and E. Frazier, *Microbiology of liver and spleen abscesses*. Journal of medical microbiology, 1998. **47**(12): p. 1075-1080.

40. Brook, I. and E.H. Frazier, *The aerobic and anaerobic bacteriology of perirectal abscesses*. Journal of clinical microbiology, 1997. **35**(11): p. 2974-2976.
41. Brook, I., E. Frazier, and R. Thomas, *Aerobic and anaerobic microbiologic factors and recovery of beta-lactamase producing bacteria from obstetric and gynecologic infection*. Surgery, gynecology & obstetrics, 1991. **172**(2): p. 138-144.
42. Brook, I., *Anaerobic bacteria in suppurative genitourinary infections*. The Journal of urology, 1989. **141**(4): p. 889-893.
43. Finegold, S.M., *Anaerobic bacteria in human disease*. 1977: Academic Press.
44. Sullivan, Å., C. Edlund, and C.E. Nord, *Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora*. The Lancet infectious diseases, 2001. **1**(2): p. 101-114.
45. Brook, I., *Microbiology of abscesses of the head and neck in children*. Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology, 1987. **96**(4): p. 429-433.
46. Brook, I., E.H. Frazier, and M.E. Gher, *Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscess*. Oral microbiology and immunology, 1991. **6**(2): p. 123-125.
47. Brook, I., *Microbiology of retropharyngeal abscesses in children*. American Journal of Diseases of Children, 1987. **141**(2): p. 202-204.
48. Brook, I., E.H. Frazier, and D.H. Thompson, *Aerobic and anaerobic microbiology of acute suppurative parotitis*. The Laryngoscope, 1991. **101**(2): p. 170-172.
49. Brook, I. and H.F. Edith, *Microbiology of cervical lymphadenitis in adults*. Acta oto-laryngologica, 1998. **118**(3): p. 443-446.
50. Matthews, D.C., S. Sutherland, and B. Basrani, *Emergency management of acute apical abscesses in the permanent dentition: a systematic review of the literature*. J Can Dent Assoc, 2003. **69**(10): p. 660.

51. Chavez de Paz, L.E., *Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities*. J Endod, 2007. **33**(6): p. 652-62.
52. Nair, P.N., *Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures*. Crit Rev Oral Biol Med, 2004. **15**(6): p. 348-81.
53. Ottaviani, G., et al., *Epidemiology and variables involved in dental abscess: survey of dental emergency unit in Trieste*. Oral Dis, 2014. **20**(5): p. 499-504.
54. Gill, Y. and C. Scully, *Orofacial odontogenic infections: review of microbiology and current treatment*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1990. **70**(2): p. 155-8.
55. Van Winkelhoff, A., A. Carlee, and J. De Graaff, *Bacteroides endodontalis and other black-pigmented Bacteroides species in odontogenic abscesses*. Infection and immunity, 1985. **49**(3): p. 494-497.
56. Warnke, P.H., et al., *Penicillin compared with other advanced broad spectrum antibiotics regarding antibacterial activity against oral pathogens isolated from odontogenic abscesses*. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 2008. **36**(8): p. 462-467.
57. Herrera, D., et al., *Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions*. J Periodontol, 2018. **89 Suppl 1**: p. S85-s102.
58. Newman, M.G., et al., *Newman and Carranza's Clinical Periodontology E-Book*. 2018: Elsevier Health Sciences.
59. Mombelli, A., et al., *Suspected periodontopathogens in erupting third molar sites of periodontally healthy individuals*. Journal of clinical periodontology, 1990. **17**(1): p. 48-54.
60. Ahl, D., J. Hilgeman, and J. Snyder, *Periodontal emergencies*. Dental Clinics of North America, 1986. **30**(3): p. 459-472.

61. Helovuo, H. and K. Paunio, *Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium*. J Periodontol, 1989. **60**(8): p. 467-72.
62. Helovuo, H., *[Periodontal superinfections]*. Proc Finn Dent Soc, 1987. **83**(4): p. 217-9.
63. Ryan, G.B. and G. Majno, *Acute inflammation. A review*. Am J Pathol, 1977. **86**(1): p. 183-276.
64. McFall, W., *The periodontal abscess*. J North Carolina Dent Soc, 1964. **47**: p. 34-39.
65. Palmer, R.M., *Acute lateral periodontal abscess*. Br Dent J, 1984. **157**(9): p. 311-2.
66. O'Leary, T.J., S.M. Standish, and R.S. Bloomer, *Severe periodontal destruction following impression procedures*. J Periodontol, 1973. **44**(1): p. 43-8.
67. Fleming, P. and J. Strawbridge, *Lateral periodontal abscess in a child*. J Pedod, 1989. **13**(3): p. 280-3.
68. Fuss, Z., I.B. Bender, and B.D. Rickoff, *An unusual periodontal abscess*. J Endod, 1986. **12**(3): p. 116-8.
69. Dello Russo, N.M., *The post-prophylaxis periodontal abscess: etiology and treatment*. Int J Periodontics Restorative Dent, 1985. **5**(1): p. 28-37.
70. Smith, R.G. and R.M. Davies, *Acute lateral periodontal abscesses*. Br Dent J, 1986. **161**(5): p. 176-8.
71. Kareha, M.J., E.S. Rosenberg, and H. DeHaven, *Therapeutic considerations in the management of a periodontal abscess with an intrabony defect*. J Clin Periodontol, 1981. **8**(5): p. 375-86.

72. Goldman HM, C.D., *Characteristics of periodontal diseases*. 1973(In: Goldman HM, Cohen DW, eds. *Periodontal Therapy*, 5th ed. SLot uis: C.V. Mosby;): p. 74. .
73. Yang, B.Q., [*Analysis of bacterial cultures from 40 cases of periodontal abscess and their drug sensitivity*]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 1987. **22**(6): p. 327-8, 369.
74. Chace, R., Sr. and S.B. Low, *Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study*. *J Periodontol*, 1993. **64**(8): p. 701-5.
75. Topoll, H.H., D.E. Lange, and R.F. Müller, *Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy*. *J Clin Periodontol*, 1990. **17**(4): p. 268-72.
76. Helovuo, H., K. Hakkarainen, and K. Paunio, *Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin*. *Oral Microbiol Immunol*, 1993. **8**(2): p. 75-9.
77. Ueta, E., et al., *Prevalence of diabetes mellitus in odontogenic infections and oral candidiasis: an analysis of neutrophil suppression*. *J Oral Pathol Med*, 1993. **22**(4): p. 168-74.
78. Lalla, E., I.B. Lamster, and A.M. Schmidt, *Enhanced interaction of advanced glycation end products with their cellular receptor RAGE: implications for the pathogenesis of accelerated periodontal disease in diabetes*. *Ann Periodontol*, 1998. **3**(1): p. 13-9.
79. Abrams, H., C.J. Cunningham, and S.B. Lee, *Periodontal changes following coronal/root perforation and formocresol pulpotomy*. *J Endod*, 1992. **18**(8): p. 399-402.
80. Croft, L.K., *Periodontal abscess from enamel pearl*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1971. **32**(1): p. 154.

