PERİODONTAL APSELERDEN KÜLTÜR YARDIMIYLA İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN 16S PCR ve DNA DİZİ ANALİZİ ile TANILANMASI

Dt. Kübra KARAÇAM

Periodontoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turgut DEMİR
Uzmanlık Tezi - 2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTAL APSELERDEN KÜLTÜR YARDIMIYLA İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN 16S PCR ve DNA DİZİ ANALİZİ ile TANILANMASI

Dt. Kübra KARAÇAM

Periodontoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turgut DEMİR

ERZURUM
2017

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

PERİODONTAL APSELERDEN KÜLTÜR YARDIMIYLA İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN 16S PCR ve DNA DİZİ ANALİZİ ile TANILANMASI

Dt. Kübra KARAÇAM

Tez Savunma Tarihi: 15.09.2017

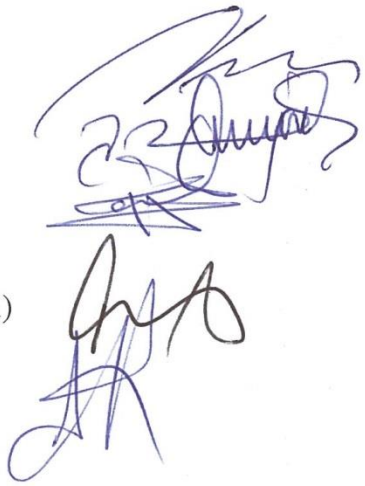
Tez Danışmanı: Prof. Dr.Turgut Demir (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Recep Orbak (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Kamile Erciyas (Gaziantep Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Cenk Fatih Çanakçı (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi: Prof.Dr. Alparslan Dilsiz (Atatürk Üniversitesi)



Onay

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

Prof. Dr. Taşkın Gürbüz
Fakülte Dekanı

Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **III**

ÖZET ..... **IV**

ABSTRACT ..... **VI**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VIII**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **IX**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **X**

1.GİRİŞ **1**

2.GENEL BİLGİLER **5**

2.1. Periodonsiyum Apseleri 7

2.2. Periodontal Apselerin Etyolojisi 9

2.2.1. Derin Bir Periodontal Cep Ağzının Tıkanması 9

2.2.2. Furkasyon İlişkisi 10

2.2.3. Sistemik Antibiyotik Tedavisi 10

2.2.4. Diyabet 11

2.3. Periodontitis varlığında Periodontal Apseler 11

2.4. Periodontitis yokluğunda Periodontal Apseler 13

2.5. Periodontal Apselerin Patogenezi 13

2.6. Mikrobiyoloji 14

2.6.1. Oral Flora 14

2.6.2. Dental Apse Mikrobiyotası 17

2.7. Periodontal Patojenleri Belirleme Yöntemleri 21

2.7.1. Faz Kontrast ve Karanlık Alan Mikroskopi 21

2.7.2. Bakteriyel Kültür Yöntemi 22

2.7.3. Enzimatik Testler 23
2.7.4. İmmünolojik Testler ve Nükleik Asit Probe Testleri 23
2.7.5. Checkerboard DNA-DNA Hibridizasyon Tekniği 24
2.7.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) 24
3. GEREÇ VE YÖNTEM 31
3.1. Hasta Seçimi 31
3.2. Periodontal Apse Örneklerinin Alınması 32
3.3. Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Besiyerlerinin Hazırlanışı 32
3.4. Bakterilerin İzolasyonu 34
3.5. Morfolojik Özelliklerin Belirlenmesi 36
3.6. Kültür Özelliklerinin Belirlenmesi 36
3.7. Fizyolojik Özelliklerin Belirlenmesi 36
3.8. İzolatların Genomik DNA'larının İzolasyonu 37
3.9. 16S rRNA Geninin PCR Yardımı ile Artırılması 37
3.10. 16S rDNA PCR Ürünlerinin Elektroforezi 39
3.11. 16S rRNA Geninin Baz Dizisinin Ortaya Çıkarılması ve Gen Bankasındaki Sıralarla Karşılaştırılması 40
4. BULGULAR 41
5. TARTIŞMA 45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 60
KAYNAKÇA 62
EKLER 79
EK-1. ÖZGEÇMİŞ 79
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU 80
EK-3. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU 82

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan değerli hocam Sayın Prof Dr. Turgut Demir'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, mesleki eğitimime katkılarını esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Recep ORBAK'a, Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI'ya, Prof. Dr. Alparslan DİLSİZ'e, Doç. Dr.Taner ARABACI'ya ve Yrd. Doç. Dr. Tuba AYDIN'a, araştırmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve büyük özveride bulunan Doç. Dr. Özlem BARIŞ'a, birlikte çalışmaktan ve aynı eğitim ortamını paylaşmaktan mutluluk duyduğum ve tez sürecimde ihtiyacım olan desteği bana sağlayıp yanımda olan sevgili bölüm arkadaşlarım Dt. Ayşe TORAMAN, Dt. Gülşah UYANIK, Dt. Zeliha AYTEKİN'e, diğer asistan arkadaşlarıma, değerli dostum Dt. Zeynep YILDIRIM'a ve hayatım boyunca her daim yanımda bulduğum bugünlere getirip maddi ve manevi desteklerini esirgemeyip hep daha iyiye teşvik eden, düşündüğüm zaman hep onurlanıp güven duyduğum canım anneme, babama, biricik ablama sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Periodontal Apselerden Kültür Yardımıyla İzole Edilen Bakterilerin

16S PCR ve DNA Dizi Analizi ile Tanılanması

Amaç: Gelişen teknoloji doğrultusunda periodontitis için yeni muhtemel patojenlerin ortaya konduğu bir dönemde, kültüre edilebilen fakat patojen olarak henüz sınıflandırılmamış bakterilerin periodontal apse için etken olmasını beklememek için bir neden yoktur. Periodontal apse mikrobiyolojisi üzerine günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu iyi tanınan bakteri türleri üzerinde yapılmış, hastalığa etken olabilecek bilinmeyen farklı bakteriler üzerine çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada periodontal apse örneklerindeki kültüre edilebilen aerob, fakültatif anaerob bakterilerden besiyerinde en yoğun olarak gelişen koloni örnekleri izole edilip, moleküler yöntemler ile tanımlanması hedeflenmiştir.

Materyal ve Metot: Sistemik olarak sağlıklı, son 4 hafta içinde herhangi bir antibiyotik kullanmamış, periodontal apse teşhisi konulmuş 20 gönülllü hastadan periodontal apse örnekleri alındıktan sonra örnekler bekletilmeden mikrobiyoloji laboratuvarına götürülerek kültüre edildi. 2.günün sonunda sayısal olarak fazla olan koloniler saflaştırılarak diğer karakterizasyon işlemlerine kadar %16'lik gliserol içeren NB (Nutrient Broth) içerisinde -86 ^{o}C'de saklandı. Daha sonra genomik DNA'nın izolasyonu yapıldı. Her bir izolattan saflaştırılan genomik DNA'dan, 16S rRNA genleri PCR yardımı ile çoğaltıldı. Elde edilen PCR ürünleri jel görüntüleme sistemi ile görüntülendikten sonra hizmet alımı yoluyla DNA dizi analizleri yapıldı. Analizler sonucu düzenlenen nükleotid dizileri NCBI kütüphaneleri (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi) ile homolojilerinin belirlenmesi için BLAST işlemi yapıldı. Sonuç olarak değerlendirmelerin sonunda gen dizileri GenBank'a girilerek kabul numaraları alındı.

Bulgular: 20 periodontal apse örneğinden 60 bakteri izole edilerek tanılandı. 33 örnekte *Streptococcus* türleri (*S. pneumoniae, S. mitis, S.gordonii, S.anginosus, S. sanguinis, S. massiliensis, Streptococcus spp., S.cristatus, S.sinensis, S.mutans*) 7 örnekte *Neisseria* türleri *(N. Sicca, N.elongata, N.subflava*), 4 örnekte *Actinomyces* türleri (*A. naeslundii, A. odontolyticus*), 3 örnekte *Staphylococcus* türleri, (*S.haemolyticus, S. equorum, Staphylococcus spp.*), 2 örnekte *Morococcus cerebrosus* ve birer örnekte *Moraxella spp., Bacillus spp., Enterococcus casseliflavus* türleri tespit edildi.

Sonuç: Çalışmamızda tespit edilen bakteri türleri vücudun farklı bölgelerinde apse ve ciddi enfeksiyonlara neden olan bakteriler oldukları ve yine bu bakteri türlerinin çoğunun periodontal apselerde ilk kez izole edilen türler oldukları literatür taramasında ortaya kondu. Periodontal apse içeriğinden alınan ve aerobik ve fakültatif anaerobik ortamda yoğun üreme gösteren bu bakteriler apse mikrobiyotasına yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: bakteri, mikrobiyoloji, PCR, periodontal apse

ABSTRACT

Identification of Bacteria Isolated from Periodontal Abscess with Culture Assay by 16S PCR and DNA Sequence Analysis

Aim: At a time when new potential pathogens for periodontitis are emerging in the direction of developing technology, there is no reason not to expect bacteria that are culturally but not yet classified as pathogenic to be causative agents for periodontal abscesses. Many studies on periodontal abscess microbiology have been done on well-known bacterial strains and no study has been done on unknown bacterial strains that may be causative of the disease. In this study, it is aimed to isolate and identify the most intensively growing colony samples from aerobic, facultative anaerobic bacteria cultured on periodontal abscess specimens by using molecular methods.

Material and Method: Periodontal abscess samples were obtained from 20 healthy volunteers who did not use any antibiotics during the last 4 weeks and were diagnosed as periodontal abscesses. The samples were then taken to the microbiology laboratory and were cultured. At the end of the second day, the numerically excess colonies were purified and stored at -86 ° C in NB (Nutrient Broth) containing 16% glycerol until further characterization. Then the genomic DNA was isolated. Each isolate was amplified from purified genomic DNA by 16S rRNA genes using PCR. After the obtained PCR products were visualized with a gel imaging system, DNA sequence analysis was performed through service intake. The BLAST procedure was performed to determine homologs with the nucleotide sequences NCBI libraries (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi) that were analyzed. As a result, at the end of the evaluations, the gene sequences were entered into GenBank and the acceptance numbers were obtained.

Results: Sixty bacteria of 20 periodontal abscesses were isolated and diagnosed. *Streptococcus* species (*S. pneumoniae, S. mitis, S. gordonii, S. anginosus, S. sanguinis, S. massiliensis, Streptococcus spp., S.cristatus, S. sinensis, S. mutans*) in 33 samples, *Neisseria* species (*N. Sicca, N. elongata, N.subflava*) in 7 samples, *Actinomyces* species (*A. naeslundii, A. odontolyticus*) in 4 samples, *Staphylococcus* species (*S. haemolytics, S. equorum, Staphylococcus spp*.) , *Morococcus cerebrosus* in 2 samples and *Moraxella spp., Bacillus spp., Enterococcus casseliflavus* species in 1 sample.

Conclusion: In our study, bacterial species detected were bacteria that caused abscesses and serious infections in different parts of the body, and these bacteria species were the first species isolated in periodontal apse for the first time. These bacteria, which are taken from the periodontal abscess content and show intense growth in the aerobic and facultative anaerobic environment, suggest that advanced studies for abscess microbiota are needed.

Key Words: bacteria, microbiology, PCR, periodontal abscess

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CTAB :Hekzadesil trimetil-amonyum bromit

DNA :Deoksiribonükleotik asit

dNTP :Deoksinükleotittrifosfat

DMSO :Dimetil Sülfoksit

EDTA :Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

G :Gram

L :Litre

ml :Mililitre (10^{-3})

NaCl :Sodyum klorit tuzu

NB :Nutrient Broth

PCR :Polimeraz zincir reaksiyonu

RNA :Ribonükleik asit

rRNA :Ribozomal RNA

TAE :Tris Asetat EDTA tamponu

TE :Tris-EDTA tamponu

Tris-HCl :Trihidroksimetil amino metan-hidroklorik asit

µl :Mikrolitre (10^{-6})

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No: **Sayfa No:**

Şekil 2.1. PCR Oluşum Basamakları 28

Şekil 3.1. TSBY besiyerinin hazırlanması 35

Şekil 3.2. Periodontal apse örneğinin ependorf içinden otomatize pipet ile alınması 35

Şekil 3.3. TSBY besiyerinde 2.günün sonunda görülen koloniler 36

Şekil 3.4. Saflaştırılan bir koloninin besiyerinde çoğaltılması 36

Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan PCR cihazı 38

Şekil 3.6. Ependorf içinde DNA izolasyonu yapılmış örnekler 39

Şekil 3.7. Jel elektroforez tankı 40

Şekil 3.8. PCR analizinde örneklerin agaroz jeldeki görüntüsü 40

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No: **Sayfa No:**

Tablo 4.1. İzolasyonu yapılarak kabul numaraları alınmış bakteriler..... 41

1.GİRİŞ

Periodontal apseler kısa sürede meydana gelen periodontal yıkım ve periodontal cebin gingival duvarında lokalize toplanmış enflamasyonlu kolayca algılanabilen klinik semptomlara[1] sahip bir lezyon olarak tanımlıdır.[2, 3]

Bir periodontal apse geliştiğinde dişetinde basınç hissi, diş mobilitesi, dişin soketten yükselmesi ve perküsyon veya çiğnemede hassasiyet ortaya çıkabilir.[4] Öyleki akut periodontal apsenin semptomları hafif bir rahatsızlıktan şiddetli ağrı ve şişliğe kadar değişim gösterebilir. Bazı hastalarda ise bölgesel lenfadenopati gözlemlenebilmektedir. Akut bir periodontal apse tedavi edilmediğinde kronik lezyona dönebilir. Kronik bir periodontal apse geniş bir periyotta ortaya çıkar ve tedavi arayışına giren hastanın aralıklarla meydana gelen eksudasyon hikayesi vardır. Genellikle derin destek dokulardan kaynaklanan bir fistül yolu olarak görülür ve kökün uzunluğu boyunca gingival mukoza üzerine açılır. Kronik periodontal apse genellikle asemptomatiktir, ancak fistül yolunun ağzı kapanırsa akut apselere dönüşebilirler.[4]

Periodontal apselerin çoğunun daha önceden var olan periodontitis hikayesi ile ilişkili bulunması nedeniyle apselerin periodontitisin bir komplikasyonu olduğu düşünülmüştür.[5, 6] Periodontal apselerin genellikle tedavi edilmemiş kronik periodontitisli olguların sonucu olduğu ve subgingival mikrobiyotadaki değişikliklerin, konak direncinin düşüşünün veya her ikisinin birlikte apse oluşumunu hızlandırdığı ileri sürülmüştür.[4] Bu nedenle de periodontal apsenin mikrobiyolojik içeriğini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar genellikle periopatojenlerin belirlenmesi ve yoğunluğu üzerine yapılmış, apsenin mikrobiyal içeriğinin periodontitis mikrobiyal içeriğinden değişim gösterip göstermediği tam olarak incelenmemiş ve farklı mikrobiyolojik patojenlerin var olup olmadığı araştırılmamıştır.

Bu öngörüler doğrultusunda yapılan az sayıdaki çalışmalar sonucu apsenin mikrobiyolojisinin periodontopatojen bakterilerden ve diğer süperenfeksiyon organizmalarından oluştuğu ileri sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda bütün periodontal apse vakalarında bulunmamakla beraber *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Fusobacterium nucleatum, Micromonas micros, Campylobacter rectus, Peptostreptococcus micros, Tannerella forsythia ve Capnocytophaga* suşlarının yüksek sıklıkta görüldüğü rapor edilmiştir.[1, 7, 8] Önemli bir periopatojen olan *Aggregatebacter actinomycetemcomitans* apse vakalarında düşük oranlarda bulunmuş[1] bazı çalışmalarda ise tespit edilememiştir.[6] Diğer önemli bir periopatojen olan *Porphyromonas gingivalis*'in tedaviden sonra apse bölgelerinde görülmemesi bu mikroorganizmanın apse formasyonu ile yakın ilişkili olduğunu düşündürmüştür.[1] Periodontal apselerde karanlık alan mikroskobu ile bakıldığında en baskın hücre tipinin spiroketler olduğu ortaya konmuştur.[9] *Peptostreptococcus, Streptococcus milleri* (*S. anginosus* ve *S. intermedius*), *Bacteriodes capillosus*, *Veillonella*, *Bacteroides fragilis* ve *Eikenella corrodens* izole edilmiştir.[4] Ayrıca periodontal apselerde enterik ve non-fermanter rodların varlığı periodontal hastalıkta muhtemel bir süperenfeksiyon sebebi olarak gösterilmiştir.[10-14]

Teknolojinin gelişmesiyle oral flora bakterilerinin 16S rRNA bölgelerinin klonlama ve sekanslamaya dayanan kapsamlı bir araştırmada, bakteri türlerinin %40'ının yeni tür ve filotip olduğunu göstermiştir.[15] Benzer metot kullanılarak yapılan çalışmalarda da oral kavitede çok sayıda yeni türlerin olduğu ortaya konulmuştur.[16-18] Periodontitisli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda ise yeni mikrobiyal etkenler tespit edilmiştir. *Dialister pneumosintes* şiddetli periodontitis hastalarının %83' ünde orta şiddetli hastaların ise %19'unda belirlenmiştir. *D. pneumosintes* şüpheli periodontal patojenler grubuna dahil edilmiştir.[19] DNA-DNA hibridizasyon metodu kullanılarak

yapılan bir çalışmada; periodontitis ilişkili bakteriyal floranın rutin tanısı için kullanılan 12 türe *Prevotella tannerae, Filifactor alocis* ve *Porphyromonas endodontalis*'in eklenebileceği sonucuna varılmıştır.[20]

Subgingival mikrobiyotadaki değişikliklerin ve konak direncinin düşüşünün apse oluşumunu hızlandırabileceği fikri, yeni periopatojenlerin ortaya konması ve diş taşı içeriğinde beyin apsesine neden olan *Morococcus cerebrosus*' un belirlemesi[21], üzerinde az sayıda çalışma yapılan periodontal apselerin içeriğinin moleküler seviyede incelenmesi gereğini doğurmuştur. Çünkü periodontal apselerin mikrobiyolojik içeriğini belirlemeye yönelik kullanılan teknikler ya yetersiz kalmıştır (kültür yönteminde koloni oluşturma durumuna ve antibiyotiğe duyarlılığına göre yapılan bakteriyel tanımlama) ya da periodontal apselerin periodontitisle yakın ilişkili olmasından dolayı yapılan çalışmaların periopatojenlere yönelik mevcudiyet ve yoğunluk (PCR ve IAI-Pado test) incelemeleri yapılmıştır. Yapılan literatür taramasına göre periodontal apseler hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç olduğu görülmektedir. Gelişen teknoloji doğrultusunda periodontitis için yeni muhtemel patojenlerin ortaya konduğu bir dönemde, periodontal apse için kültüre edilebilen fakat patojen olarak henüz sınıflandırılmamış bakterilerin tanımlanması ihtimal dahilindedir. 1983 yılında Kary Mullis tarafından tasarlanmış ve geliştirilmiş olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi moleküler biyoloji alanında devrim yaratmıştır ve günümüzde en çok kullanılan yöntem haline gelmiştir. PCR yöntemi mikroorganizmaların tanımlanması amacıyla 16S ribozomal RNA genlerindeki özel bölgelerinin çoğaltılması mekanizması ile çalışmaktadır. Periodontal apse içeriğindeki bakterileri tanımlamaya yönelik PCR ile yapılan çalışmalar var olsa da tüm çalışmalar spesifik periopatojenlerin önceden belirlenmesi ile yapılmış olup farklı mikroorganizmaların bulunma olasılığı gözardı edilmiştir.

Bu çalışma ile yukarıda önemi belirtildiği gibi periodontal apse içeriğindeki

bakterilerin moleküler düzeyde incelenmesi için Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başvuran sistemik olarak sağlıklı ve periodontal apsesi olan hastalardan apse içeriği enjektör yardımı ile alınarak, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde öncelikle kültür düzeyinde göreceli yoğunlukları dikkate alınarak spesifik bakterilere yönelik olmadan izole edilen bakteriler evrensel olarak kabul edilen 16S rDNA dizi analizi kullanılarak tanılanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

Apseler, pyojenik organizmaların dokularda derinlere yerleşmesi veya nekrotik dokuların sekonder olarak enfekte olmaları nedeni ile oluşabilen, fokal irin topluluklarıdır. Tipik olarak apselerin ortasında büyükçe nekrotik bir bölge, çevrede korunmuş nötrofiller, en dışta erken onarımın göstergesi dilate damarlar ve fibroblast proliferasyon bölgesi bulunur. Sonunda apse tamamen bağ dokusu ile çevrilir ve bağ dokusu ile yer değiştirebilir.[22]

Vücudun çeşitli bölgelerinde apseler görülebilmektedir. Cilt ve yumuşak dokuda[23, 24], intrakranial bölgede[36, 37], orofasiyal ve boyun bölgesinde, gastrointestinal sistemde ve intraabdominal bölgede apselerin var olduğu bilinmektedir. Gastrointestinal sistemde; karın içi ve rektal apseler[25], intra-abdominal bölgede[26]; retroperitoenal[27], pankreas[28], hepatik[28], splenik[29], subfrenik apseler[30], karaciğer apsesi[31], orofasiyal ve boyun bölgesinde; dental, peritonsiller[32], retrofarengeal[33], derin boyun apseleri[34], parotik[35] ve servikal lenf bezi apsesi[29], varlığını gösteren yayınlar bulunmaktadır. Bu apseler herhangi bir sistemik hastalık nedeniyle düşen bağışıklık sistemi ile görülebileceği gibi travma gibi lokal faktörlerden kaynaklı olarak da görülebilmektedir.

Çeşitli mikroorganizmaların sebep olduğu ve bakteriyemiye yol açabilen apselerin morbidite ve mortalite oranları oldukça yüksektir. Apsenin yeri, enfeksiyona dahil olabilecek diğer organizmaların ortaya çıkmasında büyük önem taşır. Düşen doku direnci koşulları altında, bakterilerin hemen hemen hepsi enfeksiyöz bir süreç başlatabilir. Normal floranın vücudun steril bir bölgesine girmesiyle ortaya çıkan apseler çoğunlukla polimikrobiyal niteliktedir. Flora steril bölgeye doğrudan erişebilir, kesilme veya delinme ile bağlantı sağlayabilir. Normal floranın çeşitli vücut bölgelerindeki benzersizliğinden dolayı, apselerin mikrobiyolojisi genel olarak

konumlarına göre öngörülebilir. Yapılan çalışmalar enfeksiyonun anatomik bölgesinin apselerin polimikrobiyal etiyolojisi ve bakteriyel floraları ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Gastrointestinal sistemde kolonize olan Bacteroides fragilis grubunun türleri karın içi ve rektal apselerden genellikle izole edilir. Ağız boşluğunda ağırlıklı olarak bulunan *Prevotella, Porphyromonas* ve *Fusobacterium spp*. ağız boşluğu apselerinde kolonize olurlar. *Prevotella bivia* ve *Prevotella disiens*, servikal kanalda baskın olup çoğunlukla pelvik abselerde bulunur. Karın ve rektal apselerde aeroblar ve fakültatif organizmalar, enterobakter ve stafiolokok baskındır. *Neisseria gonorrhoeae* ise pelvik apselerde yaygındır.[25]

İntra-abdominal apselerden izole edilenler başlıca anaerob bakteriler *B. fragilis* grubu, *Peptostreptococcus spp.* ve *Clostridium spp.* iken aerobik ve fakültatif bakterilerden en sık izole edilenler, *Enterobacteriaceae* ve D grubu enterekok türleridir. Bu mikroorganizmalar, retroperitoneal[27], visseral (örneğin pankreas[28], hepatik[28], splenik[29]) ve perirektal[36] apse (post-divertikülit rüptürü[37] ve subfrenik[30]) gibi çeşitli intra-abdominal[26] bölge apselerinden elde edilmiştir. Benzer mikrobiyolojik tablo, rektal ve servikal floradan kaynaklanan pelvik vulvo-vajinal[38] ve prostatik[39] apselerin mikrobiyolojisinde de mevcuttur.[40] Baskın anaerobik bakteriler *P. bivia, P. disiens* ve peptostreptokok olmakla birlikte, yaygın aerobik ve fakültatif bakteriler *Enterobacteriaceae, N. gonorrhoeae* ve B grubu streptokokları içerir.