81. Chen, R.J., J.F. Yang, and T.C. Chao, *Invaginated tooth associated with periodontal abscess*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1990. **69**(5): p. 659.
82. Darbar, U.R., S.M. Hooper, and M. Midda, *The periodontal abscess--a case report*. Braz Dent J, 1993. **4**(1): p. 37-41.
83. Fasciano, R.W. and R.C. Fazio, *Periodontal regeneration with long term tetracycline therapy*. Quintessence Int Dent Dig, 1981. **12**(10): p. 1081-8.
84. DeWitt, G.V., C.M. Cobb, and W.J. Killoy, *The acute periodontal abscess: microbial penetration of the soft tissue wall*. Int J Periodontics Restorative Dent, 1985. **5**(1): p. 38-51.
85. Newman, M.G. and T.N. Sims, *The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess*. J Periodontol, 1979. **50**(7): p. 350-4.
86. Fine, D.H., *Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy: A report of 3 cases*. Journal of clinical periodontology, 1994. **21**(2): p. 98-106.
87. Koller-Benz, G., A. Fritzsche, and R. Krapf, *Nifedipine induced gingival abscesses*. Bmj, 1992. **304**(6836): p. 1225.
88. Kaldahl, W.B., et al., *Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities*. J Periodontol, 1996. **67**(2): p. 93-102.
89. Garrett, S., et al., *Comparison of a bioabsorbable GTR barrier to a non-absorbable barrier in treating human class II furcation defects. A multi-center parallel design randomized single-blind trial*. Journal of periodontology, 1997. **68**(7): p. 667-675.
90. Holtzclaw, D. and N. Toscano, *Speech pattern improvement following gingivectomy of excess palatal tissue*. J Periodontol, 2008. **79**(10): p. 2006-9.

91. Dahlen, G., A. Basic, and J. Bylund, *Importance of virulence factors for the persistence of oral bacteria in the inflamed gingival crevice and in the pathogenesis of periodontal disease*. Journal of clinical medicine, 2019. **8**(9): p. 1339.
92. Dominguez-Bello, M.G., et al., *Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010. **107**(26): p. 11971-11975.
93. Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid, *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics*. The Journal of nutrition, 1995. **125**(6): p. 1401-1412.
94. Moore, W. and L.V. Holdeman, *Special problems associated with the isolation and identification of intestinal bacteria in fecal flora studies*. The American journal of clinical nutrition, 1974. **27**(12): p. 1450-1455.
95. Socransky, S. and S. Manganiello, *The oral microbiota of man from birth to senility*. Journal of periodontology, 1971. **42**(8): p. 485-496.
96. Evaldson, G., et al., *The normal human anaerobic microflora*. Scand J Infect Dis Suppl, 1982. **35**(1): p. 9-15.
97. Vo, R., Duerden BI. *The development of bacterial flora in normal neonates*. J Med Microbial, 1981. **14**: p. 51-62.
98. Könönen, E., S. Asikainen, and H. Jousimies-Somer, *The early colonization of gram-negative anaerobic bacteria in edentulous infants*. Oral microbiology and immunology, 1992. **7**(1): p. 28-31.
99. Pearce, C., et al., *Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates*. Journal of medical microbiology, 1995. **42**(1): p. 67-72.

100. Könönen, E., *Oral colonization by anaerobic bacteria during childhood: role in health and disease*. Oral diseases, 1999. 5(4): p. 278-285.
101. Könönen, E., *Development of oral bacterial flora in young children*. Annals of medicine, 2000. 32(2): p. 107-112.
102. Law, V., W. Seow, and G. Townsend, *Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children*. Australian dental journal, 2007. 52(2): p. 93-100.
103. Carlsson, J., H. Grahnen, and G. Jonsson, *Lactobacilli and streptococci in the mouth of children*. Caries research, 1975. 9(5): p. 333-339.
104. Caufield, P.W., et al., *Natural history of Streptococcus sanguinis in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity*. Infection and immunity, 2000. 68(7): p. 4018-4023.
105. Loe, H., E. Theilade, and S.B. Jensen, *Experimental gingivitis in man*. The Journal of periodontology, 1965. 36(3): p. 177-187.
106. Brailsford, S., et al., *The microflora of the erupting first permanent molar*. Caries research, 2005. 39(1): p. 78-84.
107. Bik, E.M., et al., *Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals*. The ISME journal, 2010. 4(8): p. 962-974.
108. Palmer Jr, R.J., *Composition and development of oral bacterial communities*. Periodontology 2000, 2014. 64(1): p. 20-39.
109. Walker, C.B., *Selected antimicrobial agents: mechanisms of action, side effects and drug interactions*. Periodontology 2000, 1996. 10(1): p. 12-28.
110. Reed, W.P. and R.C. Williams Jr, *Bacterial adherence: first step in pathogenesis of certain infections*. Journal of chronic diseases, 1978. 31(2): p. 67-72.

111. Christersson, L.A., et al., *Tissue localization of Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontitis: I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies*. Journal of periodontology, 1987. **58**(8): p. 529-539.
112. Genco, C.A. and R.J. Arko, [10] *Animal chamber models for study of host-parasite interactions*. Methods in enzymology, 1994. **235**: p. 120-140.
113. Slots, J. and M.A. Listgarten, *Bacteroides gingivalis, Bacteroides intermedius and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal diseases*. Journal of clinical periodontology, 1988. **15**(2): p. 85-93.
114. Siqueira, W.L. and F.G. Oppenheim, *Small molecular weight proteins/peptides present in the in vivo formed human acquired enamel pellicle*. Arch Oral Biol, 2009. **54**(5): p. 437-44.
115. Siqueira, W.L., et al., *Identification of protein components in in vivo human acquired enamel pellicle using LC-ESI-MS/MS*. J Proteome Res, 2007. **6**(6): p. 2152-60.
116. Yao, Y., et al., *Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches*. J Biol Chem, 2003. **278**(7): p. 5300-8.
117. Hannig, M., *Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period*. Clin Oral Investig, 1999. **3**(2): p. 88-95.
118. Hannig, C., et al., *Immobilisation and activity of human alpha-amylase in the acquired enamel pellicle*. Arch Oral Biol, 2004. **49**(6): p. 469-75.
119. Hannig, C., et al., *Lysozyme activity in the initially formed in situ pellicle*. Arch Oral Biol, 2005. **50**(9): p. 821-8.

120. Hannig, C., B. Spitzmüller, and M. Hannig, *Characterisation of lysozyme activity in the in situ pellicle using a fluorimetric assay*. Clin Oral Investig, 2009. **13**(1): p. 15-21.
121. Hannig, C., et al., *Detection and activity of peroxidase in the in situ formed enamel pellicle*. Arch Oral Biol, 2008. **53**(9): p. 849-58.
122. Dige, I., et al., *Actinomyces naeslundii in initial dental biofilm formation*. Microbiology (Reading), 2009. **155**(Pt 7): p. 2116-2126.
123. Nyvad, B. and O. Fejerskov, *Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo*. Scand J Dent Res, 1987. **95**(4): p. 287-96.
124. Wake, N., et al., *Temporal dynamics of bacterial microbiota in the human oral cavity determined using an in situ model of dental biofilms*. NPJ Biofilms Microbiomes, 2016. **2**: p. 16018.
125. Diaz, P.I., et al., *Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel*. Appl Environ Microbiol, 2006. **72**(4): p. 2837-48.
126. Kolenbrander, P.E., et al., *Bacterial interactions and successions during plaque development*. Periodontol 2000, 2006. **42**: p. 47-79.
127. Kaplan, C.W., et al., *The Fusobacterium nucleatum outer membrane protein RadD is an arginine-inhibitable adhesin required for inter-species adherence and the structured architecture of multispecies biofilm*. Mol Microbiol, 2009. **71**(1): p. 35-47.
128. Kaufman, J. and J.M. DiRienzo, *Isolation of a corn cob (coaggregation) receptor polypeptide from Fusobacterium nucleatum*. Infect Immun, 1989. **57**(2): p. 331-7.

129. Weiss, E.I., et al., *Identification of the rhamnose-sensitive adhesin of Capnocytophaga ochracea ATCC 33596*. Arch Oral Biol, 1990. **35 Suppl**: p. 127s-130s.
130. Weiss, E.I., et al., *Characterization of monoclonal antibodies to fimbria-associated adhesins of Bacteroides loescheii PK1295*. Infect Immun, 1988. **56**(1): p. 219-24.
131. Weiss, E.I., et al., *Localization and enumeration of fimbria-associated adhesins of Bacteroides loescheii*. J Bacteriol, 1988. **170**(3): p. 1123-8.
132. Hsu, S., et al., *Adhesive properties of viridans streptococcal species*. Microbial ecology in health and disease, 1994. **7**(3): p. 125-137.
133. Kolenbrander, P.E., R.N. Andersen, and L.V. Moore, *Intragenetic coaggregation among strains of human oral bacteria: potential role in primary colonization of the tooth surface*. Appl Environ Microbiol, 1990. **56**(12): p. 3890-4.
134. Nyvad, B. and M. Kilian, *Microflora associated with experimental root surface caries in humans*. Infect Immun, 1990. **58**(6): p. 1628-33.
135. Skopek, R.J., et al., *Dental plaque development on defined streptococcal surfaces*. Oral Microbiol Immunol, 1993. **8**(1): p. 16-23.
136. Kolenbrander, P.E. and J. London, *Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence*. J Bacteriol, 1993. **175**(11): p. 3247-52.
137. Kinder, S.A. and S.C. Holt, *Characterization of coaggregation between Bacteroides gingivalis T22 and Fusobacterium nucleatum T18*. Infect Immun, 1989. **57**(11): p. 3425-33.
138. Kolenbrander, P.E. and R.N. Andersen, *Inhibition of coaggregation between Fusobacterium nucleatum and Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis by lactose and related sugars*. Infect Immun, 1989. **57**(10): p. 3204-9.

139. Kolenbrander, P.E., et al., *Intergeneric coaggregation of oral Treponema spp. with Fusobacterium spp. and intrageneric coaggregation among Fusobacterium spp.* Infect Immun, 1995. **63**(12): p. 4584-8.
140. Kolenbrander, P.E., et al., *Communication among oral bacteria.* Microbiol Mol Biol Rev, 2002. **66**(3): p. 486-505, table of contents.
141. Kidd, E.A. and O. Fejerskov, *What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms.* J Dent Res, 2004. **83 Spec No C**: p. C35-8.
142. Socransky, S., et al., *Microbial complexes in subgingival plaque.* Journal of clinical periodontology, 1998. **25**(2): p. 134-144.
143. Tabaqchali, S., *Anaerobic infections in the head and neck region.* Scand J Infect Dis Suppl, 1988. **57**: p. 24-34.
144. Herrera, D., et al., *The periodontal abscess (I). Clinical and microbiological findings.* J Clin Periodontol, 2000. **27**(6): p. 387-94.
145. Eguchi, T., et al., *Microbial changes in patients with acute periodontal abscess after treatment detected by PadoTest.* Oral Dis, 2008. **14**(2): p. 180-4.
146. Hafström, C.A., et al., *Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses.* J Periodontol, 1994. **65**(11): p. 1022-8.
147. Jaramillo, A., et al., *Clinical and microbiological characterization of periodontal abscesses.* J Clin Periodontol, 2005. **32**(12): p. 1213-8.
148. van Winkelhoff, A.J., A.W. Carlee, and J. de Graaff, *Bacteroides endodontalis and other black-pigmented Bacteroides species in odontogenic abscesses.* Infect Immun, 1985. **49**(3): p. 494-7.
149. Hafström, L.R., et al., *Isolated hyperthermic liver perfusion with chemotherapy for liver malignancy.* Surg Oncol, 1994. **3**(2): p. 103-8.