Cilt ve yumuşak doku apselerinin mikrobiyolojisi, diğer apselerde olduğu gibi lokalizasyonları ile ilişkilidir.[23, 41] *S. pyogenes* ve *S. aureus*, vücudun her yerinde ciltte kolonize olur ve tüm bölgelerde çoğalabilir.

İntrakranial apselerde aerobik organizmalar anaeroblardan daha sıklıkla tespit edilmiştir. Aerobik patojenlerden streptokok türleri , anaerobik mikroorganizmalardan ise *Bacteroides fragilis* ve *Peptostreptococcus spp* en yaygın izole edilen türlerdir.[42, 43]

Dental, oro-fasiyal ve boyun apselerinin mikrobiyolojisi esas olarak oral flora mikroorganizmalarındandır. Bu apseler peritonsiller[32], retrofarengeal[33], parotik[35] ve servikal lenf bezi[44] apseleri olarak görülür. Baskın anaeroblar *Prevotella* ve *Porphyromonas, Fusobacterium spp.* ve *Peptostreptococcus spp*. türleri iken en sık izole edilen aeroblar ve fakültatif bakteriler *Streptococcus pyogenes* ve *Staphylococcus aureus*'dur.

Dental veya dentoalveoler apseler dişin kök çevresindeki alveoler kemikte lokalize pus toplanmasını tanımlamak için kullanılan bir adlandırmadır. Genellikle diş çürüğü, travma, derin dolgular, başarısız kök kanal tedavisine veya periodontal problemlere sekonder olarak görülür. Dentoalveoler apselerin mikrobiyolojisi, viridans grubu streptokoklar ve *Streptococcus anginosus* grubu gibi çeşitli fakültatif anaeroblar , özellikle anaerobik koklar, *Prevotella* ve *Fusobacterium* türlerinden oluşan anaeroblardan oluşan polimikrobiyal özelliktedir. Erken dönemde tedavi edilmezse, hızla gelişerek komşu anatomik yapılara yayılabilir ve bu durum septisemi[45], kavernöz sinüs trombozu[46], beyin apsesi[47], şok[48] ve bazen ölümle[49] sonuçlanacak ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Komplikasyonların gelişme olasılığı ve buna bağlı morbidite ve mortalite önemli bir halk sağlığı sorunu haline getirmektedir.

Dentoalveoler apselerden olan periodonsiyum apseleri diş destek dokularındaki problemler nedeniyle meydana gelebilmektedir. Periodonsiyum apseleri, gingival, periodontal ve perikoronal apselerden oluşmaktadır.

2.1. Periodonsiyum Apseleri

Periodontal hastalıkların diagnozu hastanın semptomlarına ve oral muayene boyunca bulunan işaretlere dayanır. Dikkatli bir şekilde medikal ve dental hikaye alınarak radyografik değerlendirme yapılmalıdır.

Periodonsiyum apseleri sınıflandırmanın ana kriterlerine dayanarak sınıflandırılmıştır.

(a) Apselerin lokasyonuna göre periodontal ve gingival apseler olarak ayrılmıştır.[50, 51 52]

Gingival apse daha önceleri sağlıklı olan bölgede lokalize, ağrılı, marjinal gingiva veya interdental papillayı içererek hızlıca yayılan bir lezyondur. Gingival apse genellikle gingiva içine yabancı cisim sıkışmasına cevap olan bir akut enflamasyondur ve erken dönemde pürüzsüz, parlak, kırmızı kabarık bir yüzey olarak görünür. 24-48 saat içinde lezyon genellikle fluktean ve yüzeyinde purulen eksudanın eksprese olabileceği fistül ağzı verir. Gelişimine izin verilirse lezyon genellikle spontan olarak rupture olur. Semptomlar pulpal hipersensitiviteyi içerebilir.[51, 53]

Periodontal apseler kısa sürede meydana gelen periodontal yıkım ve periodontal cebin gingival duvarında lokalize toplanmış enflamasyonlu kolayca algılanabilen klinik semptomlara[1] sahip bir lezyon olarak tanımlıdır.[2, 3] Periodontal apse genellikle periodontal cepleri, furkasyon tutulumunu ve kemik içi defektleri içeren periodontal yapıların daha ileri düzeyde tutulumu ile ilişkilidir.

(b)Lezyonun gidişatına göre akut ve kronik periodontal apse olarak ayrılırlar.[50]

Akut periodontal apseler genellikle ağrı, palpasyonda hassasiyet ve çok az basınçla supurasyon gibi semptomlar gösterir. Akut bir periodontal apse kökün lateral yüzü boyunca gingivadan oval bir yükseklik olarak görülebilir. Gingiva pürüzsüz parlak bir yüzey ile birlikte ödematöz ve kırmızıdır. Çoğu olguda iltihap nazik bir basınçla gingival marjinden drene olabilir. Akut bir periodontal apsenin semptomları başlangıçta hafif iken zamanla şiddetli ağrı ve şişlik görülür. Dişetinde genellikle basınç hissi mevcuttur. Enflamasyon destek dokuları içerdiğinde, diş mobilitesi, dişin soketten

yükselmesi ve perküsyon veya çiğnemede hassasiyet eşlik edebilir. Bölgesel lenfadenopati bazı hastalarda görülebilir.[8, 53]

Akut bir periodontal apse tedavi edilmediğinde kronik bir lezyona dönebilir. Kronik periodontal apse geniş bir periyotta ortaya çıkabilir ve tedavi arayışına giren hastanın aralıklarla meydana gelen eksudasyon hikayesi vardır. Genellikle derin destek dokulardan kaynaklanan bir fistül yolu olarak görülür ve kökün uzunluğu boyunca gingival mukoza üzerine açılır. Fistül ağzı zor tespit edilen iğne ucu açıklığı olarak görülebilir ve granülasyon dokusunun küçük bir pembe kitlesi ile kaplanmış olabilir. Kronik periodontal apse genellikle asemptomatiktir. Ancak bazı hastalar donuk veya kemirici ağrı, dişte hafif yükselme, sıkıca ısırma ve gıcırdatma isteği hissedebilir. Kronik lezyonlar eğer sinüs yolunun ağzı kapanırsa akut apselere dönüşebilirler.[51]

(c) Periodontal apseler sayılarına göre tek ve çoklu apseler olarak ayrılır.[8]

Tek görülen periodontal apseler periodontal cepten drenaja engel olmasına sebep olan lokal faktörlerle ilişkilidir. Çoklu periodontal apselerin anlaşılabilmesi için lokal muayeneden daha fazlasına ihtiyaç vardır. Diabetes mellitus'ta tedavisini ihmal etmiş hastalarda ve ağız dışı sebeplerle sistemik antibiyotik alındıktan sonra tedavi edilmemiş periodontitisli hastalarda bildirilmiştir.[54 55].

2.2. Periodontal Apselerin Etyolojisi

2.2.1. Derin Bir Periodontal Cep Ağzının Tıkanması

Birçok araştırmacı periodontal cep ağzının tıkanmasının bakteri sayısının ve konakçı hücrelerin artışına yol açarak periodontal apseleri indüklediğine inanır.[53] Sonuç olarak enfeksiyon cepten destek dokulara yayılır ve lokalize olur. Apse bölgesindeki doku hasarının, konak savunmasına katılan nötrofillerden salınan lizozomal enzimlerin sonucu olduğu düşünülür.[56] Cep ağzının tıkanması lokal faktörler sonucu olur örneğin;

gıda sıkışması veya yabancı cisim, cebe komşu enflame dokuların oluşturduğu eksudanın drenajını önlemesi.[57] Periodontal apseler çocuklarda nadirdir, eğer meydana gelirlerse sebep genellikle daha önceden sağlıklı olan periodontal dokuya yabancı cisim girmesidir.[58, 59]

Periodontal apse formasyonu, periodontal tedavi sırasında diştaşı tam olarak temizlenmediğinde de meydana gelebilir.[53, 60] Bazı durumlarda gingival duvar daralır, cep ağzı tıkanır ve cebin kapanan kısmında apse meydana gelir. Periodontal tedavi gören hastalarda apse gelişimi aletlerin bakterileri dokulara itmesiyle indüklenir ve lokalize purulen eksuda oluşumuna sebep olur.[61, 62]

2.2.2. Furkasyon İlişkisi

Apseler furkasyonlarda sıklıkla bulunurlar.[63] Apseli dişlerin kaybında furkasyonlu ve furkasyonu olmayan dişler karşılaştırıldığında furkasyonlu dişler daha fazla kaybedilir.[53] Öyleki molar dişlerin çekimi için primer sebep olduğu rapor edilmiştir.[64]

2.2.3. Sistemik Antibiyotik Tedavisi

Bazı durumlarda periodontal apseler sadece lokal faktörlerle açıklanamaz, sistemik antibiyotiklerin uygulanması apse formasyonlarını başlatabilir. Tedavi edilmemiş ileri düzeyde periodontal hastalığı olan hastalarda ağız dışı enfeksiyonlar için antibiyotik aldıktan kısa bir süre sonra periodontal apselerin oluştuğu raporlanmıştır.[8, 65] Bu çalışmaların birinde çoklu periodontal apselerle[8] ilişkili en yüksek prevelanstaki türlerin *B.gingivalis, F.nucleatum* ve *Streptococcus ıntermedıus* olduğu, subgingivalde önemli artış gösteren diğer bir türün ise *Staphylococcus aureus* olduğu bulunmuştur.[65] Bu sonuçlar, tedavi edilmemiş periodontitisli hastalarda sistemik antibiyotik

kullanımının fırsatçı organizmalarla süperenfeksiyona yol açarak periodontal apse gelişmi ile sonuçlandığını göstermektedir.

2.2.4. Diyabet

Diyabetli hastalar purulen enfeksiyonlara eğilimli olduklarınndan akut periodontal apse oluşumu gözlenir. Diyabetiklerde sistemik değişiklikler düşük konak direnciyle birlikte periodontal apselerin formasyonunda önemli etkiler yapar; örneğin, hücresel immüniteyi, lökosit kemotaksisini ve bakterisidal aktiviteyi azaltır. Diyabetikler apse formasyonuna yatkınlığı artıran vasküler değişikliklere ve değişken kollojen metabolizmasına sahiptirler.[66] İleri düzeydeki glikozilasyon son ürünleri ile onların hücresel resptörlerinin etkileşimi diabetiklerde periodontal hastalığı hızlandırdığını gösteren bir patojenik mekanizmadır.[67]

2.3. Periodontitis varlığında Periodontal Apseler

Periodotal cebin tıkanması sonucu içindeki süpürasyon basıncından dolayı enfeksiyonun periodontal dokulara yayılmasına yol açabilir.[2, 7, 62] Cep lümeni, mikrobiyota kompozisyonundaki değişiklikler, bakteriyal virülans veya konak savunmasındaki değişiklikler sonucu artmış süpürasyonun drene olması için yetersiz olabilir.

Periodontal apselerin gelişmesi periodontitisin farklı aşamalarında ortaya çıkabilir; örneğin; tedavi edilmemiş periodontitiste akut şiddetlenme[60], periodontal tedavi boyunca[3, 60], tekrarlayan periodontitiste[68] veya periodontal tedavi uygulaması boyunca.[5, 64]

Periodontal tedavi süresince periodontal apselerin meydana gelmesinin çeşitli sebepleri vardır. Smith &Davies 62 periodontal apse tedavisinin çalışmasında 55 hastanın 20 sinde periodontal tedavi süresince aynı zamanda apse geliştiğini rapor etmişlerdir.[61] Periodontal apseler scaling veya rutin profilaksiden hemen sonra meydana

geldiğinde bu durum, dokular içine itilerek yer değiştirmiş olan diştaşı fragmanları ile ilişkilidir.[60] Cebin en derinindeki diştaşının kalmasına izin verecek yetersiz diş taşı temizliğinden dolayı, koronal cep bölgesindeki enflamasyon çözülürken normal drenaj bozulacağından apse formasyonu oluşur.[50, 60] Periodontal apselerin periodontal cerrahiden hemen sonra oluştuğu da literatürde rapor edilmiştir. Son zamanlarda yönlendirilmiş doku rejenerasyonu üzerine bir klinik çalışmada[69] 80 kontrol grubunun 10 unda ve 82 test grubunun 4 ünde tedavi bölgelerinde apse formasyonu veya supurasyon oluştuğu bildirilmiştir.

Şiddetli periodontitisli hastalarda subgingival debridman dışında sistemik antibiyotik tedavisi apse formasyonu gelişmesine sebep olabilir.[8, 54, 65] Ağız dışı enfeksiyonlar için sistemik antibiyotik (penisilin, tetrasiklin veya megasilin) almış ve tedavi edilmemiş periodontal hastalarda çoklu apselerin (4 ten 12 ye kadar) geliştiği rapor edilmiştir. Bu durum subgingival mikrobiyomun değişmesinin süperenfeksiyona yol açtığını gösterir.[65] Helovuo ve çalışma arkadaşları [54, 65]; ağız dışı sebepler için antibiyotik aldıktan sonra 12 hafta takip edilen tedavi edilmemiş periodontitisli 72 hastada yaptıkları çalışmada, hastaları antibiyotik kullanımlarına göre penisilin, eritromisin ve kontrol grubu (antbiyotik almayan) olmak üzere 3 ayrı gruba ayırmışlardır. Penisilin kullanan 24 hastanın 10 unda (%42) devam eden 4 hafta içinde apse geliştiği görülmüştür. Apse sayısı 4 hastada hemen hemen tüm dişleri içerirken, 6 hastada 1-10 arasında değişmektedir. Eritromisin veya kontrol grubunda ise apse tespit edilmemiştir.

Çoklu periodontal apselerin gelişmesiyle ilişkili olan diğer sistemik tedavi nifedipin kullanımıdır. Bir olgu raporunda[70] bu tedaviden hemen sonra 5 gün içinde 8 apse geliştiği rapor edilmiştir. Akut durum drenajla tedavi edildikten sonra nifedipin tedavisine devam edilmemiş ve apselerin dağıldığı görülmüştür. 3 hafta sonra tedaviye

yeniden başlanmış ve 2 hafta sonra diğer apseler tespit edildikten sonra nifedipin tedavisi kesin olarak sonlandırılmıştır.

2.4. Periodontitis yokluğunda Periodontal Apseler

Periodontal apseler periodontitis yokluğunda şu sebeplerden dolayı gelişebilir;

(a) Yabancı cisim sıkışması[62], ortodontik elastik[71], bir parça diş ipi[72] bir mısır patlağı çekirdeği[73] veya bilinmeyen bir obje.[74, 75]

(b) Endodontik aletlerle diş duvarının perforasyonu[50 76]

(c) Lateral fossanın enfeksiyonu[62]

(d)Lokal faktörleri etkileyen kök morfolojisi (örneğin, eksternal kök rezorbsiyonu görünümü[77] ve kırılmış bir diş[78])

Gingival apselerin ve periodontal apselerin tedavisi; yabancı cismin eliminasyonu ve dikkatli debridmanı[72] sulkustan drenajı, ılık salinle irrigasyonu ve apsenin çüzülmesi için 24-48 saat değerlendirmeyi içermelidir.[51, 52] 1 hafta sonra kesin tedavi tamamlanmalıdır.[51, 79] Alternatif olarak periodontal apselerde eksternal insizyon veya flep gerekebilir ve drenaj sonrası lokal antiseptik uygulanabilir.[80]

Periodontal apse tedavisinde sistemik antibiyotik kullanılması tam olarak tanımlanmamış bir konudur. Bazı otörler premedikasyona ihtiyaç olmadıkça ve tedavide yeterli drenaj sağlanmışsa, enfeksiyon lokalize ise sistemik antibiyotik önermemektedirler. Bazı otörler ise temel tedavinin kombinasyonunu (insizyon ,drenaj, debridman ve antibiyotik tedavisi) önerirler.[81] İnsizyon ve drenajın kombinasyonu ile sistemik uygulama olarak penisilin kullanılmasının sık sık başarılı olduğu gösterilmiştir.[82]

2.5. Periodontal Apselerin Patogenezi

Periodontal apselerin başlamasında ilk olay bakterinin yumuşak doku cep duvarına girmesidir. Bakteriler tarafından salınan kemotaktik faktörlerle enflamatuar

hücreler çekilir ve eşlik eden enflamatuar reaksiyon bağ dokusunun yıkımına, bakteriyel enfeksiyonunun sarmasına ve iltihap üretimine yol açar.[2]

Histolojik olarak bozulmamış nötrofiller ve bozulmuş lökositler yumuşak doku debrisinin bir santral bölgesinin çevresinde bulunur. Bir sonraki aşamada bir pyojenik membran, meydana getiren makrofaj ve nötrofiller organize olmuştur. Apsedeki yıkım oranı bakterilerin büyümesine bağlıdır aynı zamanda lizozomal enzimlerin aktivitesi asidik çevreyi tercih edeceğinden virülans lokal pH ya da bağlıdır.[2]

2.6. Mikrobiyoloji

2.6.1. Oral Flora

Oral kavite, mikroorganizmaların yerleşmesi ve yaşaması için uygun sıcaklık, nem, çeşitli besin kaynakları ve farklı oksijen seviyesi gösteren alanlara sahip olması nedeniyle, başta bakteriler olmak üzere mantar, protozoa ve virüsleri de içine alan çok sayıda ve farklı türlerde mikroorganizmayı barındırmaktadır ve bu nedenle insan ağzı vücudun en kompleks mikrobiyal ekosistemlerinden birini teşkil etmektedir.[83]

Uterustaki insan fetüsü sterildir, fakat doğumdan sonra saatler içinde çoğu fakültatif ve aerobik olmak üzere az sayıda bakteri kolonize olur. Diş erüpsiyonundan sonra ise oldukça kompleks bir oral mikrobiota kurulur.[84] Doğumdan iki yıl sonra toplamda 10^{14} mikrobiyal hücreden oluşan ve yüzlerce farklı çeşit bakteri içeren saf insan mikrobiotası oluşur. Bu andan itibaren vücudumuz, insan hücrelerinden 10 kat daha fazla bakteri içerir.[84] Bugüne kadar insan oral kavitesinde 500 tür bakteri değerlendirilmiştir.[85]

Oral kaviteye ilk yerleşen türler, *Streptococcus salivarius (S.salivarius), Streptococcus mitis (S.mitis) ve Streptococcus oralis (S.oralis)*'tir. Zaman ilerledikçe, *Prevotella melaninogenica (P.melaninogenica), Fusobacterium nucleatum (F.nucleatum)* ve *Veillonella* türleri gibi gram-negatif anaeroblar yerleşir.

Stabil bir mikrobiyal topluluk oluşana kadar, oral mikrobiyomdaki çeşitlilik artmaya devam eder. Diyet, hormonal düzey ve oral hijyendeki değişkenlere bağlı olarak meydana gelen küçük çevresel değişikliklere rağmen mikrobiyal topluluk stabil kalmaya devam eder. Bu stabilite "mikrobiyal homeostasis" olarak adlandırılır. Bu durum, pasif bir cevap değildir, konağın kalıcı mikrobiyomu ve lokal çevresel durum arasındaki dinamik dengeyi yansıtmaktadır

Dişler, daimi floranın tutunabileceği bir yüzey yapısına sahip olduğu için, mikrobiyal kolonizasyon için yeni bir yaşam alanı oluşturur. Bu durum, özellikle hareketsiz bölgelerde büyük bir bakteri kütlesinin oluşmasıyla dental plak ile sonuçlanır.

Diş plağı oluşumunda bakteri kolonizasyonu, diş yüzeyindeki pelikıl ile bakterilerin yüzey molekülleri arasındaki etkileşime bağlıdır. Pelikıl, tükürük glikoproteinleri, fosfoproteinleri, lipit, az miktarda diş eti oluğu sıvısı ve ölmüş bakteri hücresi kalıntılarından oluşur. Pelikıldan sonra, diş yüzeyine ilk kolonize olan bakteriler, *S.oralis, S.mitis, Streptococcus gordonii (S.gordonii)* ve *Streptococcus sanguinis* (*S.sanguinis)*'tir. İkincil olarak kolonize olan türler; *Capnocytophaga, Haemophilus, Eikenaella, Prevotella, Propionibacterium* ve *Veillonella* türleridir. Diş yüzeyindeki bakteri kalınlığı arttıkça başlangıçta aerobik olan mikroorganizmalar, yerini fakültatif anaerobik ve zorunlu anaerobik mikroorganizmalara bırakır. Olgun plakta ise *Treponema denticola* gibi spiroketler ve çeşitli anaerobik gram negatif rodlar bulunur. *F.nucleatum*'un ise, ilk ve ikinci kolonizasyon arasında bir köprü görevi gördüğü bildirilmiştir.[86] Kısaca, olgun diş plağı 5 aşamada meydana gelir: İlk aşama, diş yüzeyinde pelikıl oluşumu; ikinci aşama, öncü bakterilerin diş yüzeyine tutunması (4 saat); üçüncü aşama, tutunan bakterilerin farklı mikro koloniler oluşturması (4-24 saat); dördüncü aşama, mikrobiyal artış ve ko-agregasyon ile mikro kolonilerin

gelişmesi (1-14 gün) ve son aşamada ise, olgun biyofilmin oluşumudur. (2 hafta ve üstü)[87] Olgun biyofilm içeriği 300-500 türde mikroorganizma içermektedir. Bakterilerin periodontal hastalıkların etkeni olduğu ilk defa 1882 yılında Witzel tarafından ileri sürülmüş ve 1890 yılında Miller ağız boşluğundaki bakterileri sınıflara ayırmış ve bu bakterilerin çürüklere ve periodontal hastalıklara yol açtığını bildirmiştir.[88]

Socransky, bir bakterinin periodontal patojen olarak kabul edilebilmesi için aşağıdaki kriterlerin sağlanması gerekli olduğunu ifade etmiştir.[89]

- Mikroorganizma sayısı hastalıkla ilişkilendirilebilmelidir.

-Periodontal tedavi sonrasında hastalıklı bölgelerden uzaklaştırılmalı veya sayısı azalmalıdır.

- Mikroorganizmaya karşı konakta hücresel veya humoral bir yanıt oluşturmalıdır.

- Deneysel hayvan modellerinde hastalık oluşturabilmelidir.

-Periodontal dokularda hasar yaratabilecek virulans faktörlerine sahip olduğu gösterilebilmelidir

Socransky ve ark.[90] subgingival plak örneklerini DNA-DNA hibridizasyon yöntemi ile inceledikleri bir çalışmada bakterilerden birbiri ile ilişkili olanları 5 grup altında toplamıştır. Buna göre, sarı kompleks, *Actinomyces* ve *Streptococcus* türlerinden; yeşil kompleks, *E. corrodens, Campylobacter concisus, A. actinomycetemcomitans* serotip a ve *Capnocytophaga* türlerinden; mor kompleks, *Veillonella parvula* ve *Actinomyces odontoliticus*'dan; turuncu kompleks, *Campylobacter gracilis, Campylobacter rectus, Campylobacter showae, Eubacterium nodatum, F. nucleatum* alt türleri, *Fusobacterium. periodonticum, Peptostreptococus micros* (*P. micros*), *Prevotella intermedia (P. İntermedia), Provetella nigrescens* (*P. nigrescens*) ve *Streptococcus constellatus (S.constellatus)* türlerinden ve kırmızı kompleks *Tanerella. Forsythia* (önceki ismi, *Bacteriodes forsythius), Porphyromonas.*

gingivalis ve *Trapenoma. denticola* bakterilerinden oluşmaktadır. Erken kolonizasyonda yer alan bakteriler, sarı, yeşil ve mor kompleks türleridir. Kırmızı ve turuncu kompleks bakterileri daha sonra kolonize olurlar.

Bu organizmaların birçoğu kommensal iken, bir kısmı da sistemik hastalığa sebep olabilecek fırsatçı patojendir. Oral bakterilerin bakteriyal endokardit[91], aspirasyon pnömonisi, çocuklarda osteomyelit, zamanından önce düşük doğum ağırlığı, koronal kalp hastalığı ve serebral infarktüs (felç) ile ilişkisi vardır.[92 93] Mikroorganizmaların taşınmasında su, gıdalar ve diğer besin maddelerinden geçiş söz konusu olmasına rağmen öncelikle taşınma yolu tükürüktür. Ağız içerisinde en çok karşılaşılan mikroorganizma ise viridans streptokoklardır (%30 - 60). *Streptococcus viridans* periodontal apse eksudasından da aerobik teknikler kullanıldığında en sıklıkla izole edilendir.[4, 94]

Periodontal apse üzerinde yapılan az sayıdaki çalışmalar sonucu apsenin mikrobiyolojisinin periodontopatojen bakterilerden ve diğer süperenfeksiyon organizmalarından oluştuğu ileri sürülmektedir. Periodontal apsenin mikrobiyal içeriğini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda genellikle periodontitis için etken olan mikroorganizmalar üzerinde durulmuştur. Yetişkin periodontitiste genellikle periodontal apse mikrobiotası subgingival plakta bulunan mikrobiotadan ayırt edilemez durumdadır.[7] Hafstrom ve arkadaşlarının kültür yöntemiyle ve floresan görüntüsüne göre yaptıkları bir çalışmada apse mikrobiyolojisi, periodontitisli ve sağlıklı bölgelerle karşılaştırıldığında apse mikrobiyolojisinin derin ceplerle benzer olduğu ve sığ ceplerle karşılaştırıldığında apse içeriğinde patojenlerin yüksek oranda barındığı görülmüştür.[1]

2.6.2. Dental Apse Mikrobiyotası

Her bir apse örneğindeki mikrobiota 10^6'dan daha fazla çeşit bakteri içermektedir.[1] Kültüre edilmiş bakterilerin %60 lık çevrede anaerob olduğu rapor

edilmiştir.[7, 8] Ayrıca, Newman ve Sims ,periodontal apselerde gram negatiflerin, gram pozitifler, rodlar ve koklardan daha baskın olduğunu belirlemişlerdir.[7]

Siyah pigmentli anaerob olan *Porphyromonas gingivalis*, kültür çalışmalarında % 55 ile % 100 arasında değişen oranlarda prevelansa sahiptir.[7 1, 8, 95, 96] Ashimato ve ark.'nın PCR kullanarak yaptıkları çalışmada 7 periodontal apse örneğinde *P.gingivalis* yüksek prevelansta (%100) bulunmuştur.[97] *Porphyromonas gingivalis*'in tedaviden sonra da apse bölgelerinde görülmesi bu mikroorganizmanın apse formasyonu ile yakın ilişkili olduğunu göstermektedir[1]

Oldukça patojen olan ve patojenitesi fimbrialarına, salgıladığı lökositine bağlı olan *A. actinomycetemcomitans* birçok periodontal hastalıkta yüksek oranda bulunmaktadır. Ancak periodontal apselerde; Jaramillo ve ark. kültür çalışmalarındaki vakaların %30 unda *A. actinomycetemcomitans* bulmuştur.[96] Hafstrom ve ark. kültür yöntemi ile bu organizmayı %25 oranında bulmuştur.[98] Herrera ve ark. kültür çalışmalarında periodontal apselerde *A. actinomycetemcomitans*'ın varlığına rastlamamışlardır.[6] Periodontal apsede düşük oranlarda çıkmasına rağmen literatürde dental kaynaklı *A. actinomycetemcomitans*'ın beyin apsesine sebep olduğunu gösteren birçok olgu raporu vardır.[99, 100 101-105] Bu olguların bir çoğu oral hiyen eksikliği ile ilişkilidir.

Prevotella türleri dentoalveolar apselerde kültür ve PCR yöntemi ile çalışıldığında %10-87 sıklığında bulunmuştur.[106-108 109;110-115] Newman&Sims[7] periodontal apselerde kültür yöntemi ile Prevotella melaninogenica varlığının %22 olduğunu göstermiştir. *P. intermedia*'nın oranı ise yine kültür yöntemi ile çalışıldığında %25-100 arasındadır[1, 8, 95] Jaramillo ve ark.'nın[96] kültür çalışmasında periodontal apselerde P.intermedia/nigrescens %60 sıklığında görülmüştür. Ayrıca *P. intermedia* gibi proteinaz üretme kapasitesi olan bakteriler kullanılabilir besini artırabildiklerinden

dolayı önemlidir ve bundan dolayı apse içindeki bakteri sayısının artmasına sebep olurlar.[116, 117]

Trope ve ark.[9] çalışmasında, karanlık alan mikroskobu ile yüksek oranda spiroket (%40.6), düşük yüzdeyle kok (%19.7) ve motil rodlar (%7.5) bulunmuştur.

Trapenoma türleri, akut dental apselerde oldukça yüksek prevelans gösterirler. Karanlık alan mikroskobu ile bakıldığında spiroketler en baskın tip olarak bulunmuştur.[4] Oral kavitede tanımlanan farklı türlerde Trapenoma bulunur; *T.amylovorum, T.dentıcola, T.maltophılum, T.medıum, T.pectınovorum, T.socranskii* ve *T.vıncentıı*.[118] Trapenoma türlerinden sadece *T.dentıcola, T.pectınovorum, T.socranskii* ve *T.vıncentıı* kolayca kültüre edilir. *Treponema pallidum* ve *Mycoplasma pneumoniae* gibi yüksek konak adaptasyonu olan mikroorganizmaların kültüre edilmesi oldukça zordur, çünkü normalde kendi konaklarından elde ettikleri birkaç esansiyel molekülü sentezleme yeteneklerini kaybetmişlerdir. Son günlerde PCR kullanılarak yapılan çalışmalarda da akut dental apselerde Treponoma türlerinin yüksek prevelansı gösterilmiştir. Ashimato ve ark.'nın çalışmasında[97] %71,4 Siqueıra&Rocas çalışmasında[119] ise *T.dentıcola*'nın dental apselerde %79 a kadar mevcut olduğu bulunmuştur. Diğer çalışmacılar tarafından düşük oranlarda tespit edilmiştir.[120-124] Diğer Treponema türleri daha düşük miktarlarda; *T.socranskii* %26, *T.pectınovorum* %14-21, *T.amylovorum* %16 ve *T.medıum* %5 olarak bulunmuştur. Diğer türler ise; *T.lecıthınolyticum, T.vıncentı* ve *T.maltophılum* tespit edilememiştir. Van Winkelhoff ve ark.[95] kültür çalışmasında periodontal apselerden aldıkları 3 örnekte spiroket bulamamışlardır. Periodontal apselerde karanlık alan mikroskobu ile yapılan çalışmalarda Trope ve ark.[9] tarafından %40.6, Lekaa ve ark.[125] tarafından %47.8 oranında spiroket bulunmuştur.

Gram negatif ve siyah pigmentli anaerop grubundan olan *F. nucleatum* dental enfeksiyonların başta gelen etkenlerindendir. Enfeksiyonlar hızla yayılarak yaşamı tehdit eden boyutlara gelebilir. *F. nucleatum*, Plaut-Vincent anjinine, Ludwig anjinine, Noma (gangrenöz stomatit), aspirasyon pnömonisi, karaciğer ve beyin apselerine de sebep olabilir. Herrera ve ark.[6] çalışmasında periodontal apselerin %70.8'inde *F. nucleatum* bulunmuştur, non-culture tekniğini kullanan çalışmalarda ise % 73 prevelansının var olduğu rapor edilmiştir.[113] Jaramillo ve ark.'nın çalışmasında *Fusobacterıum spp.* %75 sıklıkta tespit edilmiştir.[96] Diğer otörler de bu bakteriyi % 44.4 - 65 oranında belirlemişlerdir.[1, 7, 8]

Periodontal apselerden başka mikroorganizmalar da izole edilmiştir. Çalışmalardaki mikrobiotanın farklı oranları farklı popülasyonlar veya inkübasyonlardaki süre farklılığına bağlanabilir. Periodontal dokularda ileri düzeyde yıkıma sebep olan *T. forsythia*; kültür yöntemiyle yapılan çalışmalarda, Herrera ve ark.[126] %66,7, yine Herrera ve ark.[6] farklı bir çalışmalarında %47,1 bulmuş iken Jaramillo ve ark.[96] %15, Ashimato ve ark.[97] ise PCR kullanarak % 14.3 olarak bulmuştur.

Periodontal apselerde *Micromonas micros* ise kültür çalışmalarında Herrera ve ark.[6] tarafından %70,6 olarak rapor edilmiş iken Jaramillo ve ark.' nın çalışmasında[96] %3,3 olarak bulunmuştur.

Campylobacter rectus da periodontal apselerde farklı çalışmalarda farklı oranlarda bulunmuştur; Herrera ve ark.[6] %4,2, Hafstrom ve ark.[1] %80, Jaramillo ve ark.[96] %11,7 olarak bulmuştur. Kişilere ve coğrafik bölgelere göre değişen subgingival mikrobiota ve farklı teknikler bu durumu açıklayabilir.

Akut dental apselerden *Staphylococcus aureus*'un konvensiyonel kültür kullanıldığında oranları %0.7-%15 aralığındadır.[108, 109, 127-130] ; oysaki bazı araştırmacılar %47 gibi yüksek oranlar bulmuştur.[131]

Gelişen tekniklerle beraber periodontal apselerde var olması beklenmeyen bakterilerin bulunduğu görülmüştür. *Peptostreptococcus micros*'un periodontal apseler ile ilişkisi ilk olarak Herrera ve ark.'nın[6] kültür çalışmasında bulunmuştur ve prevelansı %70.6'dır.

D. pneumosintes, son dönemlerde PCR yöntemiyle belirlenen başka bir şüpheli periopatojendir ve periodontal apselerde düşük oranlarda bulunmuştur. [19, 132]

Xie ve ark.[133] sadece anaerob büyüyen izolatlara yönelik çalışmasında kültürde izole edilecek olan mikroorganizmaları antibiyotik duyarlılıklarına göre belirledikten sonra PCR yöntemi ile ve *Shuttleworthia* ve *Propionibacterium* tanılamıştır. Bununla beraber bu bakterilerin periodontal apsedeki rolünü anlamak için daha çok bilgiye ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.[133]

Jaramillo ve ark. çalışmasında ise periodontal apselerde kültürden sonra enzimatik ve biyokimsayal testler ile *Enterobacter aerogenes* (%3.3), *pseudomonas spp.*(%3.3), *Klebsiela pneumonıae* (%1.7), *Acinetobacter lwofii* (%1.7) ve tam olarak tanımlanamayan non fermenter gram negatif rodlar (%8.3) izole edilmiştir.[96]

2.7. Periodontal Patojenleri Belirleme Yöntemleri

2.7.1. Faz Kontrast ve Karanlık Alan Mikroskopi

Karanlık alan ve faz kontrast mikroskobi yıllardır dental plağın mikrobiyolojik değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bakterilerin şekil, boyut ve motilitelerini belirleyebilir. Klinik olarak hastalıklı floradan sağlıklı floraya geçildiğinde mikrobiyolojik değişimi gösterebilmektedir. Periodontal sağlıklı plak florasında az

sayıda hareketsiz kok mevcuttur. Periodontal hastalıklı plak florasında çok sayıda, küçük, orta ve büyük spiroketler ile motil ve kıvrımlı rodlar mevcuttur.[134, 135] Diş eti iltihabının klinik seviyesi ile hareketli çubukların mikroskobik olarak belirlenmesi arasında ve klinik cep derinliği ile spiroketlerin mikroskobik sayısı arasında pozitif korelasyon vardır.[134] Karanlık alan mikroskopisi, subgingival plakta koronalden apikale değişen bakteriyal morfolojiyi göstermek için kullanılabilmektedir.[136] En büyük yetersizliği bakteri türlerini ayırt edememesidir. Örneğin; dental plak örneğindeki küçük rodların, *A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis* veya başka bir bakteri olup olmadığını ayırt edemez. Periodontal patojenleri tanımlamak için yetersiz bir yöntem olmasına rağmen periodontal tedavi süresince plak bakterilerinin büyük değişimini göstermek hasta motivasyonu açısından yararlıdır.

2.7.2. Bakteriyel Kültür Yöntemi

Bakteriyel kültür yöntemi altın standart olarak kabul edilmektedir. Bir klinik örnekteki tüm bakteri türleri tek bir mikrobiyolojik metot ile belirlenememesine rağmen bakteriyel kültür ile periodontal patojenlerin geniş bir spektrumu belirlenebilmektedir. Bakteriyel kültür yönteminde hastaların plak örnekleri sonikasyon veya vorteks ile karıştırılarak dağıtılır, çeşitli tiplerdeki katı besiyerine yayılır ve aerobik veya anaerobik koşullar altında kültüre edilir. Uygun bir inkübasyon periyodundan sonra değerlendirilrek tek koloniler alt kültüre edilir. Bu bakteri türleri; gram boyama, hücresel morfoloji, şeker fermentasyon testi, biyokimyasal testler, metabolik asit son ürünlerinin kromatografik analizi gibi çoklu testler kullanarak tanımlanır. Kültüre edilebilir türleri daha iyi tanımlayabilmek için; selektif besiyeri, anaerobik kabin gibi daha uygun metotlar geliştirilse de bakteriyel kültür yöntemi halen külfetli, zaman alıcı ve pahalıdır. Kültür yönteminin en büyük avantajı, subgingival mikrobiotanın ana bileşenlerini belirleyebilmesidir; tek bir örnek içinde bulunan ve çeşitlilik gösteren

mikrobiyal türlerin tanılanmasını sağlayabilir. Bu nedenle henüz tespit edilmemiş periodontal patojenlerin tespitine olanak sağlar. Antibiyotik duyarlılık ve direncini belirlemede kullanılmaktadır ve periodontal enfeksiyonların tedavi planlamasında oldukça önemlidir.

2.7.3. Enzimatik Testler

Benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide (BANA) test; periodontal patojenlerin enzim profilindeki farklılıklara dayanarak özel olarak geliştirilmiştir. BANA hidroliz ile periodontal patojenlerin seçilmiş bir grubu belirlenebilir. Test edilen 60'tan fazla bakteri türünden güçlü ve tutarlı hidrolaz aktivitesi gösteren bakteriler; *P.gingivalis, T.denticola, T.forsythia ve Capnocytophaga* türleridir.[137]. Hasta başında kullanımı hızlı ve kolay olan bu test kombine ve sadece birkaç patojeni tespit ettiği için diğer önemli patojenleri ve henüz tespit edilmemiş patojenlerin varlığını belirleyemez. Bilinen türleri de birbirinden ayırt edemeyebilir ve pozitif mikroorganizmalar normal florada da bulunabileceğinden örnekler klinik olarak sağlıklı bölgelerden alındığında BANA-pozitif reaksiyon görülebilir. Ayrıca BANA testiyle saptanan trypsin benzeri aktivitenin konak tarafından da üretilebileceği ihtimali de vardır.[138]

2.7.4. İmmünolojik Testler ve Nükleik Asit Probe Testleri

Her iki yöntem de spesifik bakteri türlerini tespit etmeye yöneliktir ve türlere spesifik ajanlar kullanılır. Kültür yönteminden çok daha hızlı sonuç verir. Ancak her iki testte de çapraz reaksiyon problemi görülebilmektedir ve antiyotik direnç ve duyarlılığını belirleyememektedir.

İmmunolojik testler veya nükleik asit probları çeşitli konfigürasyonlarda kullanılabilir. İmmunolojik testler; immunofloresans mikroskopi[139-142], membran immunotest ve latex aglütinasyon testlerini[143] içermektedir. Son iki test klinikte uygulanabilir ve 30 dk. içinde tamamlanabilmektedir. İmmunofloresan mikroskobunun

avantajı ise çapraz reaktivite problemlerinde reaktif hücrelerin hedef türlerle uyumunu morfolojik olarak da incelemesiyle pozitif testi doğrulama kabiliyetidir.

Her iki testte de sonuç alabilmek için mikroorgaizmaların canlı olması gerekmez, fakat radyoaktif bir madde ile çalışılması ve kültür yöteminin aksine türlerin önceden belirlenmesi gibi dezavantajları vardır.

2.7.5. Checkerboard DNA-DNA Hibridizasyon Tekniği

Socransky ve ark. bu tekniği, ağız boşluğunda yaygın olarak bulunan 40 bakteri türünün tespiti için geliştirmiştir.[144] Test, tüm genomik, digoxigen-etiketli DNA problarını kullanır ve tek bir testte 40 oral türe ait multiple hibritleşmeye göre çok sayıda plak örneğinin hızlı işlenmesini kolaylaştırırır. Yöntem komplike laboratuvar ekipmanı ile uzmanlık gerektirir ve son derece spesifiktir. Bu faktörlerden dolayı bu testin tanısal amaçlı kullanımı yaygınlaşmamıştır. Bununla birlikte, epidemiyolojik araştırma ve ekolojik çalışmalar için, canlı bakteriler gerektirmediğinden ve çok sayıda plak örneğinin ve çok sayıda türün değerlendirilmesine izin verdiği için uygulanabilir.[145-152] Papapanou ve ark. subgingival bakterilerin tanımlanması için kültür ile bu yöntemin karşılaştırmasını yapmıştır.[153] Checkerboard teknolojisinde, test edilen türlerin yarısı için (*Pg, Pi, Pn, Fn ve Tf*) daha yüksek prevalans rakamlarına ve türlerin çoğunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bakteri sayısı görülmüştür.

2.7.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Moleküler mikrobiyolojik yöntemlerle mikroorganizmaların tanımlanması amacıyla 16S ribozomal RNA genlerindeki özel bölgelerinin çoğaltıldığı 'Polimeraz Zincir Reaksiyonu' (PCR) günümüzde en çok kullanılan yöntemdir. İlk kez 1985 yılında Karry Mullis, Henry A. Erlich ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilmiştir. Karry Mullis 1993 yılında PCR buluşu ile kimya dalında Nobel ödülünü almıştır. PCR, in vitro koşullarda spesifik bir DNA parçasının kopyalarının elde edilmesi ile primerler

tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan bir yöntemdir.[154] Hücrelerde doğal olarak gerçekleşen replikasyon, PCR ile hızlandırılmış şekilde gerçekleştirilir. Bu teknikle DNA hedefi 10^6-10^{12} arasında çoğaltılabilmektedir. PCR döngüsü üç adımda meydana gelir; denatürasyon ile yüksek sıcaklıkta DNA'nın iki zinciri birbirinden ayrılır, hibridizasyon ile sentetik oligo nükleotidler hedef DNA'ya bağlanır, polimerizasyon ile çift iplikli DNA'lar sentezlenir ve bu döngü belirli sayılarda tekrarlanır.[155]

Periodontal hastalık ile periodontal patojenlerin arasındaki ilişki 16S rRNA gen bazlı PCR kullanılarak, tespit edilecek bakteriler önceden belirlenerek kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir.[156-159] Mayanagi G. ve ark.[157] dentoalveolar apselerde *A. actinomycetemcomitans, T. amylovorum, T. vincentii F. nucleatum, C. rectus, E. corrodens, P. nigrescens* gibi 25 bakteri türünü, Sato T. ve ark.[160] oral *trapenoma* türlerini, Ashimato A. ve ark.[156] subgingival plakta *A. actinomycetemcomitans, T. forsythia, C. rectus, E. corrodens, P. gingivalis, P. intermedia, P. nigrescens, T. Denticola*, yine subgingival plak örnekleri ile yapılan bir çalışmada Slots J. ve ark.[161] *Actinobacillus actinomycetemcomitans, T. forsythia, Campylobacter rectus, Eikenella corrodens, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia ve Treponema denticola* tespit etmek için kullanmıştır.

2.7.6.1. PCR'da Kullanılan Temel Bileşenler

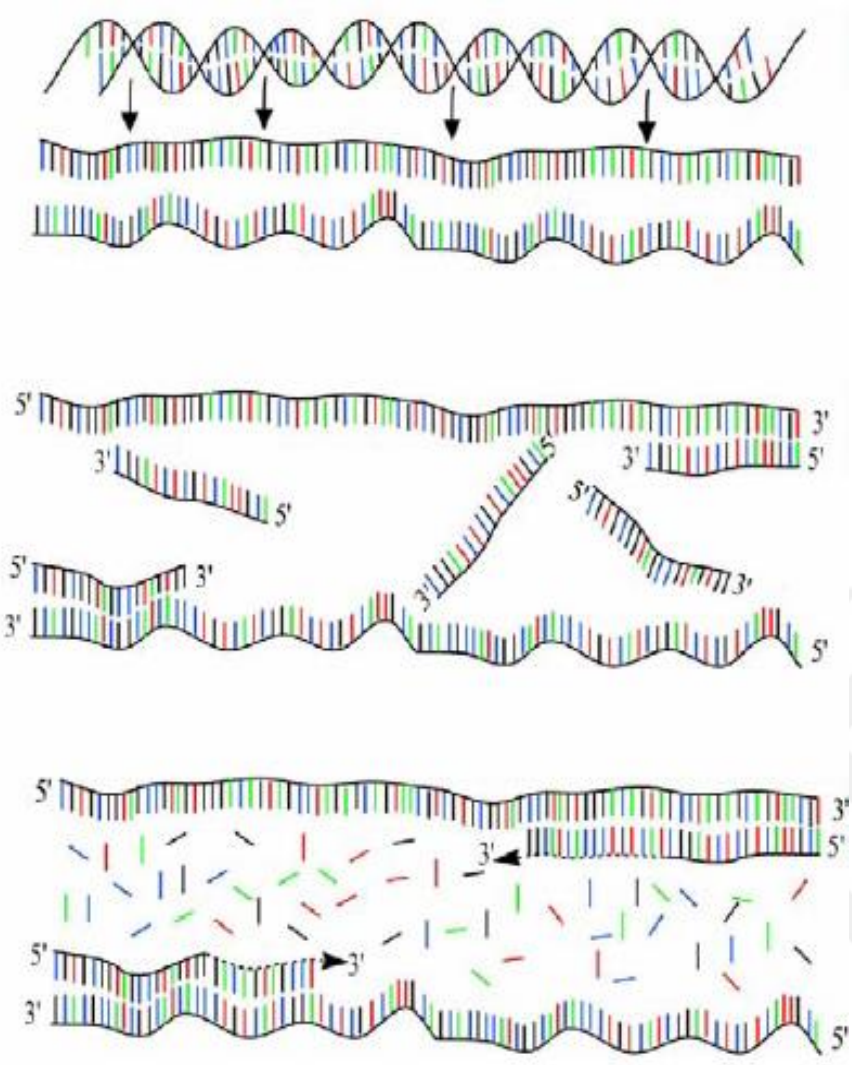
PCR' da kullanılan temel bileşenler, tek veya çift zincirli olarak eklenebilen kalıp DNA, DNA zincirini tamamlayıcı tek bant şeklinde oligonükleotidler (primerler), serbest deoksiribonükleotid trifosfatlar, ısıya dayanıklı DNA polimeraz, tamponlar ve $MgCl_2$ dür. Kalıp DNA olarak genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kullanılabilir. Oligonükleotidler (primerler), genellikle 20-30 nükleotid uzunluğundadır. Düşük konsantrasyonu PCR ürününün az

miktarda oluşmasına neden olur. Yüksek konsantrasyonu ise ektopik bölgelere yapışmalarına neden olarak, istenen hedef DNA dışındaki bölgelerde çoğalma meydana getirebilir. Deoksiribonükleozid trifosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) yüksek saflıkta ya tek ya da dörtlü karışım halinde ticari olarak sağlanır. DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere, orijinal kalıp iplikteki baz bilgisini kullanarak dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfattan uzun polinükleotid zincirin sentezini kataliz ederler. Bu enzimler, sentezi baslatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan kısa DNA parçalarına (primerlere) gerek duyarlar (56). Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca dogru olup, primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapmalarıyla, fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerizasyonu saglanır. PCR'da en yaygın olarak kullanılanı *Thermus aquaticus*'dan elde edilen *Taq*DNA polimerazdır.[162] Mg^{+2} iyonları dNTP'ler ile çözülebilir kompleksler oluştururlar, polimeraz aktivitesini uyarırlar. Düşük Mg^{+2} konsantrasyonu, ürün oluşumunda azalmaya, yüksek Mg^{+2} konsantrasyonu ise spesifik olmayan ürün birikimine neden olur. Bu nedenle $MgCl_2$'ün PCR'nin özgüllüğü ve ürün verimi üzerine çok önemli bir etkisi vardır.[154]

2.7.6.2. PCR Oluşum Mekanizması

PCR döngüsü, denatürasyon, primerlerin birleşmesi ve uzama olarak üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama olan denatürasyon aşamasında kalıp DNA (template DNA), 92-95 ^{o}C'de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapıdaki DNA iplikçikleri birbirlerinden ayrılmaktadır.[163] Denatürasyon süresinin uzun olması, Taq polimeraz enziminin aktivitesindeki kaybı hızlandırmaktadır. Primerlerin birleşmesi (annealing) aşamasında reaksiyon sıcaklığı 37-65 ^{o}C'ye düşürülerek oligonükleotid primerleri açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması sağlanır. Bu işlem, üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleşmektedir.