150. Chen, J., et al., *Microbiota in Human Periodontal Abscess Revealed by 16S rDNA Sequencing*. Front Microbiol, 2019. **10**: p. 1723.
151. Jansen, H.J., et al., *The importance of immunoglobulin-breakdown supporting the growth of bacteria in oral abscesses*. J Clin Periodontol, 1996. **23**(8): p. 717-23.
152. Jansen, H.J. and J.S. van der Hoeven, *Protein degradation by Prevotella intermedia and Actinomyces meyeri supports the growth of non-protein-cleaving oral bacteria in serum*. J Clin Periodontol, 1997. **24**(5): p. 346-53.
153. Baumgartner, J.C., et al., *Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction*. J Endod, 2004. **30**(3): p. 141-4.
154. Herrera, D., et al., *The periodontal abscess (II). Short-term clinical and microbiological efficacy of 2 systemic antibiotic regimes*. J Clin Periodontol, 2000. **27**(6): p. 395-404.
155. Ashimoto, A., et al. *PCR detection of periodontal/endodontic pathogens associated with abscess formation*. in *Journal of Dental Research*. 1998. SAGE PUBLICATIONS INC 2455 TELLER RD, THOUSAND OAKS, CA 91320 USA.
156. Contreras, A., et al., *Importance of Dialister pneumosintes in human periodontitis*. Oral Microbiol Immunol, 2000. **15**(4): p. 269-72.
157. Ghayoumi, N., C. Chen, and J. Slots, *Dialister pneumosintes, a new putative periodontal pathogen*. J Periodontal Res, 2002. **37**(1): p. 75-8.
158. Karaçam, K., *PERİODONTAL APSELERDEN KÜLTÜR YARDIMIYLA İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN 16s PCR ve DNA DİZİ ANALİZİ ile TANIMLANMASI*. 2017: p. 53.

159. Listgarten, M.A. and L. Helldén, *Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans*. J Clin Periodontol, 1978. **5**(2): p. 115-32.
160. Listgarten, M.A., J. Lindhe, and L. Hellden, *Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. Clinical, microbiological, and histological observations*. J Clin Periodontol, 1978. **5**(4): p. 246-71.
161. Omar, A.A., et al., *Darkground microscopy of subgingival plaque from the top to the bottom of the periodontal pocket*. J Clin Periodontol, 1990. **17**(6): p. 364-70.
162. Socransky, S.S., et al., *Difficulties encountered in the search for the etiologic agents of destructive periodontal diseases*. J Clin Periodontol, 1987. **14**(10): p. 588-93.
163. Greenstein, G., *Microbiologic assessments to enhance periodontal diagnosis*. J Periodontol, 1988. **59**(8): p. 508-15.
164. Marchal, N., J. Bourdon, and C. Richard, *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification des bactéries*. Nouvelle édition Paris: Doin, 1991.
165. Lamster, I., et al., *Current status of tests for periodontal disease*. Advances in dental research, 1993. **7**(2): p. 182-190.
166. Sakamoto, M., et al., *Reclassification of Bacteroides forsythus (Tanner et al. 1986) as Tannerella forsythensis corrig., gen. nov., comb. nov.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002. **52**(3): p. 841-849.
167. Sanz, M., et al., *Methods of detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythensis in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review*. J Clin Periodontol, 2004. **31**(12): p. 1034-47.

168. Loesche, W.J., et al., *Comparison of the benzoyl-DL-arginine-naphthylamide (BANA) test, DNA probes, and immunological reagents for ability to detect anaerobic periodontal infections due to Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Bacteroides forsythus.* J Clin Microbiol, 1992. **30**(2): p. 427-33.
169. Cox, S.W., et al., *A simple, combined fluorogenic and chromogenic method for the assay of proteases in gingival crevicular fluid.* J Periodontal Res, 1990. **25**(3): p. 164-71.
170. Saiki, R.K., et al., *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase.* Science, 1988. **239**(4839): p. 487-91.
171. Gibbs, R.A., *DNA amplification by the polymerase chain reaction.* Anal Chem, 1990. **62**(13): p. 1202-14.
172. Bonta, Y., et al., *Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival plaque: comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans.* Journal of dental research, 1985. **64**(5): p. 793-798.
173. Bragd, L., et al., *The capability of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius to indicate progressive periodontitis; a retrospective study.* Journal of clinical periodontology, 1987. **14**(2): p. 95-99.
174. Slots, J., et al., *Detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Bacteroides gingivalis in subgingival smears by the indirect fluorescent-antibody technique.* Journal of periodontal research, 1985. **20**(6): p. 613-620.
175. Zambon, J., et al., *Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival dental plaque: Comparison of indirect immunofluorescence microscopy with*

- bacterial culture for detection of Bacteroides gingivalis*. Journal of periodontology, 1985. **56**: p. 32-40.
176. Nisengard, R.J., et al., *Development of a rapid latex agglutination test for periodontal pathogens*. Journal of periodontology, 1992. **63**(7): p. 611-617.
 177. Dawson, M.T., et al., *Gene technology*. 1996: Taylor & Francis.
 178. Tanner, A., et al., *Rapid chair-side DNA probe assay of Bacteroides forsythus and Porphyromonas gingivalis*. Journal of periodontal research, 1998. **33**(2): p. 105-117.
 179. Crockett, A.O. and C.T. Wittwer, *Fluorescein-labeled oligonucleotides for real-time PCR: using the inherent quenching of deoxyguanosine nucleotides*. Analytical biochemistry, 2001. **290**(1): p. 89-97.
 180. Haffajee, A.D., et al., *The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases*. J Clin Periodontol, 1997. **24**(5): p. 324-34.
 181. Haffajee, A.D., et al., *Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters*. J Clin Periodontol, 2001. **28**(10): p. 947-54.
 182. Papapanou, P.N., et al., *Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression*. J Periodontol, 1997. **68**(7): p. 651-66.
 183. Levy, R.M., et al., *The short-term effect of apically repositioned flap surgery on the composition of the subgingival microbiota*. Int J Periodontics Restorative Dent, 1999. **19**(6): p. 555-67.
 184. Ximénez-Fyvie, L.A., A.D. Haffajee, and S.S. Socransky, *Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis*. J Clin Periodontol, 2000. **27**(9): p. 648-57.

185. Feres, M., et al., *Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole.* J Clin Periodontol, 2001. **28**(7): p. 597-609.
186. Papapanou, P.N., et al., *"Checkerboard" versus culture: a comparison between two methods for identification of subgingival microbiota.* Eur J Oral Sci, 1997. **105**(5 Pt 1): p. 389-96.
187. Schochetman, G., C.Y. Ou, and W.K. Jones, *Polymerase chain reaction.* J Infect Dis, 1988. **158**(6): p. 1154-7.
188. Shibata, D., *The polymerase chain reaction and the molecular genetic analysis of tissue biopsies.* Diagnostic molecular pathology: a practical approach, 1992. **2**: p. 85-111.
189. Jankowski, J.A. and J.M. Polak, *Clinical gene analysis and manipulation: Tools, techniques and troubleshooting.* 1996: Cambridge University Press.
190. Zambon, J.J. and V.I. Haraszthy, *The laboratory diagnosis of periodontal infections.* Periodontology 2000, 1995. **7**(1): p. 69-82.
191. Neumaier, M., et al., *Fundamentals of quality assessment of molecular amplification methods in clinical diagnostics.* Clinical Chemistry, 1998. **44**(1): p. 12-26.
192. Riggio, M., et al., *Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque samples.* Journal of periodontal research, 1996. **31**(7): p. 496-501.
193. Morillo, J.M., et al., *Quantitative real-time PCR based on single copy gene sequence for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and*