Birleşme sıcaklığının çok yüksek olduğu durumlarda primer bağlanması şekillenmezken, sıcaklığın çok düşük olduğu durumlarda da primerler yanlış yerlere bağlanabilir veya primer dimerleri oluşabilir. Bunun için optimal bağlanma sıcaklığının belirlenmesi gereklidir. Üçüncü aşama olan uzama aşamasında ise DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) vasıtasıyla uzatılmasıdır. Taq DNA polymerase 72 ^{o}C sıcaklıkta daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır.[164] PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır.[165] Üç basamaktan (denaturation, annealing, extension) oluşan işlem, bir PCR devrini temsil eder. Bu işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır. Reaktif artık uzamaya devam etmek için yeterli nükleotid bulamadığında PCR reaksiyonu yavaşlar veya tamamen durur. Bu zaman zarfında, 1 gen yaklaşık 34 milyar kopya halinde çoğaltılır. PCR sonucunda elde edilen DNA parçacıkları agaroz veya poliakrilamit jellerde yürütüldükten sonra, ethidium bromide veya gümüş nitrat ile boyanarak gözlemlenir.[165]



Şekil 2.1. PCR oluşum basamakları[166]

2.7.6.3. PCR Çeşitleri

PCR'nin spesifitesi, oligonükleotid primer uzunluğu, birleşme (annealing) sıcaklığı ve tampon tuz konsantrasyonu gibi birçok karmaşık, birbiriyle bağlantılı faktöre bağlıdır. PCR'nin büyük bir dezavantajı sürecin kontaminasyona duyarlılığıdır. Bu dezavantajların üstesinden gelebilmek için, farklı PCR çeşitleri geliştirilmiştir. Multiplex PCR, gerekli tüm primerleri tek bir reaksiyona yerleştirerek birkaç hedef

bölgenin çoğaltılmasını sağlar.[167, 168] Farklı bakteri türlerinin aynı anda saptanmasına olanak veren bir yöntemdir. Nested PCR yönteminde ilk amplifikasyondan sonra ilk PCR ürünündeki daha küçük spesifik dizileri tamamlayan 2. set kullanılarak reamplifikasyon gerçekleştirilir. Eğer amplifikasyonun ilk aşamasında spesifik olmayan diziler oluşur ise, bu non-spesifik ürünler genellikle 2. turda kullanılan nested primerleri tamamlamayacaktır.[169] En önemli dezavantajı ilk reaksiyon amplifikasyon ürünlerinin ikinci reaksiyon tüplerine transferi sırasında kontaminasyon riskinin oldukça yüksek olmasıdır.[162] Kantitatif PCR, PCR ile tespit edilen tüm DNA fragmanlarının sayısallaştırılmasını sağlar.[170] DNA'nın PCR ile ölçülmesi periodontal mikrobiyal teşhis konusunda önemli bir potansiyele sahiptir, çünkü çok sayıda örneğin analizini geleneksel zahmetli ve zaman alıcı yöntemlerden nispeten kolay bir şekilde sağlar. Bununla beraber güvenilir ve tekrarlanabilir kantitatif PCR geliştirmenin bir takım teknik zorlukları vardır. Günümüzde, kantitatif PCR için tercih edilen yöntem, her döngünün sonunda ürün miktarının sürekli izlenmesidir. Bu ise gerçek zamanlı(real-time) kantitatif PCR ile gerçekleştirilir. Her tek devirin sonunda üretilen PCR miktarı ölçülerek, PCR büyüme eğrileri çizilebilir ve ölçümler, reaksiyonun katlanarak büyüyen bölgesinden alınabilir.[171]. Real time PCR metodunun SYBR- Green, Molecular Beacon ve *Taq*Man gibi farklı yaklaşımları vardır. En basit ve en hesaplı yöntem olan SYBR-Green, çift sarmallı DNA'ya bağlanan bir floresan boya kullanır. SYBR-Green testi çok duyarlıdır ancak herhangi bir çift sarmallı DNA'nın varlığı floresan oluşturduğu için, çok spesifik değildir.[172]

TaqMan yöntemi, SYBR-Green yönteminden daha spesifik ve klinik olarak daha kolay uygulanabilirdir. TaqMan testinin spesifitesi, Taq polimerazın 5 '→ 3' ekzonükleaz aktivitesinin kullanımından kaynaklanmaktadır.[173] Moleküler beacon yönteminde ise, PCR yöntemi, kök-ve-halka (stem and loop) yapısına sahip tek sarmallı

nükleik asit molekülleri olan moleküler işaretleri kullanır. Halka kısmı, hedef bir nükleik asitte önceden belirlenmiş bir diziye tamamlayıcıdır. Sap kısmı, prob dizisinin her iki yanında bulunan tamamlayıcı kol dizilerinin birleşmesiyle oluşturulur.[174]

Real-time PCR, Taq- Man sistemi subgingival plakta ilk olarak *T. forsythensis* miktarını belirlemede kullanılmıştır.[175] Daha sonradan bu sistem plak örneklerindeki *P.gingivalis'in* hem yoğunluğunu hem de toplam miktarını belirlemek için kullanılmıştır.[176] Real-time PCR; SYBR Green dye ve Light Cycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) sistemi, tükrük ve subgingival plak örneklerinde ilk olarak *A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis, T. forsythensis, T. denticola, T. Socranskii* gibi periodontopatojen bakterileri tespit etmek ve miktarını belirlemek için kullanılmıştır.[177]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na lokalize ağrı, şişlik ve hassasiyet şikayeti ile tedavi için başvuran, periodontal sondalamada kanama ve süpürasyonu olup periodontal apse teşhisi konan 20 gönüllü birey dahil edildi.

Hasta seçiminde aranan kriterler;

Sistemik olarak sağlıklı olması (diyabet, tümör, AIDS, böbrek veya karaciğer hastalıkları, gastrointestinal problemleri olmayan),

18 yaş üzeri olması,

Gebelik ve laktasyon bulunmaması,

Son 4 hafta içinde herhangi bir antibiyotik kullanmamış olması,

Son üç ay içinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olması,

Rutin muayene sonucunda radyografik muayene ve vitalite testlerini temel alan endodontal apse teşhişi konmamış olması.

Çalışmamız için Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu tarafından 22.11.2016 tarih ve 13/2016 numara ile onay alındı. Hasta seçim kriterlerine uygunluk gösteren hastalardan tedaviye başlamadan önce 'Bilgilendirilmiş Onam Formu' alındı. Araştırma basamakları; periodontal apse örneklerinin alınması, bakterilerin izolasyonu, morfolojik özelliklerin belirlenmesi, kültür özelliklerinin belirlenmesi, fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi, izolatların genomik DNA'larının izolasyonu, 16S rRNA geninin PCR yardımı ile artırılması, 16S rDNA PCR ürünlerinin

elektroforezi, 16S rRNA geninin baz dizisinin ortaya çıkarılması ve gen bankasındaki sıralarla karşılaştırılması olarak uygulandı.

3.2. Periodontal Apse Örneklerinin Alınması

Örnek alınacak bölge pamuk rulolar ile izole edildi, supragingival plak steril bir pamuk palet yardımı ile alındı, mukoza dekontaminasyonu sağlandıktan sonra periodontal apse içeriği steril bir enjektör yardımı ile aspire edilerek PBS (phosphate buffer saline PH: 7.2) içeren deney tüplerine konuldu ve bekletilmeden çalışmanın yapılacağı Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne götürüldü.

3.3. Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Besiyerlerinin Hazırlanışı

phosphate buffer saline: Paketteki hazır tablet tarif edildiği şekilde su ile çözülerek pH'ı ayarlanan çözelti hazırlandı. (pH: 7.2)

Tripticase soy broth yeast (TSBY): 30 g tripticase soy agar karışımı (Oxoid), 3g. yeast extract ve 15g. agar agar 1 L saf su içerisine ilave edildi. Besiyeri otoklavda steril edildi. 45-50^{o}C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakıldı.

Brain heart infusion agar: 52 g brain heart infusion agar karışımı (Difco) 1 L saf su içerisine ilave edildi. Besiyeri otoklavda steril edildi. 45-50^{o}C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakıldı.[178]

Colombia Agar: 12,5 ml kan

Modifiye tyriptic soy agar (MTSA): 40 g.TSA ve 3g yeast extract 1 L. saf su içerisine eklendi. Besiyeri otoklavda steril edildi ve 45-50^{o}C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere alınarak katılaşmaya bırakıldı.

TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH: 8) tamponu: 0,3 g Tris-HCl ve 0,093 g EDTA saf su içerisinde çözüldü ve pH 8'e ayarlandı. Son hacim 250 ml'ye tamamlanarak otoklavda steril edildi.[179]

%10'luk SDS çözeltisi: 10 g SDS'nin 100 ml steril saf su içerisinde çözünmesiyle hazırlandı. Şişenin ağzı kapatılarak, oda sıcaklığında muhafaza edildi.[179]

Proteinaz K: 1 ml steril saf su içerisinde 20 mg proteinaz K olacak şekilde hazırlandı. -20^{o}C'de saklandı.[179]

5 M NaCl çözeltisi: 29,22 g NaCl'ün 100 ml saf su içerisinde çözülmesiyle hazırlandı. Otoklavda steril edildi.[179]

%10 CTAB (Hexadecyl trimetil-ammonium bromide)-0,7 M NaCl çözeltisi: 80 ml saf su içerisinde önce 4,09 g NaCl çözüldü. NaCl tamamen çözündükten sonra karışıma 10 g CTAB ilave edilerek çözünmesi sağlandı. Toplam hacim 100 ml'ye tamamlandıktan sonra otoklavda steril edilerek, oda sıcaklığında muhafaza edildi.[179]

%70'lik Etil alkol: 70 ml saf etil alkolün hacmi steril saf su ile 100 ml'ye tamamlandı. -20^{o}C'de muhafaza edildi.

20X Dimetil sülfoksit (DMSO): %100' lük DMSO (Sigma) 2ml'lik eppendorf tüplere aktarılarak, kullanılana kadar oda ısısında muhafaza edildi.[179]

1XTAE Tamponu: 100 ml 10XTAE'nin (Sigma) hacmi steril distile su 1 L'ye tamamlanarak hazırlandı.

Ethidium bromür çözeltisi: 100 ml steril saf su içerisinde 1 g ethidium bromür magnetik karıştırıcı kullanarak iyice çözüldü. Amber şişede, oda sıcaklığında muhafaza edildi.[180]

6X yükleme tamponu: 100 ml için %100'lük gliserolden 40 ml alıp, 0,1 g bromfenol blue ile karıştırıldı ve hacmi 1x TAE ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan tampon amber şişe içerinde, +4^{o}C'de saklandı.[180]

3.4. Bakterilerin İzolasyonu

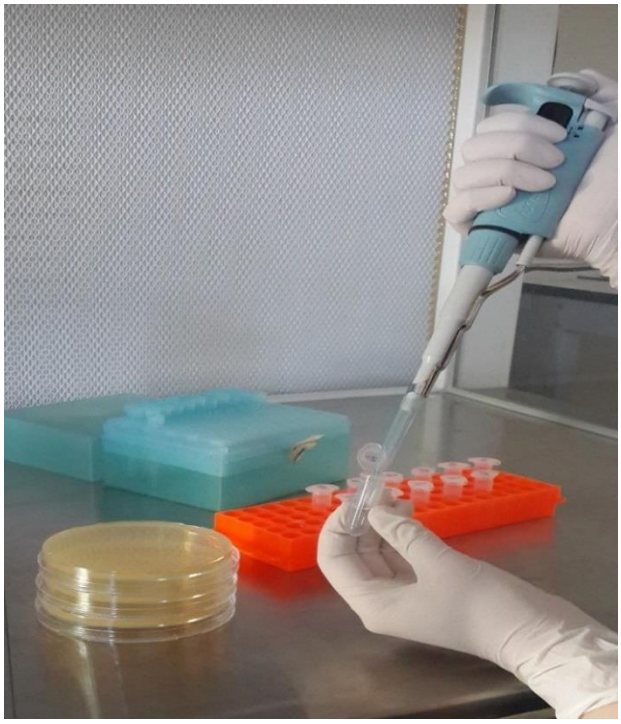
Tüm örnek alma ve taşıma işlemlerinde aseptik kurallara dikkat edildi. Örnekler çalışma yapılıncaya kadar (en geç iki saat içerisinde çalışmaya başlandı) +4^{o}C'de buzdolabında muhafaza edildi. 1 apse örneği 1ml steril %0.9'luk tuzlu su veya fosfat tamponu içerisinde nazikçe homojenize edilerek, bir seri dilüsyonu (10^{-6}'e kadarlık dilüsyon serisi) hazırlandı. Hazırlanan dilüsyonların her birinden üç paralel olmak üzere, TSBY (Trypticase Soy Broth with Yeast extract), Kanlı Colombia Agar, BHI (Brain Heart Infusion) ve kanlı TSA besiyerlerine ekilerek, örneklerin kültürleri 37^{o}C'de iki gün süresince etüvde, aerobik ortamda ve anaerobik ortam sağlamak için anaerobik jar ve kit sistemi ile sağlanan anaerobik ortamlarda inkübe edildi.

Çalışmanın ilk kısmında genel incelemeler ve sayımlar yardımı ile en iyi üreme ve koloni oluşturma ortamı belirlenmiş ve genel olarak büyük farklılıklar olmadığı için TSBY besiyeri ve aerobik şartlar ile çalışmaya devam edilmiştir. Aerobik ve anaerobik ortamlarda geliştirilen örnekler kıyaslandığında sadece çeşit ve sayı değil genel gelişim durumları da gözlemlenmiştir. Anaerobik ortamda az sayıda ve oldukça küçük koloniler halinde gelişen örneklerin aerobik çalışmalarda gözlemlenmemesi bu kolonilerin anaerobik örneklere ait olduğunu düşündürmüş ancak genel sayı itibari ile incelemeye değer bulunmamıştır.

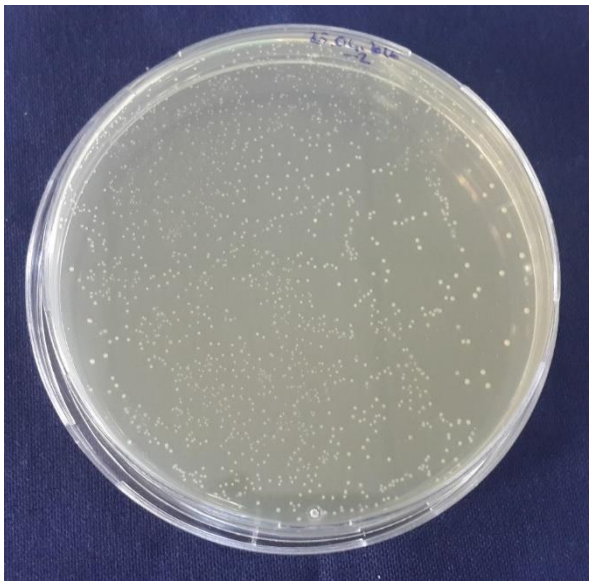
İnkübasyonun; 2. günün sonunda petri plaklarında gözlemlenen sayısal olarak dikkat çekecek sayılarda olan farklı kolonilerden yeni besiyerlerine alınarak saflaştırma yapıldı. Elde edilen saf koloniler, koloni morfolojileri ve ışık mikroskobunda basit ve

çeşitli differansiyel boyamalar yapılarak mikromorfolojileri karşılaştırılarak, farklı olduğu düşünülen izolatlar seçildi ve diğer karakterizasyon işlemlerine kadar %16'lik gliserol içeren NB içerisinde -86 ^{o}C'de saklandı.[181]

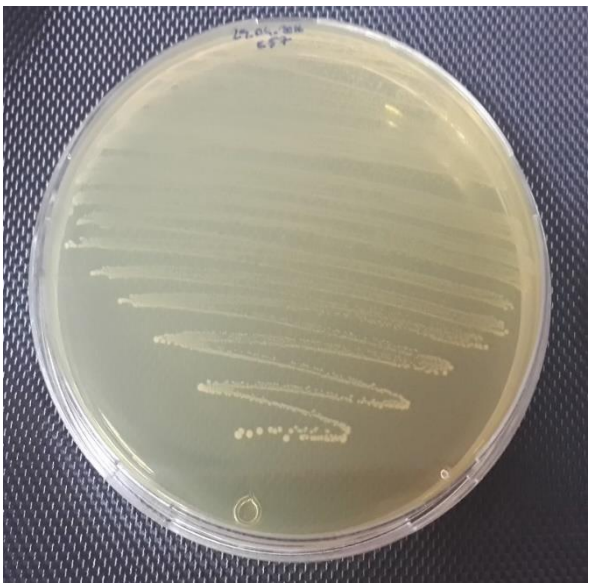
Şekil 3.1. TSBY besiyerinin hazırlanması



Şekil 3.2. Periodontal apse örneğinin ependorf içinden otomatize pipet ile alınması



Şekil 3.3. TSBY besiyerinde 2.günün sonunda görülen koloniler



Şekil 3.4. Saflaştırılan bir koloninin besiyerinde çoğaltılması

3.5. Morfolojik Özelliklerin Belirlenmesi

Mikroskop altında, bakterilerin yapıları (kokoid, çomak, virgül, spiral, pleomorfik, vs.), boyutları, spor durumu (var veya yok, varsa terminal, subterminal, santral, lateral), boyanma özelliği (gram negatif veya pozitif, vb.) gibi incelemeler yapıldı.[182, 183]

3.6. Kültür Özelliklerinin Belirlenmesi

İzolatlar katı besiyerlerine nokta veya çizgi ekim şeklinde kontamine edilip, koloni meydana getirmeleri beklenmiş, koloni morfolojisi, mikroskopla incelenerek üstten görünüşleri, yüksekliği, kenar şekilleri ve rengi tespit edilmiştir.[184, 185]

3.7. Fizyolojik Özelliklerin Belirlenmesi

Elde edilen izolatların maksimum, minimum ve optimum büyüme sıcaklıkları, nutrient broth besiyerinde büyütülüp spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda yapılan ölçümler sonucunda ortaya çıkarılmıştır. İzolatların atmosferik oksijen ihtiyaçları,

"Brain Heart Infusion Agar" besiyerini ihtiva eden deney tüplerine yapılan inokülasyonlar sonucunda, büyümenin olduğu bölgeye göre belirlenmiştir.[178, 182]

3.8. İzolatların Genomik DNA'larının İzolasyonu

İzolatların genomik DNA izolasyonu için Wilson (1997)[179]'den uyarlanan protokol uygulanmıştır.

Genç kültürler TSBY agar besiyerinde geliştirildikten sonra öze yardımı ile 1 öze dolusu toplanarak 2 ml'lik steril eppendorf tüplerine alındı. Eppendorflara 567 µl TE tamponu eklenerek homojenize edildi. 30 µl %10'luk SDS ve 3 µl proteinaz K eklendi. Alt üst edilerek karıştırıldıktan sonra 37^{o}C'de 1 saat bekletildi. 1 saat sonra tüpe 100 µl 5M NaCl eklendi ve karıştırıldı. Tüpe 80 µl 65^{o}C CTAB/NaCl çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve su banyosunda 65^{o}C'de 10 dakika bekletildi. 780 µl kloroform:izoamil alkol (24:1) eklenerek alt-üst edilerek karıştırıldı. 4^{o}C'de 12000 rpm 5 dakika santrifüjlendi. Üst faz alt faza dokunulmadan alınarak yeni steril eppendorf tüplerine aktarıldı. Üzerine eşit hacim fenol: kloroform: izoamil alkol (25:24:1) eklenerek alt-üst edilerek karıştırıldı. 4^{o}C'de 12000 rpm 5 dakika santrifüjlendi. Üst faz alt faza dokunulmadan alınarak yeni steril eppendorf tüplerine aktarıldı. Üzerine 0,6 hacim soğuk -20^{o}C izopropanol eklenerek alt-üst edilerek karıştırıldı. 4^{o}C'de 12000 rpm 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı ve tüpün dibinde kalan pelet %70'lik alkol ile dikkatlice yıkandı ve kurutuldu. Kuruyan DNA 100 µl TE tamponunda çözülerek %0,6'lık agaroz jelinde yürütüldü ve jelde tek parça bant veren örnekler 4^{o}C'ye kaldırılarak çalışmalar için hazır hale getirildi.

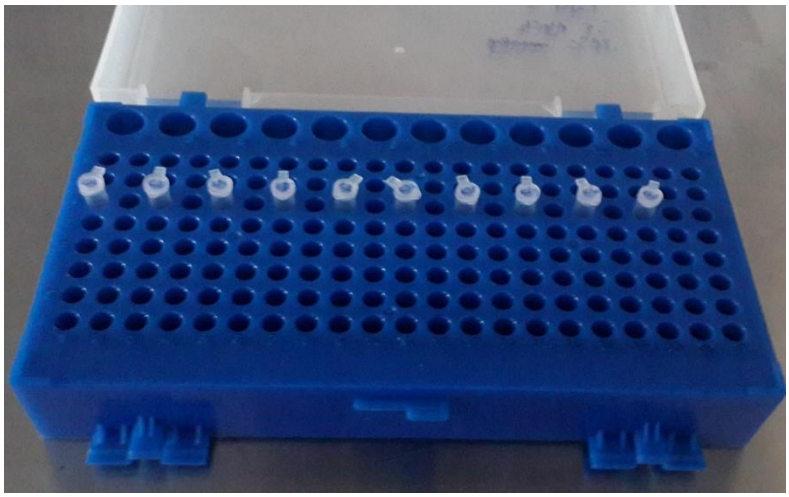
3.9. 16S rRNA Geninin PCR Yardımı ile Artırılması

PCR'ı yapılacak her bir örnek için 70 µl'lik reaksiyon hazırlandı. Bir örnek için hazırlanan reaksiyon; 7 µl 10 x PCR tamponu (100 mM Tris – HCl, 500 mM KCI, 15 mM MgCl2, %0,01 jelatin pH: 8,3), 1,4 µl dNTP (deoksinükleotidtrifosfatlar: dATP,

dGTP, dCTP, dTTP – 10 mM), 0,7 µl 50 µM primer 27F (forward 5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG -3'), 0,7 µl 50 µM primer 1492R (reverse 5'- GGT TAC CTT GTT ACG ACT T -3'), 2,8 µl DMSO, 4,2 µl MgCl2, 0,7 µl 5 unit/µl *Taq* DNA polimeraz ve 51 µl steril saf su ile 68,5 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlandı. Karışıma son olarak 1,5 µl kalıp DNA eklenerek son hacim 70 µl' ye tamamlandı.