- Porphyromonas gingivalis*. Journal of periodontal research, 2003. **38**(5): p. 518-524.
194. Eisenstein, B.I., *The polymerase chain reaction. A new method of using molecular genetics for medical diagnosis*. N Engl J Med, 1990. **322**(3): p. 178-83.
195. Arı, Ş., *DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması, moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi, Yayın, 1999(1): p. 57-68.
196. Scharf, S.J., G.T. Horn, and H.A. Erlich, *Direct cloning and sequence analysis of enzymatically amplified genomic sequences*. Science, 1986. **233**(4768): p. 1076-1078.
197. Mullis, K., et al. *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction*. in *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*. 1986. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
198. Erlich, H.A., D. Gelfand, and J.J. Sninsky, *Recent advances in the polymerase chain reaction*. Science, 1991. **252**(5013): p. 1643-1651.
199. Henegariu, O., et al., *Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol*. Biotechniques, 1997. **23**(3): p. 504-11.
200. Greenstein, G., *Microbiologic assessments to enhance periodontal diagnosis*. Journal of periodontology, 1988. **59**(8): p. 508-515.
201. Tran, S.D. and J.D. Rudney, *Multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis*. Journal of clinical microbiology, 1996. **34**(11): p. 2674-2678.

202. Henegariu, O., et al., *Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol*. Biotechniques, 1997. **23**(3): p. 504-511.
203. Garcia, L., et al., *Rapid detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Prevotella intermedia and Porphyromona gingivalis by multiplex PCR*. Journal of periodontal research, 1998. **33**(1): p. 59-64.
204. McPherson, M. and S. Møller, *Reagents and instrumentation*. 2000, Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers Ltd. p. 23-66.
205. RÚÁas, I., et al., *Oral treponemes in primary root canal infections as detected by nested PCR*. International endodontic journal, 2003. **36**(1): p. 20-26.
206. Belgrader, P., et al., *PCR detection of bacteria in seven minutes*. Science, 1999. **284**(5413): p. 449-450.
207. Heid, C.A., et al., *Real time quantitative PCR*. Genome research, 1996. **6**(10): p. 986-994.
208. Bustin, S.A., *Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays*. J Mol Endocrinol, 2000. **25**(2): p. 169-93.
209. Holland, P.M., et al., *Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of Thermus aquaticus DNA polymerase*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(16): p. 7276-80.
210. Mhlanga, M.M. and L. Malmberg, *Using molecular beacons to detect single-nucleotide polymorphisms with real-time PCR*. Methods, 2001. **25**(4): p. 463-71.
211. Shelburne, C.E., et al., *Quantitation of Bacteroides forsythus in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction*. J Microbiol Methods, 2000. **39**(2): p. 97-107.

212. Lyons, S.R., A.L. Griffen, and E.J. Leys, *Quantitative real-time PCR for Porphyromonas gingivalis and total bacteria*. J Clin Microbiol, 2000. **38**(6): p. 2362-5.
213. Sakamoto, M., et al., *Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR*. Microbiol Immunol, 2001. **45**(1): p. 39-44.
214. Chen, J., et al., *Microbiota in human periodontal abscess revealed by 16S rDNA sequencing*. Frontiers in microbiology, 2019. **10**: p. 1723.
215. Elufisan, T.O., et al., *Complete genome sequence of stenotrophomonas maltophilia strain SVIA2, isolated from crude oil-contaminated soil in Tabasco, Mexico*. Microbiology resource announcements, 2019. **8**(30).
216. Rôças, I.N. and J.F. Siqueira, *Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease*. Journal of clinical microbiology, 2012. **50**(5): p. 1721-1724.
217. Antunes, H.S., et al., *Total and specific bacterial levels in the apical root canal system of teeth with post-treatment apical periodontitis*. Journal of endodontics, 2015. **41**(7): p. 1037-1042.
218. Zandi, H., et al., *Antibacterial effectiveness of 2 root canal irrigants in root-filled teeth with infection: a randomized clinical trial*. Journal of endodontics, 2016. **42**(9): p. 1307-1313.
219. Sakamoto, M., et al., *Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR*. Microbiology and immunology, 2001. **45**(1): p. 39-44.
220. Maeda, H., et al., *Quantitative real-time PCR using TaqMan and SYBR Green for Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Prevotella*

- intermedia*, *tetQ* gene and total bacteria. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2003. **39**(1): p. 81-86.
221. Orrù, G., et al., *Usefulness of real time PCR for the differentiation and quantification of 652 and JP2 Actinobacillus actinomycetemcomitans genotypes in dental plaque and saliva*. BMC infectious diseases, 2006. **6**(1): p. 1-10.
 222. Goncharoff, P., et al., *Identification of Actinobacillus actinomycetemcomitans: polymerase chain reaction amplification of IktA-specific sequences*. Oral microbiology and immunology, 1993. **8**(2): p. 105-110.
 223. Park, S.-N., Y.K. Lim, and J.-K. Kook, *Development of quantitative real-time PCR primers for detecting 42 oral bacterial species*. Archives of microbiology, 2013. **195**(7): p. 473-482.
 224. Suzuki, N., et al., *Quantitative microbiological study of subgingival plaque by real-time PCR shows correlation between levels of Tannerella forsythensis and Fusobacterium spp*. Journal of Clinical Microbiology, 2004. **42**(5): p. 2255-2257.
 225. Chaban, B., et al., *Development of cpn60-based real-time quantitative PCR assays for the detection of 14 Campylobacter species and application to screening of canine fecal samples*. Applied and environmental microbiology, 2009. **75**(10): p. 3055-3061.
 226. Price, R., et al., *Targeted profiling of oral bacteria in human saliva and in vitro biofilms with quantitative real-time PCR*. Biofouling, 2007. **23**(3): p. 203-213.
 227. Slots, J., et al., *Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction*. Clinical Infectious Diseases, 1995. **20**(Supplement_2): p. S304-S307.

228. Siqueira Jr, J.F. and I.N. Rôças, *Simultaneous detection of Dialister pneumosintes and Filifactor alocis in endodontic infections by 16S rDNA-directed multiplex PCR*. Journal of endodontics, 2004. **30**(12): p. 851-854.
229. Martin, F.E., et al., *Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis*. Journal of clinical microbiology, 2002. **40**(5): p. 1698-1704.
230. Greiner, O., et al., *Quantitative detection of Streptococcus pneumoniae in nasopharyngeal secretions by real-time PCR*. Journal of clinical microbiology, 2001. **39**(9): p. 3129-3134.
231. Wolff, D., H. Staehle, and B. Wolff, *Amplification of minute amounts of oral bacterial DNA for real-time quantitative PCR analysis*. Caries research, 2010. **44**(5): p. 498-504.
232. Suzuki, N., et al., *Real-time TaqMan PCR for quantifying oral bacteria during biofilm formation*. Journal of clinical microbiology, 2004. **42**(8): p. 3827-3830.
233. Kommerein, N., et al., *An oral multispecies biofilm model for high content screening applications*. PloS one, 2017. **12**(3): p. e0173973.
234. Kilic, A. and A.C. Basustaoglu, *Double triplex real-time PCR assay for simultaneous detection of Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus hominis, and Staphylococcus haemolyticus and determination of their methicillin resistance directly from positive blood culture bottles*. Research in microbiology, 2011. **162**(10): p. 1060-1066.
235. Fujii, M., et al., *Corynebacterium kroppenstedtii in granulomatous mastitis: Analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded biopsy specimens by*

- immunostaining using low-specificity bacterial antisera and real-time polymerase chain reaction*. Pathology international, 2018. **68**(7): p. 409-418.
236. Png, C.W., et al., *Mucolytic bacteria with increased prevalence in ibd mucosa augmentin vitrouitilization of mucin by other bacteria*. Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG, 2010. **105**(11): p. 2420-2428.
 237. Ott, S.J., et al., *Quantification of intestinal bacterial populations by real-time PCR with a universal primer set and minor groove binder probes: a global approach to the enteric flora*. Journal of clinical microbiology, 2004. **42**(6): p. 2566-2572.
 238. Maniatis, T., *Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory, New York. A laboratory manual.*, 1982. **68**.
 239. Topoll, H., D. Lange, and R. Müller, *Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy*. Journal of Clinical Periodontology, 1990. **17**(4): p. 268-272.
 240. Newman, M.G. and T.N. Sims, *The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess*. Journal of Periodontology, 1979. **50**(7): p. 350-354.
 241. Herrera, D., et al., *The periodontal abscess (I). Clinical and microbiological findings*. Journal of Clinical Periodontology, 2000. **27**(6): p. 387-394.
 242. Jaramillo, A., et al., *Clinical and microbiological characterization of periodontal abscesses*. Journal of clinical periodontology, 2005. **32**(12): p. 1213-1218.
 243. Irshad, M., et al., *Characterization and Antimicrobial Susceptibility of Pathogens Associated with Periodontal Abscess*. Antibiotics (Basel), 2020. **9**(10).
 244. Puletic, M., et al., *Detection rates of periodontal bacteria and herpesviruses in different forms of periodontal disease*. Microbiol Immunol, 2020. **64**(12): p. 815-824.

245. Herrera, D., et al., *The periodontal abscess (II). Short-term clinical and microbiological efficacy of 2 systemic antibiotic regimes*. Journal of Clinical Periodontology, 2000. **27**(6): p. 395-404.
246. Puletic, M., et al., *Detection rates of periodontal bacteria and herpesviruses in different forms of periodontal disease*. Microbiology and Immunology, 2020. **64**(12): p. 815-824.
247. Nonnenmacher, C., et al., *Periodontal microbiota in patients with coronary artery disease measured by real-time polymerase chain reaction: a case-control study*. J Periodontol, 2007. **78**(9): p. 1724-30.
248. Heikkinen, A.M., et al., *Effect of teenage smoking on the prevalence of periodontal bacteria*. Clin Oral Investig, 2012. **16**(2): p. 571-80.
249. Umeda, M., et al., *Risk indicators for harboring periodontal pathogens*. J Periodontol, 1998. **69**(10): p. 1111-8.
250. Collins, L. and T. Diamond, *Fusobacterium nucleatum causing a pyogenic liver abscess: a rare complication of periodontal disease that occurred during the COVID-19 pandemic*. BMJ Case Rep, 2021. **14**(1).
251. Rodríguez Duque, J.C., et al., *Fusobacterium nucleatum prosthetic hip infection: Case report and review of the literature of unusual anaerobic prosthetic joint infection*. Anaerobe, 2018. **54**: p. 75-82.
252. Kearney, A. and B. Knoll, *Myopericarditis associated with Fusobacterium nucleatum-caused liver abscess*. Infect Dis (Lond), 2015. **47**(3): p. 187-9.
253. Henne, K., et al., *Shifts in Campylobacter species abundance may reflect general microbial community shifts in periodontitis progression*. Journal of oral microbiology, 2014. **6**(1): p. 25874.

254. Martiny, D., et al., *MALDI-TOF MS contribution to the diagnosis of Campylobacter rectus multiple skull base and brain abscesses*. New Microbes New Infect, 2017. **19**: p. 83-86.
255. Rams, T.E., et al., *Peptostreptococcus micros in human periodontitis*. Oral Microbiol Immunol, 1992. **7**(1): p. 1-6.
256. Takahashi, M., et al., *A Case of Brain Abscess Caused by Actinomyces Cardiffensis and Parvimonas Micra*. Tokai J Exp Clin Med, 2020. **45**(4): p. 189-194.
257. Ferraro, C.T., et al., *Detection of Dialister pneumosintes in the subgingival biofilm of subjects with periodontal disease*. Anaerobe, 2007. **13**(5-6): p. 244-8.
258. Collins, J.R., et al., *Periodontal pathogens and tetracycline resistance genes in subgingival biofilm of periodontally healthy and diseased Dominican adults*. Clin Oral Investig, 2016. **20**(2): p. 349-56.
259. Rousée, J.M., et al., *Dialister pneumosintes associated with human brain abscesses*. J Clin Microbiol, 2002. **40**(10): p. 3871-3.
260. Kaiser, M., et al., *Severe Pneumonia and Sepsis Caused by Dialister pneumosintes in an Adolescent*. Pathogens, 2021. **10**(6).
261. Gomes, S.C., et al., *Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens*. J Periodontol, 2006. **77**(9): p. 1483-90.
262. Balmasova, I.P., et al., *[Filifactor alocis and its role in the etiology of chronic periodontitis]*. Stomatologiya (Mosk), 2020. **99**(3): p. 78-82.
263. Hishiya, N., et al., *Filifactor alocis brain abscess identified by 16S ribosomal RNA gene sequencing: A case report*. J Infect Chemother, 2020. **26**(2): p. 305-307.