Hazırlanan örnekler, 95^{o}C'de 2 dakika denatürasyon, bunu takiben 36 döngü olacak şekilde 94^{o}C'de 1 dakika denatürasyon, 53^{o}C'de 1 dakika bağlanma ve 72^{o}C'de 2 dakika uzama basamakları ve son olarak 72^{o}C'de 5 dakika uzama basamağından oluşacak şekilde programlanan PCR termal döngü cihazına (Applied biosystems Proflex PCR System) yerleştirildi ve seçilen hedef bölgelerin çoğaltılması yapıldı. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl'si % 1'lik agaroz jelde yürütülerek ve etidyum bromür boyası (0,5 µg/ml) ile boyandıktan sonra jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.[186]

Resim 3.5. Çalışmada kullanılan PCR cihazı



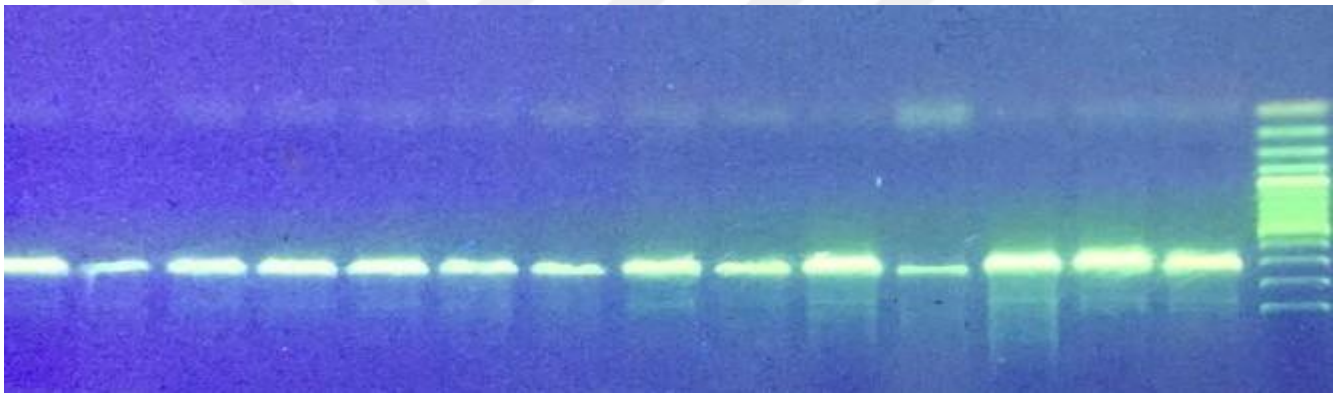
Şekil 3.6. Ependorf içinde DNA izolasyonu yapılmış örnekler

3.10. 16S rDNA PCR Ürünlerinin Elektroforezi

1,2 gr agaroz üzerine 120 ml 1XTAE tamponu ilave edildi. Karışım mikrodalga fırında iyice çözününceye kadar kaynatıldı. Agarose jel 50^{o}C'ye kadar soğutulduktan sonra 0,6 µl etidium bromür eklenerek, içerisine tarak yerleştirilmiş olan elektroforez jel küvetine döküldü. 15-20 dakika beklenerek jelin donması sağlandı. Donan jelden taraklar dikkatlice çıkarıldı ve içerinde 1XTAE tamponu bulunan elektroforez tankının içine yerleştirildi. Jeldeki ilk çukura, DNA markırından [50-100-200-300-400-500-750-1000-1400-1500-2000-3000-4000-6000-8000-10000] (Sigma D7058) 8 µl yüklendi. Diğer çukurlara ise her bir örnek için 2 µl 6X yükleme tamponu, 8 µl PCR ürünü karıştırılarak yüklendi.

Elektroforez jel düzeneği 90 volta ayarlanarak örnekler 75 dakika yürütüldü. Yürütme işleminden sonra jel, jel dökümantasyon sistemi ile görüntülendi ve bilgisayar ortamında (DNR BioImaging Systems Software) analiz edildi.

Şekil 3.7. Jel elektroforez tankı



Şekil 3.8. PCR analizinde örneklerin agaroz jeldeki görüntüsü

3.11. 16S rRNA Geninin Baz Dizisinin Ortaya Çıkarılması ve Gen Bankasındaki Sıralarla Karşılaştırılması

Elde edilen amplikonlar hizmet alımı yoluyla otomatik dizi analizatörleri aracılığıyla DNA dizi analizleri yaptırıldı. Analizler sonucu düzenlenen nükleotid dizileri NCBI kütüphaneleri (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi) ile homolojilerinin belirlenmesi için BLAST işlemi yapıldı. Sonuç olarak değerlendirmelerin sonunda gen dizileri GenBank'a girilerek kabul numaraları alındı.[21, 187]

4. BULGULAR

Çalışmada periodontal apse tanısı konulan ve çalışma kriterlerini sağlayan 20 hastadan 20 periodontal apse örneği alınmıştır. Bu örnekler uygun besiyerlerine (TSBY agar) 3 paralel ekildikten sonra 3 besiyerine bakılarak toplamda göreceli olarak en yoğun üreme gösteren 3 farklı bakteri tespit edilerek saflaştırılmıştır. Toplamda her bir örnekten 3'er farklı bakteri olmak üzere 60 bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin DNA izolasyonu yapıldıktan sonra PCR yöntemi ile hedef bölgeler çoğaltılmıştır ve hizmet alımı ile DNA dizi analizi yapılmıştır. Sonuç olarak gen dizileri GenBank'a girilerek kabul numaraları alınan bakterilerin, *Streptococcus, Staphylococcus, Neisseria, Actinomyces, Morococcus, Moraxella, Bacillus* ve *Enterococcus* türleri olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen ve tanılanan bakterilerin isimleri ve kabul numaraları aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Tablo 4.1. İzolasyonu yapılarak kabul numaraları alınmış bakteriler

İzolatın Kodu	**İzolatın Tanısı**	**Tanı Yüzdesi**	**Baz sayısı**	**Kabul numarası**
K1	*Staphylococcus haemolyticus*	100	1411	MF578766
K2	*Streptococcus mitis*	99	1357	MF578767
K3	*Neisseria sicca*	99	1397	MF578768
K4	*Neisseria sicca*	99	1411	MF578769
K5	*Staphylococcus equorum*	100	1422	MF578770
K6	*Neisseria sicca*	99	1412	MF578771
K7	*Neisseria subflava*	99	1396	MF578772
K8	*Neisseria sicca*	99	1401	MF578773
K9	*Streptococcus mitis*	100	1406	MF578774
K10	*Streptococcus pneumoniae*	100	1400	MF578775

K11	*Streptococcus pneumoniae*	99	1440	MF578776
K12	*Streptococcus pneumoniae*	99	1424	MF578777
K13	*Streptococcus pneumoniae*	99	1424	MF578778
K14	*Streptococcus mitis*	99	1408	MF578779
K15	*Streptococcus mitis*	99	992	MF578819
K16	*Streptococcus massiliensis*	99	1421	MF578780
K17	*Streptococcus gordonii*	99	1401	MF578781
K18	*Streptococcus anginosus*	100	1412	MF578782
K19	*Streptococcus gordonii*	99	1458	MF578783
K20	*Neisseria elongata*	99	1404	MF578784
K21	*Streptococcus pneumoniae*	100	1401	MF578785
K22	*Streptococcus pneumonia*	99	1347	MF578786
K23	*Streptococcus mitis*	99	1408	MF578787
K24	*Morococcus cerebrosus*	99	1416	MF578788
K25	*Moraxella spp.*	98	1401	MF578820
K27	*Streptococcus gordonii*	100	1439	MF578789
K28	*Actinomyces naeslundii*	99	1419	MF578790
K29	*Streptococcus penumonia*	99	1411	MF578791
K30	*Streptococcus pneumoniae*	99	1425	MF578792
K31	*Streptococcus pneumoniae*	99	1427	MF578793
K32	*Streptococcus mitis*	99	1424	MF578794
K33	*Streptococcus gordonii*	99	1435	MF578795
K34	*Streptococcus mitis*	99	1410	MF578796
K35	*Staphylococcus sp.*	97	945	MF578821

K36	*Enterococcus casseliflavus*	99	1423	MF578797
K37	*Streptococcus spp.*	97	1044	MF578825
K38	*Streptococcus oralis*	99	1409	MF578798
K39	*Streptococcus cristatus*	99	1406	MF578799
K40	*Actinomyces oris*	99	1396	MF578800
K41	*Streptococcus sinensis*	99	1409	MF578822
K42	*Streptococcus constellatus*	100	1435	MF578801
K43	*Bacillus spp.*	99	1079	MF578823
K44	*Streptococcus gordonii*	100	1414	MF578802
K45	*Streptococcus constellatus*	100	1416	MF578803
K46	*Actinomyces odontolyticus*	99	1018	MF578824
K47	*Streptococcus sanguinis*	99	1395	MF578804
K48	*Streptococcus oralis*	99	1403	MF578805
K49	*Neisseria elongata*	99	1404	MF578806
K50	*Actinomyces oris*	99	1409	MF578807
K51	*Streptococcus mutans*	99	1419	MF578808
K52	*Streptococcus sanguinis*	99	1399	MF578809
K53	*Streptococcus constellatus*	99	1419	MF578810
K54	*Actinomyces naeslundii*	99	1392	MF578811
K55	*Actinomyces naeslundii*	99	1404	MF578812
K56	*Streptococcus mitis*	99	1406	MF578813
K57	*Streptococcus anginosus*	99	1417	MF578814
K58	*Streptococcus anginosus*	99	1410	MF578815
K59	*Streptococcus anginosus*	100	1403	MF578816

K60	*Morococcus cerebrosus*	99	1402	MF578817
K61	*Streptococcus oralis*	99	1407	MF578818

20 hasta üzerinde yapılan çalışmada en yaygın olarak *Streptococcus* türleri (9 örnekte *S. pneumoniae,* 8 örnekte *S. mitis*, 5 örnekte *S.gordonii*, 4 örnekte *S.anginosus*, 2 örnekte *S. sanguinis*, 1 örnekte *S. massiliensis*, 1 örnekte *Streptococcus spp*., 1 örnekte *S.cristatus,* 1 örnekte *S.sinensis*, 1 örnekte *S.mutans*) daha az miktarda, *Neisseria* türleri (4 örnekte *N. Sicca*, 2 örnekte *N.elongata*, 1 örnekte *N.subflava*), Actinomyces türleri (3 örnekte *A. naeslundii*, 1 örnekte *A. odontolyticus*), *Staphylococcus* türleri, (1 örnekte *S.haemolytıcus*, 1 örnekte *S. equorum*, 1 örnekte *Staphylococcus spp*.), *Morococcus* türleri (2 örnekte *M. Cerebrosus*), *Moraxella spp, Bacillus spp*. ve *Enterococcus casseliflavus* türlerini tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Geçmişten günümüze periodontal apselerin mikrobiyal içeriği üzerine yapılan çalışmalar periodontal hastalık patojenlerini apse içeriğinde belirlemeye yönelik yapılmıştır. Bu çalışmalarda kültür yöntemi enzimatik, biyokimyasal testler ve PCR kullanılmıştır. Kültür yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda önemli periopatojenlerden biri olan *P.gingivalis* , %55-%100 aralığında yüksek bir oranda bulunmuştur. *F.nucleatum* ise Herera ve ark.[6] tarafından %70.8, Jaramillo ve ark.[96]'nın çalışmasında ise %75 oranında bulunmuştur. Fakat bazı otörlere göre ise bu oran %44.4 - %65 aralığında değişmektedir.[1, 7, 8] Yine önemli bir periopatojen olan *T. forsythıa* ise Herrera ve ark.[6, 126] tarafından yapılan iki farklı çalışmada sırasıyla %47.1 ve %66.7 bulunmuştur. *T.forsythıa* üzerinde yapılan bir diğer çalışmada Jaramilllo ve ark.[96] bu oranı %15 gibi düşük seviyede bulmuştur. Jaramillo ve ark.[96] ile Hafstrom ve ark.[1] tarafından yapılan çalışmalarda A. *actinomycetemcomitans* sırasıyla %30 ve %25 gibi düşük değerlerde tespit edilmiştir. Bu yazarlar (Herrera ve ark.[6], Hafstrom ve ark.[1] , Jaramillo ve ark.[96]) *Campylobacter rectus* oranını sırasıyla, %4,2, %80, %11,7 gibi farklı oranlarda tespit edilmiştir. Prevotella türlerinden *P. Melaninogenica*, Newman ve ark.[7] tarafından %22 oranında, *P.intermedia/nigrescens* Jaramillo ve ark.[96]'nın çalışmasında %60 oranında, *P.intermedia*'yı ise Topoll ve ark.[8] ile Hafstrom ve ark.[1] %25-100 aralığında belirlemişlerdir. Araştırmacılar tarafından farklı oranlarda belirlenen bir diğer bakteri ise *Micromonas micros* olmuştur. Herrera ve ark.[6] micromonas micros oranını %70.6 olarak rapor etmiş iken Jaramillo ve ark.[96] bu oranı %3.3 olarak belirlemişlerdir. Periodontal hastalık gibi birçok bakterinin etken olabileceği apselerde bu patojenlerin bulunması ve yoğunlukları normal olarak değerlendirilebilir.

Kültür yöntemi dışında enzimatik, biyokimyasal testlerle veya antimikrobiyal duyarlılığa göre tanılama işleminin yapıldığı çalışmalarda periodontal apselerde çok daha farklı bakteri türlerine ulaşılmıştır. Jaramillo ve ark.[96] tarafından *Enterobacter aerogenes*, %3.3, *pseudomonas spp*.,(%3.3), *Klebsiela pneumonıae*, (%1.7), *Acinetobacter lwofii*, (%1.7) oranında bulunmuştur. *Peptostreptococcus micros*'un periodontal apseler ile ilişkisi ilk olarak Herrera ve ark.[6]'nın çalışmasında ortaya konmuştur ve prevelansı %70.6 olarak bulunmuştur. Krishna ve ark. 'nın [188] periodontitis varlığında periodontal apse mikrobiyolojisini inceledikleri çalışmada *P.micros* oranı, kronik generalize periodontitis varlığında %66.4, kronik lokalize periodontitis varlığında %71.9 olarak bulunmuştur. Xie Yi ve ark.[133] kültüre edilebilen bakterileri antimikrobiyal duyarlılıklarına göre belirleyip izole ettikten sonra PCR yöntemi apselerde var olması beklenmeyen *Shuttleworthia* ve *Propionibacterium* türlerini tanılamıştır.

Trapenoma türlerinin karanlık alan mikroskobu ile bakılarak tespit edildiği çalışmalarda, Trope ve ark. tarafından %40.6, Lekaa ve ark.[125] tarafından %47.8 olarak bulunmuştur.

Ashimoto ve ark. 'nın [97] PCR yöntemiyle yaptıkları bir çalışmada *T.forsythıa* %14.3, *P.gingivalis* %100 olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda periodontal apse mikrobiyolojisinin ağırlıklı olarak periodontal mikrobiyoloji ile ilişkili olduğu görülmektedir. Bunun sebebi enfeksiyon kaynağının bulunduğu anatomik bölgeyle ilişkili olduğu düşüncesi doğrultusunda çalışılmasıdır. Periodontal apsenin mikrobiyolojik içeriğini belirlemek için yapılan çalışmalarda periodontal apse içeriğinde bulunması muhtemel spesifik bakterilere yönelik ve hatta bakteriler önceden belirlenerek çalışılmıştır. Bu durum periodontal

apselerin farklı bir bakış açısıyla incelenmesi gereğini doğurmuştur. Çünkü dental apselerin vücudun çeşitli bölgelerinde apselere ve sistemik enfeksiyonlara bu enfeksiyonların da şok[48], ölüm[49] gibi ciddi komplikasyonlara sebep olabileceği bilinmektedir. Dolayısıyla periodontal apse içeriğindeki bakterileri bilerek ve bu bakterilerin sebep olabileceği komplikasyonların bilincinde olarak periodontal apse tedavisinin yapılması önemlidir.

Gelişen teknoloji doğrultusunda periodontitis için yeni muhtemel patojenlerin ortaya konduğu bir dönemde, kültüre edilebilen fakat patojen olarak henüz sınıflandırılmamış bakterilerin periodontal apse için etken olmasını beklememek için bir neden yoktur. Periodontal apse ve periodontal apsenin ilerlemesinde bakteriyel markerların tespiti için çeşitli mikrobiyolojik metotlar yukarıda bahsedildiği üzere kullanılmıştır. Fakat görüldüğü gibi çalışmaların çoğu iyi tanınan bakteri türlerini belirlemeye yönelik yapılmış, bu bakterilerin yanısıra farklı bakteriyel etkenlerin de katkı sağlayıp sağlamadığına dair bir araştırma yapılmamıştır. Bu araştırmada periodontal apse örneklerindeki kültüre edilebilen aerob ve fakültatif bakterilerden besiyerinde diğer bakterilere göre en fazla olarak gelişen koloni örnekleri izole edilip, moleküler yöntemler ile tanımlanması hedeflenmiştir. Literatürde kültüre edilebilen bakterilerden kültür yönteminde sayısal olarak en fazla çıkanların 16S rDNA'nın PCR ile çoğaltılan bölge baz dizisi analizinin Gen Bankasında var olan dizilerle karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır.

Araştırmamızın sonuçlarına göre kültür ortamında en fazla çoğalan ve bu nedenle en fazla izole ettiğimiz bakteriler, viridans grubu streptokoklar (VGS)'dır. Viridans grubu streptokoklar gram pozitif, fakültatif anaerob koklardır. Genetik olarak heterojen bir bakteri grubu olan viridans grubu streptokoklar orofarinkste baskın bakterilerdir. Fakültatif streptokoklar diş plağı florasında %27 oranında bulunur. Dişeti

florasında ise gram pozitif fakültatif koklar %28.8 oranında yer alır. Viridans grubu streptokoklar aerob teknikler kullanıldığında periodontal apselerden en çok izole edilen türdür.[94]

Araştırmamızda periodontal apse içeriğinde viridans grubu streptokokların alt grubu olan mitis grubuna ait *Streptococcus pneumoniae* (9 örnek), *Streptococcus mitis* (8 örnek), *Streptococcus oralis* (3 örnek) , *Streptococcus cristatus* (1 örnek) ve *Streptococcus spp*.(1 örnek) en yoğun üreyenler olarak izole ettik.

Periodontal apselerden en fazla izole edilen viridans grubu streptokok *Streptococcus pneumoniae* idi. Pnömokoklar üst solunum yolunun mukoza yüzeyi üzerinde bulunmakta ve insanların nazo-orofarinksinden kolaylıkla kültüre edilebilmektedir. Pnömoni, menenjit, sinüzit, akut kronik bronşit ve otitis media alevlenmelerinden sorumlu önemli patojenlerdirler.[189-191] Ayrıca, endokardit ve septik artrit de dahil olmak üzere diğer enfeksiyöz durumlarla da ilişkilidir.[191] *S. pneumoniae*'nin en sık solunum yolu patojenleri olduğu düşünülse de diğer patojenlerle birlikte deri enfeksiyonuna neden olabilmekte veya bakteriyemi sırasında bir başka primer bölgeden cilde yayılması sonucunda deri enfeksiyona sebep olabilmektedir. Literatürde pnömokokal selülit vakası bildiren yayınlar mevcuttur.[192] Ayrıca *S.pneumoniae* kaynaklı endoftalmit vakalarına da rastlanmıştır.[193] Pnömokokların beyin apsesiyle ilişkili olduğuna yönelik çok sayıda beyin apsesi vakası da mevcuttur.[194] Yaptığımız araştırma ile birçok enfeksiyöz durumla ilişkisi bulunan *S. pneumoniae* periodontal apseler içinde ilk defa tespit edilmiştir.

İkinci yoğun bulunan viridans grubu streptokok *Streptococcus mitis* idi. Kommensal türlerden olan *Streptococcus mitis*, ağız boşluğunun erken çocukluk döneminden başlayarak hayat boyu baskın öncü kolonizeridir[195] ve ikincil kolonizerler için aderans bölgeleri sağlayarak oral biyofilmlerin temelini oluşturduğu

düşünülmektedir.[196] Oral streptokoklar arasında *S. mitis* enfektif endokardit ve bakteriyeminin önde gelen bir nedeni olarak bilinmektedir. İngiltere' de Sağlık Koruma Ajansı tarafından yapılan çalışmalarda, *S. mitis'in* neden olduğu bakteriyemi oranı grup A veya grup B streptokoklarınınkinden daha fazladır. Çoğunlukla nötropenik, bağışıklık sistemi zayıf hastaların ve sitotoksik anti-kanser kemoterapi uygulanan hastaların enfeksiyonlarında ortaya çıkmakla beraber immün sistemi iyi olan hastalarda da enfeksiyona sebep olduğu bildirilmiştir.[197-201] *S.mitis*'in sebep olduğu bilateral akciğer apsesinin gösterildiği immün sistemi iyi olan bir vaka bulunmaktadır.[202] Yapılan bir çalışmada toplum kaynaklı akciğer apsesinin etyolojisi araştırılmış ve en yaygın *Streptococcus* türleri izole edilirken bunların içinde de en yaygın olarak *S. mitis* bulunmuştur.[203] Görüldüğü üzere ağız boşluğunda baskın olarak bulunan *S.mitis*'in periodontal apse içeriğinde bulunması şaşırtıcı değildir ancak periodontal apsede viridans grubu gibi bir genelleme yapılmadan ilk defa çalışmamızda izole edildi.

Kanserli hastalarda bakteriyemiye neden olan 118 VGS suşunun türünü tanımlamak için yakın zamanda geliştirilmiş birçok odaklı dizi analizi şeması kullanılmış ve *Streptocccus mitis* (68 hasta) ile *S. oralis* (22 hasta) en sık saptanan suşlar olarak bulunmuştur. *S. mitis* suşları ile enfekte olan hastaların, orta veya şiddetli klinik hastalığa (VGS şok sendromu gibi) yakalanma olasılıkları daha yüksek olduğu görülmüştür.[204] *Streptococcus oralis* ise tüm intra-oral yüzeylerden izole edilebilen, oral mikrobiyotada sayısal olarak önemli bir kommensal üyedir Dentisyonda birincil kolonizasyona katılan öncü bir organizmadır ve son yıllarda önemli bir patojen olduğu netleşmiştir. Konjenital kalp hastalığı olan 12 yaşındaki bir kız çocuğunda *S.oralis* nedenli bir beyin apsesi vakası bulunmaktadır.[205] Dental prosedürler nedeniyle oluştuğu bildirilen *S.oralis* kaynaklı menenjit vakaları bulunmaktadır.[206, 207] *S. oralis* enfektif endokarditin önemli bir ajanı ve konak savunma mekanizmaları zayıflamış hastalarda

majör bir patojendir.[208, 209] Araştırmamızda ağız florasında bulunan ve farklı bölgelerde enfeksiyonlara neden olan *S.oralis* periodontal apselerden ilk defa izole edilmiştir.

Mitis streptokok grubuna dahil diğer bir bakteri *Streptococcus cristatus*'tur. *S.cristatus,* ağız biyofilmlerinde bulunan bir bakteridir.[210] Bu bakterinin plak biyofilminin oluşumunda rolü büyüktür. 'mısır koçanı' olarak adlandırılan benzersiz bir biselüler düzen oluşturur ve bu bisellüler üniteler, olgun diş biyofilmlerinde belirgindir. Bu durumun streptokok olmayan türlerin plak biyofilmine fikse olmasından sorumlu mekanizma olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber *S. cristatus, P. gingivalis* biyofilmlerinin oluşumunu engeller.[211] Bu sebeple, S.*cristatus'un P. gingivalis* gibi periodontal patojenlerin kolonizasyonunu ve birikimini antagonize ederek konakçıya faydalı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda periodontal apse içeriğinde yaygın bakteri olarak bu bakteriyi tespit etmemiz fırsatçı patojen ihtimalini de düşündürmektedir. Çalışmamız periodontal apse içerisinde *S.cristatus* mevcudiyetini ilk kez ortaya koymuştur.

Son yıllarda keşfedilen ve mitis tür grubuna dahil olabileceği düşünülen *Streptococcus massiliensis* de araştırmamızda izole edilen bir diğer bakteridir. *S.massiliensis* ilk olarak Galzunova ve ark. 'nın[212] yayınlanan bir çalışmasında kafasında kurşun yarası bulunan bir hastanın kan kültüründen izole edilmiştir. Pontigo ve ark.[213] *S.massiliensis*'i tükrükten izole edip bu bakterinin ağız boşluğunun normal florasında bulunduğu da ortaya koymuştur. Diş taşı içeriğindeki varlığı ve kalsifikasyon özelliği Demir ve ark.[214] tarafından tespit edilmiştir. Yine dental kaynaklı derin boyun apselerinde *S.milleri* grubunun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *S.massiliensis* izole edilmiştir.[215] Literatürde periodontal apse içeriğinde *S.massiliensis* saptayan çalışma bulunmamaktadır. Araştırmamız bu bakterinin periodontal apselerdeki mevcudiyetini ilk kez ortaya koymuştur.

Araştırma bulgularımıza göre viridans streptokokların alt grubu olan *Streptococcus milleri* grubu olarak da bilinen *Streptococcus anginosus* grubundan, *Streptococcus anginosus* (4 örnek) ve *Streptococcus constellatus* (3 örnek) periodontal apse örneklerinde mevcuttu. Anginosus grubu bakteriler genellikle ağızda ve üst solunum yollarında, gastrointestinal ve ürogenital sistemlerde yaygın olarak tespit edilen mukozanın primer komensalleridir.[216-219] Bu bakterilerin patojenik potansiyeli, bu mikroorganizmaların kommensal doğası nedeniyle gözardı edilmiştir. Bununla birlikte, bu gruba ait streptokoklar, apselerde ve kan kültürlerinde ilgili patojen olarak artan bir şekilde rapor edilmiştir.[219] Özellikle yetişkinlerde akciğer apseleri, pediatrik hastalarda rinosinüzitten kaynaklanan intrakranial enfeksiyon, cerrahi enfeksiyon ile ilişkili sepsis ve bakteriyel endokardit bildirilmiştir.[220-223] Hastalığın konakçıda altta yatan sebeplerle birlikte ortaya çıktığı diğer VGS türlerinin aksine, *S.anginosus* grubu organizmaları genelde sağlıklı konakçılarda hastalığa neden olur. *S.anginosus*, Sasaki ve ark.'nın[224] yaptığı bir çalışmada dental plaklarda tespit edilirken tükrükte belirlenememiştir. Diş plağının *S. anginosus* için baskın bir rezervuarı olabileceği görülmektedir. Demir ve ark.[214] diş taşı içeriğinden *S.anginosus'un* da varlık ve kalsifikasyon özelliklerini tespit etmişlerdir. Fisher ve ark.'nın[225] çalışmasında *S. anginosus* periapikal odontojenik apselerde saptanmıştır. Lagoroskopik gastrektomi sonrası dalak apsesinde *S. anginosus* izole edildiği bildirilmiştir.[226] Lee ve ark. [227] *S.anginosus*'un neden olduğu menenjit ile ilişkili beyin sapı enfarktüsü vakasını göstermiştir. Ayrıca *S. anginosus* DNA fragmanları, özofagus kanseri dokularından, gastrik kanser dokularından ve yemek borusu displazisinin DNA örneklerinde sıklıkla bulunmuştur.[228, 229] Yaptığımız çalışmanın *S.anginous*'un dental apselerde varlığı belirlenen çalışmalara paralel olduğu görülmektedir.

İzole ettiğimiz diğer anginosus grubu streptokok *Streptococcus constellatus*'tur. Bu organizma diş çürüğünden ve periodontal hastalıktan kültüre edilmiştir bununla beraber beyin apselerinden, gastrointestinal perforasyondan ve obstetrik enfeksiyonlardan da izole edilmiştir.[230] Diş taşı içeriğinden *S.constellatus*'u Demir ve ark.[214] kalsifikasyon gösteren bir bakteri olarak izole etmişlerdir. Dental işlemler sonrası *S.constellatus* kaynaklı kavernöz sinüs trombozu ve septik şok ile sonuçlanan bakteriyemi vakaları da bildirilmiştir.[231] Orbital apse, endoftalmit, çoklu karaciğer apsesi ve beyin apsesi kaynağı olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur.[232-236] *S.constellatus* farklı bölgelerdeki apselerde ve periodontal hastalıkta izole edilmiş olsa da bu bakterinin periodontal apselerdeki varlığını ilk defa ortaya konmuştur.

Araştırmamızda streptokoklara ait viridans grubunda bulunan *sanguinis* grubunda mevcut olan *Streptococcus gordonii* (5 örnek), *Streptococcus sanguinis* (2 örnek), *Streptococcus sinensis* (1 örnek) varlığı ortaya konmuştur.

Strepococcus gordonii daha önceleri dental apselerden de izole edilmiştir. Akut periradiküler apselerin DNA-DNA hibridizasyon yöntemi ile mikrobiyolojik değerlendirilmesinin yapıldığı bir çalışmada 27 apse örneğinin üçünden *S.gordonii* izole edilmiştir.[130] Demir ve ark.[214] diş taşı içeriğinde bu bakteriyi de tespit etmişlerdir. Bir vaka raporunda, bir kadın hastada ortaya çıkan peri-skapular bölge, sağ posterior ve lateral peri-trokanterik alan ve aynı taraf uyluğun yer aldığı çok sayıda subkütan apsede *S.gordonii* izole edildiği bildirilmiştir.[237] *S. gordonii* kaynaklı protetik kapak endokarditini gösteren vaka da bulunmaktadır.[238] Dental apselerde *S.gordonii*'nin izole edildiği çalışmayı destekler yönde araştırmamızda *S.gordonii*'yi periodontal apse içeriğinde izole ettik.

Streptococcus sanguinis ağız, gastrointestinal, genitoüriner ve solunum yollarının normal florasında bulunan bir diğer viridans streptokoktur. *S. sanguinis*

nadiren endokardit, osteomyelit ve menenjit ile de ilişkilendirilmiştir.[239-241] İliopsas apsesinden ve kronik intrameduller apseden *S.sanguinis*'in izole edildiğini bildiren vakalar vardır.[242, 243] *S.sanguinis*'un beyin apsesine sebep olduğu da bildirilmiştir.[244] Çeşitli apselerde varlığı ortaya konan ve Demir ve ark.[214] tarafından diş taşı içeriğinden izole edilen *S.sanguinis* çalışmamız ile periodontal apselerdeki varlığı ilk defa ortaya konmuştur.

2002 yılında kronik romatizma kalp hastalığına yakalanan enfektif endokarditi olan 42 yaşında Çinli bir kadının çoklu kan kültürlerinden, viridans streptokokların yeni bir türü olan *Streptococcus sinensis* keşfedilmiştir.[245] *S.sinensis'in* enfektif endokardit kaynağı olduğunu gösteren farklı yayınlar da bulunmaktadır.[246, 247] Araştırmamız ile bu bakterinin periodontal apselerdeki varlığı ilk defa belirlenmiştir.

Viridans streptokoklara ait *mutans* grubundan sadece *Streptococcus mutans* izole ettik. *Streptococcus mutans,* insanlarda pandemik bir enfeksiyon olarak mevcuttur; yani *S.mutans*, ırk, etnik köken veya coğrafik durum göz önüne alınmaksızın herkeste bulunur. Normalde, *S.mutans* ağız florasının önemsiz, küçük bir komponentidir ve çürüğün başlamasında güçlü bir etkisi vardır. Bununla beraber dentoalveoler apselerin mikrobiotasının moleküler analizinde *S. mutans* baskın mikroorganizma olarak görülmese de içeriğinde tespit edilmiştir.[16] Ayrıca diş taşı içeriğinde kalsifikasyon gösterme kabiliyetinin bulunduğu Demir ve ark.[214] tarafından gösterilmiştir. Monomikrobiyal *S. mutans* enfeksiyonunun neden olduğu retroperitoneal apse vaka raporu vardır.[248] *S.mutans* kaynaklı tekrarlayan infektif endordit vakası da bildirilmiştir.[249] Çalışmamız periodontal apselerde *S.mutans* varlığını belirleyerek dentoalveoler apse mikrobiyotasında tespit edildiği bildirilen çalışmayı desteklemektedir.

Periodontal apselerden *Neisseria* türlerinden ise *Neisseria sicca* (4 örnek), *Neisseria elongata* (2 örnek), *Neisseria subflava* (1 örnek) tespit edildi. *Neisseria* türleri diş plağı florasında %3 oranında, dişeti oluğu sıvısından %0.4 oranında dil florasında ise %2.3 oranında bulunmaktadır. *Neisseria sicca*, ağız boşluğunda belirli bir nüfusu olan ve yavaşça büyüyen, gram negatif diplokoktur. endokardit, peritonit, menenjit, pnömoni, üretrit, bartholin bezi apsesi, septik artrit, diskit, osteomyelit, spondilit ve konjunktivit gibi klinik enfeksiyonlarla nadiren ilişkilidir.[250-252] Enfeksiyonlar genellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda oluşmaktadır. Hepatosellüler karsinom için tekrarlayan transkateter arteriyel embolizasyon sonrasında *N. sicca* nedeniyle oluşan karaciğer apsesi vakası vardır.[253] *N. sicca* menenjiti tanımlanan 5 vaka vardır, bunlardan birisi, ventrikulostomiye bağlı iyatrojeniktir.[254] Ciddi enfeksiyonlara sebep olabilen *N.sicca* bu çalışma ile periodontal apselerden ilk defa izole edilmiştir.

Neisseria elongata, orofarengeal floranın kommensal bir organizmasıdır ancak enfektif endokardit, septisemi ve osteomiyelit gibi enfeksiyonlardan sorumlu olduğu bilinmektedir.[255] *N. elongata* endokarditi, çok nadir olmasına rağmen, sistemik embolizasyon, konjestif kalp yetmezliği ve miyokardiyal apse gibi çeşitli şiddetli komplikasyonlara neden olabilir.[256-260] Talamik septik embolizasyon ve ardından beyin apsesi gelişen bir *Neisseria elongata* endokarditi olgusu da bulunmaktadır.[260] Apselerle ilişkili oduğu bilinen *N.elongata*'nın periodontal apselerde varlığı ilk defa bu çalışma ile belirlenmiştir.

Kan akımı yoluyla menenjit[261] , endokardit[262] ve osteomiyelit[263] vakalarına sebep olduğu ortaya konulan *N. subflava* periodontal apse içeriğinde ilk defa yine bu çalışma ile izole edilmiştir.

Araştırmamızda periodontal apse örneklerinde *Actinomyces* türlerinden ise *Actinomyces naeslundii* (3 örnek), *Actinomyces oris* (2 örnek) ve *Actinomyces*

odontolytıcus (1 örnek) tespit edilmiştir. *Actinomyces* türlerinin insan oral kommensal mikrobiyotasının baskın üyeleri oldukları ve diş yüzeylerinde ilk kolonize olanlar olarak görev yaptıkları bilinmektedir.[264]

A. naeslundii ve *A. oris*, sağlıklı oral mikrobiyomun temel üyeleridir. *Actinomyces naeslundii*, oral biyofilmin önemli bir bileşenidir. Dentoalveoler apselerin bakteriyolojisine bakılan bir çalışmada 166 izolat içinde 1 tane *A.naeslundii* tespit edilmiştir.[265] Karaciğer apsesi ve karın yarası apsesinden *A.naeslundii* izole edildiği rapor edilmiştir..[266, 267] *A.oris* dental plak formasyonunda önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada *A.oris* apikal apselerden izole edilmiştir.[268] *A.naeslundii* ve *A.oris* dental apselerde yoğun olarak bulunmasa da varlıkları daha önceki çalışmalarda tespit edilmiştir. Çalışmamız bu bakterilerin periodontal apse içeriğinde mevcut olduğunu ortaya koyan ilk çalışmadır.

Bir gram pozitif basil ve fakültatif anaerob olan *Actinomyces odontolyticus*, başlangıçta 1958'de Batty tarafından diş çürüğünden izole edilmiş ve aynı zamanda diğer *Actinomyces* türlerine benzer şekilde bu organizmanın ağız boşluğunda kolonize olduğu belirlenmiştir. *A. odontolyticus'a* bağlı enfeksiyon nadiren bildirilmiştir ve şimdiye kadar bildirilen klinik bulgular, pulmoner enfeksiyon, bakteriyemi ve çeşitli organlarda apseden (beyin apsesi, subkutanöz fistül, perikardiyal apse) oluşmaktadır.[269-274] *A. odontolyticus* ile ilişkili karaciğer apsesi gelişen immün yetmezlikli bir vaka da bulunmaktadır.[275] Ayrıca 2 yaşındaki bir çocukta bir piriform sinüs fistülünde *Actinomyces odontolyticus* enfeksiyonuna bağlı asemptomatik subkütan servikal kitle saptanmıştır.[276] Ağız boşluğunda bulunan ve vücudun farklı bölgelerinde farklı apselere sebep olan *A.odontolytıcus* periodontal apselerden ilk defa bu çalışma ile izole edilmiştir.

Nadir görülen bir tür olan ve Demir ve ark.[214] tarafından diştaşı içeriğinde mevcudiyeti ve kalsifikasyon özelliği belirlenen *Morococcus.cerebrosus* çalışmamızda tespit edilen bir türdür. *M. cerebrosus, Neisseriaceae* ailesine ait nonmotile, oksidaz-pozitif, gram negatif diplokoktur. Long ve ark.[277], serebellar apseli 54 yaşındaki bir kadın hastada *M. cerebrosus'un* neden olduğu enfeksiyon vakasını göstermişlerdir. Charlotte ve ark.[278] ise 60 yaşında bir kadında *M.cerebrosus*'un sebep olduğu post katarakt endoftalmit vakası bildirmişlerdir. Araştırma bulgularımıza göre *M.cerebrosus* periodontal apselerde ilk kez ortaya konmuştur.

Fırsatçı patojenler olan stafilokok türlerinden, *Staphylococcus haemolytıcus Staphylococcus equorum, Staphylococcus spp.* çalışmamızda birer örnekte tanıladık. Stafilokok türleri insan deri ve müköz membranların normal florasında yaşarlar bu nedenle klinik olarak önemli olan suşları kontaminant suşlardan ayırt etmek zordur. Stafilokoklar, endokardit, perikardit, mediyastinit, septik vaskülit, pnömoni, ampiyem, osteomiyelit, septik artrit, menenjit, spinal epidural apse, üriner sistem infeksiyonları gibi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir.[279]

Staphylococcus haemolytıcus kan kültürlerinden izole edilme sıklığında *Staphylococcus epidermidis* sonrası ikinci sırada yer alan fırsatçı bir patojendir.[280] *S.haemolytıcus'un* çoklu ilaç direnci gösterdiği ve biyofilm oluşturduğu bilinmektedir.[281] *S. haemolytıcus,* doğuştan kapak endokarditinde, septisemi, üriner sistem infeksiyonları, peritonit, yara, kemik ve eklem enfeksiyonlarında rol oynar.[282] Panda ve ark.[283] 34 *S.haemolytıcus'*u çeşitli enfeksiyonlardan izole edip sekans tiplerini belirlemişlerdir. 17 izolat enfekte gözlerden, 7 sağlıklı konjunktiva'dan, 6 sı kandan, 2 izolat da sırasıyla pus ve balgamdan izole edilmiştir. 2006 yılında Gamberini, S. ve ark.'nın[284] yayınladığı bir vaka raporunda, karaciğere metastaz yapmamış kolon kanseri olan bir hastada gelişen karaciğer apsesinde *S. haemolytıcus* izole edilmiştir. Teeraputan

ve ark.'nın [285] *S. haemolyticus'*un antibiyotik direnci ile ilgili yaptığı bir çalışmada, *S. haemolyticus'*un özellikle kan dolaşımı enfeksiyonlarında, koagülaz negatif streptokok enfeksiyonlarında ağırlıklı olarak bulunduğu dikkat çekmektedir. Fırsatçı bir patojen olduğu bilinen *S.haemolyticus*'un periodontal apselerdeki varlığı ilk defa bizim çalışmamızda rapor edildi.

Staphylococcus equorum türünden sadece birkaç *S. equorum subsp*. insanla ilgili klinik materyallerde bulunmuştur.[286] Novakova ve ark..[287] çeşitli enfeksiyonlardan elde edilen klinik materyal kullanarak yaptıkları bir çalışmada *S.equorum* izole etmiştir. Doualla ve ark. 'nın [288] olgu sunumunda *S. equorum*'a bağlı çoklu lokalizasyon (servikal spondilodiskit, vertebralar arası apse) ve sistemik enfeksiyon gösterilmiştir. *S.equorum* da araştırmamızda diğer bazı bakteriler de olduğu gibi periodontal apse içeriğinde ilk defa bulunmuştur.

Periodontal apseler üzerine yapmış olduğumuz çalışmada *Bacillus spp., E. casseliflavus.* ve *Moraxella spp*. de yine birer örnekte tespit edilmiştir.

Bacillus cinsi bakteriler, gram pozitif, sporlu aerop ve basil şeklindedirler. Bu bakteriler, bakteriyemi, pnömoni, oftalmit, osteomiyelit, yumuşak doku enfeksiyonları ve bağışıklığı baskılanmış konaklardaki menenjit gibi bazı fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilir.[289, 290] *Bacillus* kaynaklı bildirilen beyin apsesi vakası bulunmaktadır.[291, 292] Dalak apsesinden *bacillus* türlerinin izole edildiği de bildirilmiştir.[293]

Enterokoklar, gastrointestinal sistem, ağız, üretra, vajina ve safra yollarında normal floranın bir elemanıdırlar ve düşük virulansa sahip olmakla beraber toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilmektedirler.[294, 295] Enterokoklarla meydana gelen enfeksiyonlarn çoğunda etkenin hastanın kendi florasından kaynaklandığı düşünülmektedir. *E. casseliflavus*, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda geniş bir yelpazede enfeksiyonlara neden olmuştur.[296-298] 80 yaşında bir kadın hastada

E.casseliflavus kaynaklı bakteriyemi olgusu bildirilmiştir.[299] *E.casseliflavus'un* sebep olduğu enterokokal menenjit ilk defa Iaria ve ark.[300] tarafından gösterilmiştir. Endojenöz endoftalmite sebep olduğu ise ilk defa Sambhan ve ark.[301] tarafından bir vakada bildirilmiştir.

Moraxella spp. peritonsiller apselerde ve derin boyun apselerinde düşük oranda da olsa (%1.2) izole edilmiştir.[302, 303] Keratit, konjunktivit, otitis media sinüzit gibi enfeksiyonların yanısıra endokardit, menenjit, peritonit, osteomiyelit ve septik şok gibi hayatı tehdit eden enfeksiyonlara da neden olabileceği bildirilmiştir.[304-306]

Araştırmamız bu üç bakterinin de (*Bacillus spp., E. casseliflavus, Moraxella spp.*) periodontal apse içeriğinde varlığını gösteren ilk çalışmadır.

Genel olarak apseler çevre floranın etkilerini taşımaktadır. Kesilme, delinme v.s. ile doku içerisine giren fırsatçı bakterilerin apseye neden olduğu ileri sürülmektedir. Belki de bu nedenle periodontal apse içeriğinin periodontitis mikrobiotası ile aynı olduğu düşünülmüştür. Periodontal hastalık nedeni ile oral florada, plak bakterileri ve peiodontal patojenler yoğun görülüp uygun durumda fırsatçı bakteriler olarak apselere neden olabilirler. 1-) Literatür incelemesinde aerob ve fakültatif anaerob bakterilerin fırsatçı bakteriler olarak apse etkeni olarak görev yapması 2-) Diştaşı üzerinde yapılan bir çalışmamızda literatürde yalnızca 2 vaka bulunan *M.cerebrosus*'un belirlenmesi 3-) Gelişen teknolojinin bakteri tanılanmasını kolaylaştırması 4-) Sistemik antibiyotik kullanımında olduğu gibi fırsatçı mikroorganizmaların apseye neden olma ihtimali 5-) Periodontitis hastalığı başlangıcında periodontal patojenler etken olmakla birlikte her periodontitisli vakada apse gelişmemesi 6-) Diyabet gibi sistemik durumlarda apse oluşumu, apse mikrbiyal içeriğinin inclenmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Çalışmamızın sonunda besiyerlerinde en fazla üreyen ve tanılanan bakterilerin hemen

hemen hepsinin apse gelişimi ile ilişkili olduğunun belirlenmesi bu yöndeki düşüncemizin doğruluğunu ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Vücudun farklı doku ve organlarında apse oluşumu ve enfeksiyon ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda ortaya konan streptokok türlerinden, *S.penumoniae, S.sinensis, S.massiliensis, S.cristatus'u*n ve daha önce periodontal hastalıklardan da izole edilmiş olan *S.mitis, S.oralis, S.constellatus, S.sanguinis ve Streptococcus spp.* türlerinin periodontal apselerden alınan örneklerde varlığı ilk defa ortaya konmuştur.

2. Dental apse ve periodontal hastalıklarla ilişkili olduğu bilinen streptokok türlerinin (*S.anginosus, S.gordonii, S.mutans*) periodontal apselerdeki varlıkları ilk defa belirlenmiştir.

3. Ciddi enfeksiyonlara sebep olabilen *N.sicca* ve apselerle ilişkili oldukları bilinen *N.elongata* ile *N.subfalava'nın* periodontal apselerdeki varlıkları ilk defa ortaya konmuştur.

4. Apselerle ilişkili *Actinomyces* türlerinden, *A.oris* ve periodontal hastalıklarla ilişkisi bilinen *A.naeslundii*, ile *A.odontolytıcus* periodontal apselerden ilk defa izole edilmiştir.

5. Beyin apselerinde varlığı bilinen ve daha önce diş taşında kalsifikasyon özelliği olduğu belirlenen *M.cerebrosus* periodontal apselerde ilk defa tespit edilmiştir.

6. Geçmiş çalışmalarda kronik periodontitiste bulunduğu bildirilen Stafilokok türlerinden *S.haemolytıcus* ve *S. equorum'un* periodontal apse içeriğindeki varlıkları ilk defa ortaya konmuştur.