264. Gonçalves, C., et al., *Association of three putative periodontal pathogens with chronic periodontitis in Brazilian subjects*. J Appl Oral Sci, 2016. **24**(2): p. 181-5.
265. Cui, X., et al., *Subgingival microbiome in Chinese patients with generalized aggressive periodontitis compared to healthy controls*. Arch Oral Biol, 2019. **101**: p. 92-99.
266. van Winkelhoff, A.J., T.J. van Steenberghe, and J. de Graaff, *Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis: its role in endodontal infections*. J Endod, 1992. **18**(9): p. 431-4.
267. Lombardo Bedran, T.B., et al., *Porphyromonas endodontalis in chronic periodontitis: a clinical and microbiological cross-sectional study*. J Oral Microbiol, 2012. **4**.
268. Dahlén, G. and A. Leonhardt, *A new checkerboard panel for testing bacterial markers in periodontal disease*. Oral Microbiol Immunol, 2006. **21**(1): p. 6-11.
269. Siqueira Jr, J.F., et al., *Detection of putative oral pathogens in acute periradicular abscesses by 16S rDNA-directed polymerase chain reaction*. Journal of endodontics, 2001. **27**(3): p. 164-167.
270. Rôças, I.N. and J.F. Siqueira, Jr., *Frequency and levels of candidate endodontic pathogens in acute apical abscesses as compared to asymptomatic apical periodontitis*. PLoS One, 2018. **13**(1): p. e0190469.
271. Persson, G.R. and T. Imfeld, *[Periodontitis and cardiovascular disease]*. Ther Umsch, 2008. **65**(2): p. 121-6.
272. Jentsch, H., et al., *Streptococci in the Subgingival Biofilm and Periodontal Therapy*. Oral Health Prev Dent, 2021. **19**(1): p. 25-31.

273. Hafström, C. and G. Dahlén, *Pathogenicity of Prevotella intermedia and Prevotella nigrescens isolates in a wound chamber model in rabbits*. Oral Microbiol Immunol, 1997. **12**(3): p. 148-54.
274. Ochiai, K., et al., *Effect of co-aggregation on the pathogenicity of oral bacteria*. J Med Microbiol, 1993. **39**(3): p. 183-90.
275. Van Hoogmoed, C.G., et al., *Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains*. Oral Microbiol Immunol, 2008. **23**(1): p. 43-8.
276. Farooq, H., et al., *Streptococcus gordonii Empyema: A Rare Presentation of Streptococcus gordonii Infection*. Cureus, 2019. **11**(5): p. e4611.
277. El-Awady, A., et al., *Polymicrobial synergy within oral biofilm promotes invasion of dendritic cells and survival of consortia members*. NPJ Biofilms Microbiomes, 2019. **5**(1): p. 11.
278. Cook, G.S., J.W. Costerton, and R.J. Lamont, *Biofilm formation by Porphyromonas gingivalis and Streptococcus gordonii*. J Periodontal Res, 1998. **33**(6): p. 323-7.
279. Egland, P.G., L.D. Dû, and P.E. Kolenbrander, *Identification of independent Streptococcus gordonii SspA and SspB functions in coaggregation with Actinomyces naeslundii*. Infect Immun, 2001. **69**(12): p. 7512-6.
280. Tanner, A., et al., *Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects*. J Periodontal Res, 1996. **31**(3): p. 195-204.
281. Siqueira, J.F., Jr., et al., *Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections*. J Endod, 2002. **28**(3): p. 168-72.

282. Huang, R., et al., *Effects of Nicotine on Streptococcus gordonii Growth, Biofilm Formation, and Cell Aggregation*. Appl Environ Microbiol, 2014. **80**(23): p. 7212-8.
283. Patil, S., et al., *Oral microbial flora in health*. World J Dent, 2013. **4**(4): p. 262-6.
284. Heiddal, S., et al., *Native-valve endocarditis due to Neisseria sicca: case report and review*. Clinical infectious diseases, 1993. **16**(5): p. 667-670.
285. Halla, J., *Septic olecranon bursitis caused by Neisseria sicca*. The Journal of rheumatology, 1990. **17**(9): p. 1240-1241.
286. Tanner, A., et al., *Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis*. J Clin Periodontol, 1998. **25**(2): p. 85-98.
287. Ellen, R.P., *Establishment and distribution of Actinomyces viscosus and Actinomyces naeslundii in the human oral cavity*. Infect Immun, 1976. **14**(5): p. 1119-24.
288. Liljemark, W.F., et al., *Comparison of the distribution of Actinomyces in dental plaque on inserted enamel and natural tooth surfaces in periodontal health and disease*. Oral Microbiol Immunol, 1993. **8**(1): p. 5-15.
289. Yamaguchi, T., et al., *Preparation and characterization of an Actinomyces naeslundii aggregation factor that mediates coaggregation with Porphyromonas gingivalis*. J Periodontal Res, 1998. **33**(8): p. 460-8.
290. Supriya, B.G., et al., *Actinomyces naeslundii causing pulmonary endobronchial Actinomycosis - A case report*. Indian J Pathol Microbiol, 2019. **62**(2): p. 326-328.
291. Barberis, C., et al., *[Analysis of the diversity of Actinomyces/Actinotignum clinical isolates in a university hospital]*. Rev Argent Microbiol, 2021.

292. Kimura, H., [*Cervical actinomycosis due to Actinomyces naeslundii*]. Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho, 2011. **114**(7): p. 620-3.
293. Kamma, J.J., M. Nakou, and P.C. Baehni, *Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis*. J Periodontal Res, 1999. **34**(1): p. 25-33.
294. Tabata, A., et al., *A streptolysin S homologue is essential for β -haemolytic Streptococcus constellatus subsp. constellatus cytotoxicity*. Microbiology (Reading), 2014. **160**(Pt 5): p. 980-991.
295. Navarrete, D., S. Patil, and D. Dandachi, *Acute Streptococcus constellatus Pyogenic Liver Abscess Due to an Atypical Presentation of Sigmoid Diverticulitis Complicated by Pericolonic Abscess*. Cureus, 2020. **12**(10): p. e10940.
296. Khan, M.Z., et al., *Pyogenic Liver Abscess and Sepsis Caused by Streptococcus constellatus in the Immunocompetent Host*. Cureus, 2020. **12**(8): p. e9802.
297. McNeil, J.C., et al., *Complications of Otitis Media and Sinusitis Caused by Streptococcus anginosus Group Organisms in Children*. Pediatr Infect Dis J, 2020. **39**(2): p. 108-113.
298. Feng, Y., et al., *Pyogenic thigh abscess caused by Streptococcus constellatus subsp. constellatus in a patient with exacerbation of bronchiectasis: a case report*. Ann Palliat Med, 2021.
299. Tsai, W.C., L.K. Chang, and T.C. Lin, *Streptococcus constellatus causing myocardial abscess complicated by cerebritis*. J Microbiol Immunol Infect, 2004. **37**(1): p. 63-6.
300. Marques da Silva, R., et al., *Characterization of Streptococcus constellatus strains recovered from a brain abscess and periodontal pockets in an immunocompromised patient*. J Periodontol, 2004. **75**(12): p. 1720-3.