7. Yapmış olduğumuz çalışmada *Bacillus spp., E. casseliflavus* ve *Moraxella spp*. birer örnekte tespit edilmiştir ve bu çalışma periodontal apselerdeki varlıklarına dair ilk rapordur.

8. Periodontal apse kültürlerinde yoğun olduğu belirlenen ve izole edildikten sonra identifiye edilen bakterilerin tamamı apse ve enfeksiyon nedeni olabilecek

bakterilerdir. Bu sonuçlara bakarak periodontal apselerin fırsatçı bakteriler nedeniyle gelişmiş olabileceği ortaya konmaktadır.

9. Araştırmada bulunan bakteriler kan yoluyla sistemik dolaşıma katılarak çeşitli enfeksiyonlara ve ciddi komplikasyonlara sebep olabilir. Bu nedenle periodontal apse tedavisinin periodontal apselerin yol açabileceği problemlerin bilincinde olarak yapılması gerekmektedir.

10. Periodontal apse etken bakterilerini belirlemeye yönelik zorunlu anaerobları da içeren araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

1. Hafstrom CA, Wikstrom MB, Renvert SN, Dahlen GG. Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses. *J Periodontol*, 1994, 65: 1022-1028.
2. DeWitt GV, Cobb CM, Killoy WJ. The acute periodontal abscess: microbial penetration of the soft tissue wall. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1985, 5: 38-51.
3. FJ C. *Glickman's clinical periodontology.* 7.basım Baskı. Philadelphia: WB Saunders Company, 1990.
4. Meng HX. Periodontal abscess. *Ann Periodontol*, 1999, 4: 79-83.
5. McLeod DE, Lainson PA, Spivey JD. Tooth loss due to periodontal abscess: a retrospective study. *J Periodontol*, 1997, 68: 963-966.
6. Herrera D, Roldan S, Gonzalez I, Sanz M. The periodontal abscess (I). Clinical and microbiological findings. *J Clin Periodontol*, 2000, 27: 387-394.
7. Newman MG, Sims TN. The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess. *J Periodontol*, 1979, 50: 350-354.
8. Topoll HH, Lange DE, Muller RF. Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. *J Clin Periodontol*, 1990, 17: 268-272.
9. Trope M, Tronstad L, Rosenberg ES, Listgarten M. Darkfield microscopy as a diagnostic aid in differentiating exudates from endodontic and periodontal abscesses. *J Endod*, 1988, 14: 35-38.
10. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 1988, 3: 47-52.
11. Dahlen G, Wikstrom M. Occurrence of enteric rods, staphylococci and Candida in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*, 1995, 10: 42-46.
12. Sedgley CM, Chu CS, Lo EC, Samaranayake LP. The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in semi-recluse human vegetarians. *Arch Oral Biol*, 1996, 41: 307-309.
13. Sedgley CM, Samaranayake LP, Chan JC, Wei SH. A 4-year longitudinal study of the oral prevalence of enteric gram-negative rods and yeasts in Chinese children. *Oral Microbiol Immunol*, 1997, 12: 183-188.
14. Barbosa FC, Mayer MP, Saba-Chujfi E, Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*, 2001, 16: 306-310.
15. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol*, 2001, 183: 3770-3783.
16. Dymock D, Weightman AJ, Scully C, Wade WG. Molecular analysis of microflora associated with dentoalveolar abscesses. *J Clin Microbiol*, 1996, 34: 537-542.
17. Kroes I, Lepp PW, Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96: 14547-14552.
18. Sakamoto M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. Comparison of the oral bacterial flora in saliva from a healthy subject and two periodontitis patients by sequence analysis of 16S rDNA libraries. *Microbiol Immunol*, 2000, 44: 643-652.

19. Contreras A, Doan N, Chen C, Rusitanonta T, Flynn MJ, Slots J. Importance of Dialister pneumosintes in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 2000, 15: 269-272.
20. Dahlen G, Leonhardt A. A new checkerboard panel for testing bacterial markers in periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol*, 2006, 21: 6-11.
21. Baris O, Demir, T., Gulluce, M. 'Investigation of in vitro mineral forming bacterial isolates from supragingival calculus'. *Nigerian Journal of Clinical Practice DOI: 10.4103/1119-3077.187316.*, 2016.
22. Kumar V CRvRS. Temel Patoloji, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 2003.
23. Meislin HW, Lerner SA, Graves MH, McGehee MD, Kocka FE, Morello JA, Rosen P. Cutaneous abscesses. Anaerobic and aerobic bacteriology and outpatient management. *Ann Intern Med*, 1977, 87: 145-149.
24. Brook I. Aerobic and anaerobic microbiology of paronychia. *Ann Emerg Med*, 1990, 19: 994-996.
25. Brook I. Microbiology of polymicrobial abscesses and implications for therapy. *J Antimicrob Chemother*, 2002, 50: 805-810.
26. Brook I. A 12 year study of aerobic and anaerobic bacteria in intra-abdominal and postsurgical abdominal wound infections. *Surg Gynecol Obstet*, 1989, 169: 387-392.
27. Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic microbiology of retroperitoneal abscesses. *Clin Infect Dis*, 1998, 26: 938-941.
28. Brook I, Frazier EH. Microbiological analysis of pancreatic abscess. *Clin Infect Dis*, 1996, 22: 384-385.
29. Brook I, Frazier EH. Microbiology of liver and spleen abscesses. *J Med Microbiol*, 1998, 47: 1075-1080.
30. Brook I, Frazier EH. Microbiology of subphrenic abscesses: a 14-year experience. *Am Surg*, 1999, 65: 1049-1053.
31. Ohyama H, Nakasho K, Yamanegi K, Noiri Y, Kuhara A, Kato-Kogoe N, Yamada N, Hata M, Nishimura F, Ebisu S, Terada N. An unusual autopsy case of pyogenic liver abscess caused by periodontal bacteria. *Jpn J Infect Dis*, 2009, 62: 381-383.
32. Brook I, Frazier EH, Thompson DH. Aerobic and anaerobic microbiology of peritonsillar abscess. *Laryngoscope*, 1991, 101: 289-292.
33. Brook I. Microbiology of retropharyngeal abscesses in children. *Am J Dis Child*, 1987, 141: 202-204.
34. Joseph K, Han, MD; Joseph, E. Kerschner, MD. Streptococcus milleri An organism for Head and Neck Infections and Abscess. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery*, 2001, 127: 650-654.
35. Brook I, Frazier EH, Thompson DH. Aerobic and anaerobic microbiology of acute suppurative parotitis. *Laryngoscope*, 1991, 101: 170-172.
36. Brook I, Frazier EH. The aerobic and anaerobic bacteriology of perirectal abscesses. *J Clin Microbiol*, 1997, 35: 2974-2976.
37. Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic microbiology in intra-abdominal infections associated with diverticulitis. *J Med Microbiol*, 2000, 49: 827-830.
38. Brook I, Frazier EH, Thomas RL. Aerobic and anaerobic microbiologic factors and recovery of beta-lactamase producing bacteria from obstetric and gynecologic infection. *Surg Gynecol Obstet*, 1991, 172: 138-144.
39. Brook I. Anaerobic bacteria in suppurative genitourinary infections. *J Urol*, 1989, 141: 889-893.

40. Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis*, 2001, 1: 101-114.
41. Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic bacteriology of wounds and cutaneous abscesses. *Arch Surg*, 1990, 125: 1445-1451.
42. Menon S, Bharadwaj R, Chowdhary A, Kaundinya DV, Palande DA. Current epidemiology of intracranial abscesses: a prospective 5 year study. *J Med Microbiol*, 2008, 57: 1259-1268.
43. Roche M, Humphreys H, Smyth E, Phillips J, Cunney R, McNamara E, O'Brien D, McArdle O. A twelve-year review of central nervous system bacterial abscesses; presentation and aetiology. *Clin Microbiol Infect*, 2003, 9: 803-809.
44. Brook I, Frazier EH. Microbiology of cervical lymphadenitis in adults. *Acta Otolaryngol*, 1998, 118: 443-446.
45. Bergmann OJ. Oral infections and septicemia in immunocompromised patients with hematologic malignancies. *J Clin Microbiol*, 1988, 26: 2105-2109.
46. Ogundiya DA, Keith DA, Mirowski J. Cavernous sinus thrombosis and blindness as complications of an odontogenic infection: report of a case and review of literature. *J Oral Maxillofac Surg*, 1989, 47: 1317-1321.
47. Corson MA, Postlethwaite KP, Seymour RA. Are dental infections a cause of brain abscess? Case report and review of the literature. *Oral Dis*, 2001, 7: 61-65.
48. Fardy CH, Findlay G, Owen G, Shortland G. Toxic shock syndrome secondary to a dental abscess. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1999, 28: 60-61.
49. Currie WJ, Ho V. An unexpected death associated with an acute dentoalveolar abscess--report of a case. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 1993, 31: 296-298.
50. Newman MG TH, Klockkevold PR,Carranza FA. Baskı. Philadelph,a,Saunders Elsevier,, 1990.
51. Ahl DR, Hilgeman JL, Snyder JD. Periodontal emergencies. *Dent Clin North Am*, 1986, 30: 459-472.
52. Gillette WB, Van House RL. Ill effects of improper oral hygeine procedure. *J Am Dent Assoc*, 1980, 101: 476-480.
53. Newman MG TH KP, Carranza FA. *Glickman's clinical periodontology*. 11. Baskı.
54. Helovuo H, Paunio K. Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium. *J Periodontol*, 1989, 60: 467-472.
55. Helovuo H. [Periodontal superinfections]. *Proc Finn Dent Soc*, 1987, 83: 217-219.
56. Ryan GB, Majno G. Acute inflammation. A review. *Am J Pathol*, 1977, 86: 183-276.
57. O'Leary TJ, Standish SM, Bloomer RS. Severe periodontal destruction following impression procedures. *J Periodontol*, 1973, 44: 43-48.
58. Fuss Z, Bender IB, Rickoff BD. An unusual periodontal abscess. *J Endod*, 1986, 12: 116-118.
59. Fleming P, Strawbridge J. Lateral periodontal abscess in a child. *J Pedod*, 1989, 13: 280-283.
60. Dello Russo NM. The post-prophylaxis periodontal abscess: etiology and treatment. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1985, 5: 28-37.
61. Smith RG, Davies RM. Acute lateral periodontal abscesses. *Br Dent J*, 1986, 161: 176-178.
62. Kareha MJ, Rosenberg ES, DeHaven H. Therapeutic considerations in the management of a periodontal abscess with an intrabony defect. *J Clin Periodontol*, 1981, 8: 375-386.

63. Goldman HM, Cohen, D.W. Characteristics of periodontal diseases. In: Goldman HM, Cohen DW, eds. Periodontal Therapy, 5th ed. 1973: 74.
64. Chace R, Sr., Low SB. Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *J Periodontol*, 1993, 64: 701-705.
65. Helovuo H, Hakkarainen K, Paunio K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiol Immunol*, 1993, 8: 75-79.
66. Ueta E, Osaki T, Yoneda K, Yamamoto T. Prevalence of diabetes mellitus in odontogenic infections and oral candidiasis: an analysis of neutrophil suppression. *J Oral Pathol Med*, 1993, 22: 168-174.
67. Lalla E, Lamster IB, Schmidt AM. 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: 13-19.
68. Fine DH. Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. A report of 3 cases. *J Clin Periodontol*, 1994, 21: 98-106.
69. Garrett S, Polson AM, Stoller NH, Drisko CL, Caton JG, Harrold CQ, Bogle G, Greenwell H, Lowenguth RA, Duke SP, DeRouen TA. 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. *J Periodontol*, 1997, 68: 667-675.
70. Koller-Benz G, Fritzsche A, Krapf R. Nifedipine induced gingival abscesses. *BMJ*, 1992, 304: 1225.
71. Pini Prato GP, Cortellini P, Clauser C. Fibrin and fibronectin sealing system in a guided tissue regeneration procedure. A case report. *J Periodontol*, 1988, 59: 679-683.
72. Abrams H, Kopczyk RA. Gingival sequela from a retained piece of dental floss. *J Am Dent Assoc*, 1983, 106: 57-58.
73. Rada RE, Bronny AT, Hasiakos PS. Sickle cell crisis precipitated by periodontal infection: report of two cases. *J Am Dent Assoc*, 1987, 114: 799-801.
74. Emslie RD. Some considerations on the role of cementum in periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1978, 5: 1-12.
75. Palmer RM. Acute lateral periodontal abscess. *Br Dent J*, 1984, 157: 311-312.
76. Abrams H, Cunningham CJ, Lee SB. Periodontal changes following coronal/root perforation and formocresol pulpotomy. *J Endod*, 1992, 18: 399-402.
77. Yusof WZ, Ghazali MN. Multiple external root resorption. *J Am Dent Assoc*, 1989, 118: 453-455.
78. Goose DH. Cracked tooth syndrome. *Br Dent J*, 1981, 150: 224-225.
79. Herrera D, Roldan S, Sanz M. The periodontal abscess: a review. *J Clin Periodontol*, 2000, 27: 377-386.
80. F.A. C. Glickman's clinical periodontology. 7th edition. WB SaundersCo.Philedelphia. 1990.
81. Galego-Feal P, Rivas-Lombardero, P., Castro-Dı´az, P., Paz-Pumpido, F., Lin˜ares-Sixto, J. M., Varela-Patin˜o, M. P., Garcı´a- Garcı´a, A., Garcı´a-Bahillo, J. & Garcı´a-Quinta´ns, A. Urgencias en estomatologı´a. *Medicina Integral*, 1995, 26: 331-347.
82. Genco RJ. Using antimicrobial agents to manage periodontal diseases. *J Am Dent Assoc*, 1991, 122: 30-38.
83. Marsh P MM. Oral Microbiology. 4th ed Edinburgh: Elsevier Science Ltd. 2002.

84. Newman MG TH KP, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology 11. Baskı Philadelphia, Saunders Elsevier.
85. Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000*, 1994, 5: 7-25.
86. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ, Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002, 66: 486-505, table of contents.
87. Kidd EA FO. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*, 2004, 83.
88. Kumar PS, Mason, M. R., & Yu, J. Biofilms in Periodontal Health and. Oral Microbial Ecology: Current Research and New Perspectives,. 2013: 153.
89. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, 1992, 63: 322-331.
90. Gunaratnam M, Smith GL, Socransky SS, Smith CM, Haffajee AD. Enumeration of subgingival species on primary isolation plates using colony lifts. *Oral Microbiol Immunol*, 1992, 7: 14-18.
91. Berbari EF, Cockerill FR, 3rd, Steckelberg JM. Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms. *Mayo Clin Proc*, 1997, 72: 532-542.
92. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*, 1996, 67: 1123-1137.
93. Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Dorn JP, Falkner KL, Sempos CT. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: the first national health and nutrition examination survey and its follow-up study. *Arch Intern Med*, 2000, 160: 2749-2755.
94. Epstein S, Scopp IW. Antibiotics and the intraoral abscess. *J Periodontol*, 1977, 48: 236-238.
95. van Winkelhoff AJ, Carlee AW, de Graaff J. Bacteroides endodontalis and other black-pigmented Bacteroides species in odontogenic abscesses. *Infect Immun*, 1985, 49: 494-497.
96. Jaramillo A, Arce RM, Herrera D, Betancourth M, Botero JE, Contreras A. Clinical and microbiological characterization of periodontal abscesses. *J Clin Periodontol*, 2005, 32: 1213-1218.
97. Ashimoto A, Tanaka T, Ryoke K, Chen C. PCR detection of periodontal/endodontic pathogens associated with abscess formation. . *J Dent Res*, 1998, 77: 854-854.
98. Hafstrom LR, Holmberg SB, Naredi PL, Lindner PG, Bengtsson A, Tidebrant G, Schersten TS. Isolated hyperthermic liver perfusion with chemotherapy for liver malignancy. *Surg Oncol*, 1994, 3: 103-108.
99. Martin BF, Derby BM, Budzilovich GN, Ransohoff J. Brain abscess due to Actinobacillus actinomycetemcomitans. *Neurology*, 1967, 17: 833-837.
100. Kaplan AH, Weber DJ, Oddone EZ, Perfect JR. Infection due to Actinobacillus actinomycetemcomitans: 15 cases and review. *Rev Infect Dis*, 1989, 11: 46-63.
101. Kuijper EJ, Wiggerts HO, Jonker GJ, Schaal KP, de Gans J. Disseminated actinomycosis due to Actinomyces meyeri and Actinobacillus actinomycetemcomitans. *Scand J Infect Dis*, 1992, 24: 667-672.
102. Zijlstra EE, Swart GR, Godfroy FJ, Degener JE. Pericarditis, pneumonia and brain abscess due to a combined Actinomyces--Actinobacillus actinomycetemcomitans infection. *J Infect*, 1992, 25: 83-87.
103. Renton TF, Danks J, Rosenfeld JV. Cerebral abscess complicating dental treatment. Case report and review of the literature. *Aust Dent J*, 1996, 41: 12-15.

104. Stepanovic S, Tosic T, Savic B, Jovanovic M, K'Ouas G, Carlier JP. Brain abscess due to Actinobacillus actinomycetemcomitans. *APMIS*, 2005, 113: 225-228.
105. Rahamat-Langendoen JC, van Vonderen MG, Engstrom LJ, Manson WL, van Winkelhoff AJ, Mooi-Kokenberg EA. Brain abscess associated with Aggregatibacter actinomycetemcomitans: case report and review of literature. *J Clin Periodontol*, 2011, 38: 702-706.
106. Wade WG, Lewis MA, Cheeseman SL, Absi EG, Bishop PA. An unclassified Eubacterium taxon in acute dento-alveolar abscess. *J Med Microbiol*, 1994, 40: 115-117.
107. Fazakerley MW, McGowan P, Hardy P, Martin MV. A comparative study of cephradine, amoxycillin and phenoxymethylpenicillin in the treatment of acute dentoalveolar infection. *Br Dent J*, 1993, 174: 359-363.
108. Kulekci G, Inanc D, Kocak H, Kasapoglu C, Gumru OZ. Bacteriology of dentoalveolar abscesses in patients who have received empirical antibiotic therapy. *Clin Infect Dis*, 1996, 23 Suppl 1: S51-53.
109. Roche Y, Yoshimori RN. In-vitro activity of spiramycin and metronidazole alone or in combination against clinical isolates from odontogenic abscesses. *J Antimicrob Chemother*, 1997, 40: 353-357.
110. Sakamoto H, Kato H, Sato T, Sasaki J. Semiquantitative bacteriology of closed odontogenic abscesses. *Bull Tokyo Dent Coll*, 1998, 39: 103-107.
111. Kolokotronis A. Beta-lactamases producing anaerobic bacteria in dentoalveolar abscesses. *J Oral Sci*, 1999, 41: 187-190.
112. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Oliveira JC, Santos KR. Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *J Endod*, 2001, 27: 563-566.
113. Baumgartner JC, Siqueira JF, Jr., Xia T, Rocas IN. Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. *J Endod*, 2004, 30: 141-144.
114. Kuriyama T, Absi EG, Williams DW, Lewis MA. An outcome audit of the treatment of acute dentoalveolar infection: impact of penicillin resistance. *Br Dent J*, 2005, 198: 759-763; discussion 754; quiz 778.
115. Riggio MP, Aga H, Murray CA, Jackson MS, Lennon A, Hammersley N, Bagg J. Identification of bacteria associated with spreading odontogenic infections by 16S rRNA gene sequencing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007, 103: 610-617.
116. Jansen HJ, van der Hoeven JS, Walji S, Goertz JH, Bakkeren JA. The importance of immunoglobulin-breakdown supporting the growth of bacteria in oral abscesses. *J Clin Periodontol*, 1996, 23: 717-723.
117. Jansen HJ, van der Hoeven JS. Protein degradation by Prevotella intermedia and Actinomyces meyeri supports the growth of non-protein-cleaving oral bacteria in serum. *J Clin Periodontol*, 1997, 24: 346-353.
118. Chan EC, McLaughlin R. Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiol Immunol*, 2000, 15: 1-9.
119. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Treponema species associated with abscesses of endodontic origin. *Oral Microbiol Immunol*, 2004, 19: 336-339.
120. Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T. Identification of spirochetes (treponemes) in endodontic infections. *J Endod*, 2003, 29: 794-797.
121. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Oliveira JC, Santos KR. Detection of putative oral pathogens in acute periradicular abscesses by 16S rDNA-directed polymerase chain reaction. *J Endod*, 2001, 27: 164-167.

122. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Oliveira JC, Santos KR. Polymerase chain reaction detection of Treponema denticola in endodontic infections within root canals. *Int Endod J*, 2001, 34: 280-284.
123. Gomes BP, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa EL, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Molecular analysis of Filifactor alocis, Tannerella forsythia, and treponema denticola associated with primary endodontic infections and failed endodontic treatment. *J Endod*, 2006, 32: 937-940.
124. Cavrini F, Pirani C, Foschi F, Montebugnoli L, Sambri V, Prati C. Detection of Treponema denticola in root canal systems in primary and secondary endodontic infections. A correlation with clinical symptoms. *New Microbiol*, 2008, 31: 67-73.
125. Lekaa M. Ibrahem B.D.S MS. Evaluation of periodontal abscess clinically and microbiologically. *Journal Bagh College of Dentistry*, 2008, 20(1).
126. Herrera D, Roldan S, O'Connor A, Sanz M. The periodontal abscess (II). Short-term clinical and microbiological efficacy of 2 systemic antibiotic regimes. *J Clin Periodontol*, 2000, 27: 395-404.
127. Brook I, Frazier EH, Gher ME. Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscess. *Oral Microbiol Immunol*, 1991, 6: 123-125.
128. Goumas PD, Naxakis SS, Papavasiliou DA, Moschovakis ED, Tsintsos SJ, Skoutelis A. Periapical abscesses: causal bacteria and antibiotic sensitivity. *J Chemother*, 1997, 9: 415-419.
129. Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Yamamoto E, Nakamura S. Bacteriology and antimicrobial susceptibility of gram-positive cocci isolated from pus specimens of orofacial odontogenic infections. *Oral Microbiol Immunol*, 2002, 17: 132-135.
130. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Souto R, Uzeda M, Colombo AP. Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2001, 92: 451-457.
131. Mangundjaja S, Hardjawinata K. Clindamycin versus ampicillin in the treatment of odontogenic infections. *Clin Ther*, 1990, 12: 242-249.
132. Ghayoumi N, Chen C, Slots J. Dialister pneumosintes, a new putative periodontal pathogen. *J Periodontal Res*, 2002, 37: 75-78.
133. Xie Y, Chen J, He J, Miao X, Xu M, Wu X, Xu B, Yu L, Zhang W. Antimicrobial resistance and prevalence of resistance genes of obligate anaerobes isolated from periodontal abscesses. *J Periodontol*, 2014, 85: 327-334.
134. Listgarten MA, Levin S. Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. *J Clin Periodontol*, 1981, 8: 122-138.
135. Listgarten MA. Microbiological testing in the diagnosis of periodontal disease. *J Periodontol*, 1992, 63: 332-337.
136. Omar AA, Newman HN, Bulman J, Osborn J. Darkground microscopy of subgingival plaque from the top to the bottom of the periodontal pocket. *J Clin Periodontol*, 1990, 17: 364-370.
137. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. 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: 1034-1047.
138. Cox SW, Cho K, Eley BM, Smith RE. A simple, combined fluorogenic and chromogenic method for the assay of proteases in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res*, 1990, 25: 164-171.