301. Rams, T.E., J.E. Degener, and A.J. van Winkelhoff, *Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota*. J Periodontol, 2014. **85**(1): p. 160-9.
302. Colombo, A.P., et al., *Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects*. J Clin Periodontol, 1998. **25**(2): p. 169-80.
303. Perry, A. and P.A. Lambert, *Propionibacterium acnes*. Letters in applied microbiology, 2006. **42**(3): p. 185-188.
304. Odunukan, O.W., F. Masannat, and J.J. Baka, *Propionibacterium Acnes Brain Abscess in an Immunocompetent Man in the Absence of Prior Neurosurgery*. S D Med, 2016. **69**(2): p. 71-3.
305. Barazi, S.A., et al., *Delayed postoperative intracerebral abscess caused by Propionibacterium acnes: case report and review of the literature*. Br J Neurosurg, 2003. **17**(4): p. 336-9.
306. Mohammed, S. and V.S. Kollu, *Rare case of Propionibacterium acnes-related splenic abscess*. BMJ Case Rep, 2018. **2018**.
307. Kurz, M., et al., *Propionibacterium acnes prosthetic valve endocarditis with abscess formation: a case report*. BMC Infect Dis, 2014. **14**: p. 105.
308. Veitch, D., et al., *Propionibacterium acnes as a cause of lung abscess in a cardiac transplant recipient*. BMJ Case Rep, 2015. **2015**.
309. Uçkay, I., et al., *Spondylodiscitis due to Propionibacterium acnes: report of twenty-nine cases and a review of the literature*. Clin Microbiol Infect, 2010. **16**(4): p. 353-8.
310. Niazi, S.A., et al., *Isolation of Propionibacterium acnes among the microbiota of primary endodontic infections with and without intraoral communication*. Clin Oral Investig, 2016. **20**(8): p. 2149-2160.

311. Ansiliero, R., et al., *Pathogenic Microbial Profile and Antibiotic Resistance Associated with Periodontitis*. Indian J Microbiol, 2021. **61**(1): p. 55-65.
312. Kamio, N., et al., *Porphyromonas gingivalis enhances pneumococcal adhesion to human alveolar epithelial cells by increasing expression of host platelet-activating factor receptor*. FEBS Lett, 2021. **595**(11): p. 1604-1612.
313. Puglisi, S., et al., *Bacteriological findings and antimicrobial resistance in odontogenic and non-odontogenic chronic maxillary sinusitis*. J Med Microbiol, 2011. **60**(Pt 9): p. 1353-1359.
314. Ito, Y., et al., *Lung abscess caused by Streptococcus pneumoniae serotype 6B*. Respir Med Case Rep, 2018. **23**: p. 71-73.
315. Cassano, P., G. Ciprandi, and D. Passali, *Acute mastoiditis in children*. Acta Biomed, 2020. **91**(1-s): p. 54-59.
316. Soares, R., et al., *Bartholin's gland abscess caused by Streptococcus pneumoniae in a sexually active young woman*. BMJ Case Rep, 2019. **12**(4).
317. Vieira Colombo, A.P., et al., *Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance*. Microb Pathog, 2016. **94**: p. 27-34.
318. Eltwisy, H.O., et al., *Pathogenesis of Staphylococcus haemolyticus on primary human skin fibroblast cells*. Virulence, 2020. **11**(1): p. 1142-1157.
319. Czekaj, T., M. Ciszewski, and E.M. Szewczyk, *Staphylococcus haemolyticus - an emerging threat in the twilight of the antibiotics age*. Microbiology (Reading), 2015. **161**(11): p. 2061-8.
320. Fredheim, E.G., et al., *Biofilm formation by Staphylococcus haemolyticus*. J Clin Microbiol, 2009. **47**(4): p. 1172-80.

321. Maleki, A., et al., *Alarming and Threatening Signals from Health Centers About Multi Drug Resistance Staphylococcus haemolyticus*. Infect Disord Drug Targets, 2019. **19**(2): p. 118-127.
322. Gamberini, S., et al., *Staphylococcus hemolyticus liver abscess as an uncommon presentation of silent colonic cancer: a case report*. Journal of the American Geriatrics Society, 2006. **54**(10): p. 1619-1620.
323. Long, P., et al., *Characterization of Morococcus cerebrosus gen. nov., sp. nov. and comparison with Neisseria mucosa*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1981. **31**(3): p. 294-301.
324. Trouvé, C., et al., *Acute Post-Cataract Endophthalmitis Caused by Morococcus cerebrosus*. Clinical Microbiology Newsletter, 2015. **8**(37): p. 66-67.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Ercan ERGÜN
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Faks:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Trabzon Yomra Fen Lisesi
Lisans:	Marmara Üniversitesi
Uzmanlık:	Atatürk Üniversitesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Almanca:	
Rusça:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



Bölümü : Dekanlık

Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/458

Konu : Etik Kurul Kararı

26.09.2019

Sayın:Prof.Dr.Turgut DEMİR
Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz
"Periodontal Apse Örneklerinin Bakteriyel İçeriğinin Real Time PCR ile Kantitatif
Olarak Araştırılması" isimli bilimsel çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof.Dr.Turgut DEMİR
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Periodontal Apse Örneklerinin Bakteriyel İçeriğinin Real Time PCR ile Kantitatif Olarak Araştırılması
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 06 Karar No: 28	Tarih: 26.09.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin TÜBİTAK tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurulu Başkanı

Prof.Dr.M.Hamitullah UYANIK
Üye

Prof.Dr.Zekai HALICI
Üye

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Üye

Doç.Dr.Zeynep KARAMAN ÖZLÜ
Üye

Doç.Dr.Aysenur AKSOY
Üye

Doç.Dr.Yasemin ÇAYIR
Üye

Dr.Öğr.Üy.Sinan MAZ
Üye

Dr.Öğr.Üy.İbrahim KARABULUT
Üye

Dr.Öğr.Üy.Murat KAYABEKİR
Üye

Emrah MELETLİOĞLU
Üye