139. Bonta Y, Zambon JJ, Genco RJ, Neiders ME. Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival plaque: comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans. *J Dent Res*, 1985, 64: 793-798.
140. Bragd L, Dahlen G, Wikstrom M, Slots J. The capability of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius to indicate progressive periodontitis; a retrospective study. *J Clin Periodontol*, 1987, 14: 95-99.
141. Slots J, Hafstrom C, Rosling B, Dahlen G. Detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Bacteroides gingivalis in subgingival smears by the indirect fluorescent-antibody technique. *J Periodontal Res*, 1985, 20: 613-620.
142. Zambon JJ, Reynolds HS, Chen P, Genco RJ. Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival dental plaque. Comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of Bacteroides gingivalis. *J Periodontol*, 1985, 56: 32-40.
143. Nisengard RJ, Mikulski L, McDuffie D, Bronson P. Development of a rapid latex agglutination test for periodontal pathogens. *J Periodontol*, 1992, 63: 611-617.
144. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*, 1994, 17: 788-792.
145. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL, Jr., Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 1997, 24: 324-334.
146. Haffajee AD, Smith C, Torresyap G, Thompson M, Guerrero D, Socransky SS. Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters. *J Clin Periodontol*, 2001, 28: 947-954.
147. Haffajee AD, Socransky SS, Smith C, Dibart S. Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. *J Periodontal Res*, 1991, 26: 293-296.
148. Papapanou PN, Baelum V, Luan WM, Madianos PN, Chen X, Fejerskov O, Dahlen G. Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J Periodontol*, 1997, 68: 651-666.
149. Levy RM, Giannobile WV, Feres M, Haffajee AD, Smith C, Socransky SS. The short-term effect of apically repositioned flap surgery on the composition of the subgingival microbiota. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1999, 19: 555-567.
150. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2000, 27: 648-657.
151. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2000, 27: 722-732.
152. Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol*, 2001, 28: 597-609.
153. Papapanou PN, Madianos PN, Dahlen G, Sandros J. "Checkerboard" versus culture: a comparison between two methods for identification of subgingival microbiota. *Eur J Oral Sci*, 1997, 105: 389-396.
154. Arı Ş. DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. İstanbul Üniv., Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGEM). 1999: 57-68.

155. Zambon JJ, Haraszthy VI. The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontol 2000*, 1995, 7: 69-82.
156. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 1996, 11: 266-273.
157. Mayanagi G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol*, 2004, 19: 379-385.
158. Takeuchi Y, Umeda M, Ishizuka M, Huang Y, Ishikawa I. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Japanese population. *J Periodontol*, 2003, 74: 1460-1469.
159. Umeda M, Chen C, Bakker I, Contreras A, Morrison JL, Slots J. Risk indicators for harboring periodontal pathogens. *J Periodontol*, 1998, 69: 1111-1118.
160. Sato T, Matsuyama J, Sato M, Hoshino E. Differentiation of Veillonella atypica, Veillonella dispar and Veillonella parvula using restricted fragment-length polymorphism analysis of 16S rDNA amplified by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 1997, 12: 350-353.
161. Slots J, Ashimoto A, Flynn MJ, Li G, Chen C. Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis*, 1995, 20 Suppl 2: S304-307.
162. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent*, 2003, 31: 333-339.
163. Watson JD, M. Gilman, J. Witkowski and M. Zoller. The polymerase chain reaction In: Recombinant DNA. Second Edition. New York. 1992: 79-98.
164. Erlich HA, Gelfand D, Sninsky JJ. Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science*, 1991, 252: 1643-1651.
165. Hadidi A LL, Podleskis E. V. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: Molecular Methods in Plant Pathology,Eds. R. P. Singh, U. S. Singh. Boca Raton: CRS Press. 1995: p.167-187.
166. Ulusoy ÖİA. Enfekte kök kanallarında T. denticola, porphromonans gingivalis ve bu bakterilere ait virülans faktörlerinin moleküler mikrobiyolojik teknikler ile incelenmesi Ankara Gazi Üniversitesi. 2007.
167. Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH. Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. *Biotechniques*, 1997, 23: 504-511.
168. Garcia L, Tercero JC, Legido B, Ramos JA, Alemany J, Sanz M. Rapid detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Prevotella intermedia and Porphyromona gingivalis by multiplex PCR. *J Periodontal Res*, 1998, 33: 59-64.
169. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Andrade AF, Uzeda M. Oral treponemes in primary root canal infections as detected by nested PCR. *Int Endod J*, 2003, 36: 20-26.
170. Doungudomdacha S, Rawlinson A, Walsh TF, Douglas CW. Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans at adult periodontitis sites. *J Clin Periodontol*, 2001, 28: 437-445.
171. Crockett AO, Wittwer CT. Fluorescein-labeled oligonucleotides for real-time pcr: using the inherent quenching of deoxyguanosine nucleotides. *Anal Biochem*, 2001, 290: 89-97.
172. Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol*, 2000, 25: 169-193.

173. Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH. 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: 7276-7280.
174. Mhlanga MM, Malmberg L. Using molecular beacons to detect single-nucleotide polymorphisms with real-time PCR. *Methods*, 2001, 25: 463-471.
175. Shelburne CE, Prabhu A, Gleason RM, Mullally BH, Coulter WA. Quantitation of Bacteroides forsythus in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction. *J Microbiol Methods*, 2000, 39: 97-107.
176. Lyons SR, Griffen AL, Leys EJ. Quantitative real-time PCR for Porphyromonas gingivalis and total bacteria. *J Clin Microbiol*, 2000, 38: 2362-2365.
177. Sakamoto M, Takeuchi Y, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR. *Microbiol Immunol*, 2001, 45: 39-44.
178. Harley JP, Prescott, L.M. Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition New York: The McGraw−Hill Companies,. 2002: 466.
179. Wilson K. Preparation of Genomic DNA from Bacteria. Current Protocols in Molecular Biology,. 1997: 2.4.1-2.4.5.
180. Adiguzel A, Ozkan H, Baris O, Inan K, Gulluce M, Sahin F. Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. *J Microbiol Methods*, 2009, 79: 321-328.
181. Cacchio P, Ercole, C., Cappuccio, G. and Lepidi, A. Calcium Carbonate Precipitation by Bacterial Strains Isolated from a Limestone Cave and from a Loamy Soil. *Geomicrobiology Journal, 20,*, 2003: 85-98.
182. Arda M. Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi. 2000: 548.
183. Harley JPaP, L.M.,. Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition New York: The McGraw−Hill Companies. 2002: 466p.
184. Temiz A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara. 2000.
185. Demirağ ZvD, İ. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvarı. Trabzon. 2000.
186. Sambrook J. 'Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Third Edition)' CSHL Press, USA. 2001.
187. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 1990, 215: 403-410.
188. Krishna Kripal SPS, Rakesh, M.P., Manasi Y. Nandedkar, Syed Sirajuddin, Ambica. The Periodontal Abscess: Clinical and Microbiological Characteristics. *Scholars Journal Of Dental Sciences*, 2015.
189. McCracken GH, Jr. Etiology and treatment of pneumonia. *Pediatr Infect Dis J*, 2000, 19: 373-377.
190. McCullers JA, Tuomanen EI. Molecular pathogenesis of pneumococcal pneumonia. *Front Biosci*, 2001, 6: D877-889.
191. Musher DM. Infections caused by Streptococcus pneumoniae: clinical spectrum, pathogenesis, immunity, and treatment. *Clin Infect Dis*, 1992, 14: 801-807.
192. Lawlor MT, Crowe HM, Quintiliani R. Cellulitis due to Streptococcus pneumoniae: case report and review. *Clin Infect Dis*, 1992, 14: 247-250.
193. Miller JJ, Scott IU, Flynn HW, Jr., Smiddy WE, Corey RP, Miller D. Endophthalmitis caused by Streptococcus pneumoniae. *Am J Ophthalmol*, 2004, 138: 231-236.
194. Grigoriadis E, Gold WL. Pyogenic brain abscess caused by Streptococcus pneumoniae: case report and review. *Clin Infect Dis*, 1997, 25: 1108-1112.

195. Pearce C, Bowden GH, Evans M, Fitzsimmons SP, Johnson J, Sheridan MJ, Wientzen R, Cole MF. Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J Med Microbiol*, 1995, 42: 67-72.
196. Mitchell J. Streptococcus mitis: walking the line between commensalism and pathogenesis. *Mol Oral Microbiol*, 2011, 26: 89-98.
197. Marron A, Carratala J, Gonzalez-Barca E, Fernandez-Sevilla A, Alcaide F, Gudiol F. Serious complications of bacteremia caused by Viridans streptococci in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis*, 2000, 31: 1126-1130.
198. Ahmed R, Hassall T, Morland B, Gray J. Viridans streptococcus bacteremia in children on chemotherapy for cancer: an underestimated problem. *Pediatr Hematol Oncol*, 2003, 20: 439-444.
199. Husain E, Whitehead S, Castell A, Thomas EE, Speert DP. Viridans streptococci bacteremia in children with malignancy: relevance of species identification and penicillin susceptibility. *Pediatr Infect Dis J*, 2005, 24: 563-566.
200. Han XY, Kamana M, Rolston KV. Viridans streptococci isolated by culture from blood of cancer patients: clinical and microbiologic analysis of 50 cases. *J Clin Microbiol*, 2006, 44: 160-165.
201. Kohno K, Nagafuji K, Tsukamoto H, Horiuchi T, Takase K, Aoki K, Henzan H, Kamezaki K, Takenaka K, Miyamoto T, Teshima T, Harada M, Akashi K. Infectious complications in patients receiving autologous CD34-selected hematopoietic stem cell transplantation for severe autoimmune diseases. *Transpl Infect Dis*, 2009, 11: 318-323.
202. Carrascosa M, Perez-Castrillon JL, Sampedro I, Valle R, Cillero L, Mendez MA. Lung abscess due to Streptococcus mitis: case report and review. *Clin Infect Dis*, 1994, 19: 781-783.
203. Takayanagi N, Kagiyama N, Ishiguro T, Tokunaga D, Sugita Y. Etiology and outcome of community-acquired lung abscess. *Respiration*, 2010, 80: 98-105.
204. Shelburne SA, Sahasrabhojane P, Saldana M, Yao H, Su X, Horstmann N, Thompson E, Flores AR. Streptococcus mitis strains causing severe clinical disease in cancer patients. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20: 762-771.
205. Solanki R, Subramanian S, Lakshmi V, Bhushanam V, Kumar A. Brain abscess due to Streptococcus oralis in an immunocompetent patient. *Indian J Med Microbiol*, 2014, 32: 179-180.
206. Montejo M, Aguirrebengoe K. Streptococcus oralis meningitis after dental manipulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998, 85: 126-127.
207. Colville A, Davies W, Heneghan M, Goodwin A, Griffiths T. A rare complication of dental treatment: Streptococcus oralis meningitis. *Br Dent J*, 1993, 175: 133-134.
208. Beighton D, Carr AD, Oppenheim BA. Identification of viridans streptococci associated with bacteraemia in neutropenic cancer patients. *J Med Microbiol*, 1994, 40: 202-204.
209. Jacobs JA, Schouten HC, Stobberingh EE, Soeters PB. Viridans streptococci isolated from the bloodstream. Relevance of species identification. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1995, 22: 267-273.
210. Mouton C, Reynolds HS, Genco RJ. Characterization of tufted streptococci isolated from the "corn cob" configuration of human dental plaque. *Infect Immun*, 1980, 27: 235-245.

211. Wang BY, Wu J, Lamont RJ, Lin X, Xie H. Negative correlation of distributions of Streptococcus cristatus and Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque. *J Clin Microbiol*, 2009, 47: 3902-3906.
212. Glazunova OO, Raoult D, Roux V. Streptococcus massiliensis sp. nov., isolated from a patient blood culture. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006, 56: 1127-1131.
213. Pontigo F, Silva C, Moraga M, Flores SV. Streptococcus massiliensis in the human mouth: a phylogenetic approach for the inference of bacterial habitats. *Genet Mol Res*, 2015, 14: 19184-19190.
214. Demir T, Baris, O., Zor, E. Investigation of in Vitro Mineral Forming Bacterial Isolates from Subgingival Calculus. *Achives of Clinical Experimental Surgery*, 2014.
215. Terzic A, Scolozzi P. Deep neck space abscesses of dental origin: the impact of Streptococcus group Milleri. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2014, 271: 2771-2774.
216. Wong CA, Donald F, Macfarlane JT. Streptococcus milleri pulmonary disease: a review and clinical description of 25 patients. *Thorax*, 1995, 50: 1093-1096.
217. Whiley RA, Fraser H, Hardie JM, Beighton D. Phenotypic differentiation of Streptococcus intermedius, Streptococcus constellatus, and Streptococcus anginosus strains within the "Streptococcus milleri group". *J Clin Microbiol*, 1990, 28: 1497-1501.
218. Whiley RA, Beighton D, Winstanley TG, Fraser HY, Hardie JM. Streptococcus intermedius, Streptococcus constellatus, and Streptococcus anginosus (the Streptococcus milleri group): association with different body sites and clinical infections. *J Clin Microbiol*, 1992, 30: 243-244.
219. Asam D, Spellerberg B. Molecular pathogenicity of Streptococcus anginosus. *Mol Oral Microbiol*, 2014, 29: 145-155.
220. Burgos J, Falco V, Pahissa A. The increasing incidence of empyema. *Curr Opin Pulm Med*, 2013, 19: 350-356.
221. Deutschmann MW, Livingstone D, Cho JJ, Vanderkooi OG, Brookes JT. The significance of Streptococcus anginosus group in intracranial complications of pediatric rhinosinusitis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 139: 157-160.
222. Stelzmueller I, Pfausler B, Fille M, Dossett LA, Bonatti H. Streptococcus milleri group isolates from blood cultures: consider surgical sepsis. *Surg Infect (Larchmt)*, 2009, 10: 259-263.
223. Elhussein TA, Hutchison SJ. Streptococcus constellatus community acquired pneumonia with subsequent isolated pulmonic valve endocarditis and abscess formation in a structurally normal heart. *J Cardiovasc Ultrasound*, 2014, 22: 91-94.
224. Sasaki M, Yamaura C, Ohara-Nemoto Y, Tajika S, Kodama Y, Ohya T, Harada R, Kimura S. Streptococcus anginosus infection in oral cancer and its infection route. *Oral Dis*, 2005, 11: 151-156.
225. Fisher LE, Russell RR. The isolation and characterization of milleri group streptococci from dental periapical abscesses. *J Dent Res*, 1993, 72: 1191-1193.
226. Cervera-Hernandez ME, Pohl D. Splenic abscess caused by Streptococcus anginosus following laparoscopic sleeve gastrectomy: a case report of a rare complication of bariatric surgery. *J Surg Case Rep*, 2017, 2017: rjx072.
227. Lee SB, Jones LK, Giannini C. Brainstem infarcts as an early manifestation of Streptococcus anginosus meningitis. *Neurocrit Care*, 2005, 3: 157-160.
228. Sasaki H, Igaki H, Ishizuka T, Kogoma Y, Sugimura T, Terada M. Presence of Streptococcus DNA sequence in surgical specimens of gastric cancer. *Jpn J Cancer Res*, 1995, 86: 791-794.

229. Sasaki H, Ishizuka T, Muto M, Nezu M, Nakanishi Y, Inagaki Y, Watanabe H, Watanabe H, Terada M. Presence of Streptococcus anginosus DNA in esophageal cancer, dysplasia of esophagus, and gastric cancer. *Cancer Res*, 1998, 58: 2991-2995.
230. Piscitelli SC, Shwed J, Schreckenberger P, Danziger LH. Streptococcus milleri group: renewed interest in an elusive pathogen. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1992, 11: 491-498.
231. Ng KW, Mukhopadhyay A. Streptococcus constellatus bacteremia causing septic shock following tooth extraction: a case report. *Cases J*, 2009, 2: 6493.
232. Udaondo P, Garcia-Delpech S, Diaz-Llopis M, Salom D, Garcia-Pous M, Strottmann JM. Bilateral intraorbital abscesses and cavernous sinus thromboses secondary to Streptococcus milleri with a favorable outcome. *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 2008, 24: 408-410.
233. Chheda LV, Sobol WM, Buerk BM, Kurz PA. Endogenous endophthalmitis with brain abscesses caused by Streptococcus constellatus. *Arch Ophthalmol*, 2011, 129: 517-518.
234. Marques da Silva R, Caugant DA, Josefsen R, Tronstad L, Olsen I. Characterization of Streptococcus constellatus strains recovered from a brain abscess and periodontal pockets in an immunocompromised patient. *J Periodontol*, 2004, 75: 1720-1723.
235. Gobels K, Teichmann D, Grobusch MP, Halle E, Suttorp N. A case of multiple brain abscesses due to Streptococcus constellatus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2002, 21: 156-157.
236. Akuzawa N, Hatori T, Kitahara Y, Kurabayashi M. Multiple liver abscesses and bacteremia caused by Streptococcus constellatus infection: a case report. *Clin Case Rep*, 2017, 5: 69-74.
237. Esposito S, Avallone L, Massari A, Lo Pardo D, Pezzuti G, Smaldone P, Anzalone S, Ardimento P. [Streptococcus gordonii extensive multiple subcutanoeus abscesses]. *Infez Med*, 2011, 19: 189-193.
238. Menon T, Kumar VN. Genome sequence of an invasive strain of Streptococcus gordonii. *Indian J Med Microbiol*, 2017, 35: 274-276.
239. Fukushima K, Noda M, Saito Y, Ikeda T. Streptococcus sanguis meningitis: report of a case and review of the literature. *Intern Med*, 2012, 51: 3073-3076.
240. Demers C, Tremblay M, Lacourciere Y. Acute vertebral osteomyelitis complicating Streptococcus sanguis endocarditis. *Ann Rheum Dis*, 1988, 47: 333-336.
241. Yagci A, Uysal T, Demirsoy KK, Percin D. Relationship between odontogenic bacteremia and orthodontic stripping. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2013, 144: 73-77.
242. Seizeur R, Condette-Auliac S, Goutagny S, Pencalet P, Gaillard S. [Chronic intramedullary abscess (Streptococcus sanguis). A case report and review of the literature]. *Neurochirurgie*, 2006, 52: 542-546.
243. dos Santos VM, Fachinelli LR, Farage L, de Souza Lima G, Machado de Carvalho MR, Nogueira de Andrade IG. An 81-year-old male with iliopsoas abscess by Streptococcus sanguis. *Infez Med*, 2015, 23: 56-60.
244. Dhawan B, Lyngdoh V, Mehta VS, Chaudhry R. Brain abscess due to Streptococcus sanguis. *Neurol India*, 2003, 51: 131-132.
245. Woo PC, Tam DM, Leung KW, Lau SK, Teng JL, Wong MK, Yuen KY. Streptococcus sinensis sp. nov., a novel species isolated from a patient with infective endocarditis. *J Clin Microbiol*, 2002, 40: 805-810.

246. Seta V, Teicher E, Fortineau N, Ladouceur M, Lambotte O. [Infective endocarditis caused by Streptococcus sinensis]. *Med Mal Infect*, 2015, 45: 56-57.
247. Woo PC, Teng JL, Leung KW, Lau SK, Tse H, Wong BH, Yuen KY. Streptococcus sinensis may react with Lancefield group F antiserum. *J Med Microbiol*, 2004, 53: 1083-1088.
248. Ioannidis O, Kakoutis E, Katsifa H, Rafail S, Chatzopoulos S, Kotronis A, Makrantonakis N. Streptococcus mutans: a rare cause of retroperitoneal abscess. *Adv Med Sci*, 2011, 56: 113-118.
249. Gauduchon V, Benito Y, Celard M, Mouren C, Delorme V, Philippe-Bert J, Etienne J, Vandenesch F. Molecular diagnosis of recurrent Streptococcus mutans endocarditis by PCR amplification and sequencing. *Clin Microbiol Infect*, 2001, 7: 36-37.
250. Eser I, Akcali A, Tatman-Otkun M, Taskiran-Comez A. Conjunctivitis due to Neisseria sicca: a case report. *Indian J Ophthalmol*, 2014, 62: 350-352.
251. Geisler WM, Markovitz DM. Septic arthritis caused by Neisseria sicca. *J Rheumatol*, 1998, 25: 826-828.
252. Johnson AP. The pathogenic potential of commensal species of Neisseria. *J Clin Pathol*, 1983, 36: 213-223.
253. Chung HC, Teng LJ, Hsueh PR. Liver abscess due to Neisseria sicca after repeated transcatheter arterial embolization. *J Med Microbiol*, 2007, 56: 1561-1562.
254. Carter JE, Mizell KN, Evans TN. Neisseria sicca meningitis following intracranial hemorrhage and ventriculostomy tube placement. *Clin Neurol Neurosurg*, 2007, 109: 918-921.
255. Grant PE, Brenner DJ, Steigerwalt AG, Hollis DG, Weaver RE. Neisseria elongata subsp. nitroreducens subsp. nov., formerly CDC group M-6, a gram-negative bacterium associated with endocarditis. *J Clin Microbiol*, 1990, 28: 2591-2596.
256. Wong JD, Janda JM. Association of an important Neisseria species, Neisseria elongata subsp. nitroreducens, with bacteremia, endocarditis, and osteomyelitis. *J Clin Microbiol*, 1992, 30: 719-720.
257. Apisarnthanarak A, Dunagan WC, Dunne WM. Neisseria elongata subsp. elongata, as a cause of human endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001, 39: 265-266.
258. Benes J, Dzupova O, Krizova P, Rozsypal H. Tricuspid valve endocarditis due to Neisseria cinerea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2003, 22: 106-107.
259. Haddow LJ, Mulgrew C, Ansari A, Miell J, Jackson G, Malnick H, Rao GG. Neisseria elongata endocarditis: case report and literature review. *Clin Microbiol Infect*, 2003, 9: 426-430.
260. Hsiao JF, Lee MH, Chia JH, Ho WJ, Chu JJ, Chu PH. Neisseria elongata endocarditis complicated by brain embolism and abscess. *J Med Microbiol*, 2008, 57: 376-381.
261. Entesari-Tatafi D, Bagherirad M, Quan D, Athan E. Iatrogenic meningitis caused by Neisseria sicca/subflava after intrathecal contrast injection, Australia. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20: 1023-1025.
262. Amsel BJ, Moulijn AC. Nonfebrile mitral valve endocarditis due to Neisseria subflava. *Chest*, 1996, 109: 280-282.
263. Assimacopoulos AP. Epidural abscess, discitis and vertebral osteomyelitis caused by Neiserria subflava. *S D Med*, 2007, 60: 265, 267, 269.

264. Kolenbrander PE, Egland PG, Diaz PI, Palmer RJ, Jr. Genome-genome interactions: bacterial communities in initial dental plaque. *Trends Microbiol*, 2005, 13: 11-15.
265. M. A. 0. LEWIS TWMaDAM. Quantitative bacteriology of acute dento - a lveolar abscesses. *Journal of Medical Bacteriology*, 1986, 21: 101-104.
266. Jaqua NT, Smith AJ, Shin TT, Jahanmir J. Actinomyces naeslundii and Eikenella corrodens as rare causes of liver abscesses. *BMJ Case Rep*, 2013, 2013.
267. Mashimo C, Yamane K, Yamanaka T, Maruyama H, Wang PL, Komasa S, Okazaki J, Nambu T. Genome Sequence of Actinomyces naeslundii Strain ATCC 27039, Isolated from an Abdominal Wound Abscess. *Genome Announc*, 2016, 4.
268. Yamane K, Nambu T, Yamanaka T, Ishihara K, Tatami T, Mashimo C, Walker CB, Leung KP, Fukushima H. Pathogenicity of exopolysaccharide-producing Actinomyces oris isolated from an apical abscess lesion. *Int Endod J*, 2013, 46: 145-154.
269. Cone LA, Leung MM, Hirschberg J. Actinomyces odontolyticus bacteremia. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 1629-1632.
270. Simpson AJ, Das SS, Mitchelmore IJ. Polymicrobial brain abscess involving Haemophilus paraphrophilus and Actinomyces odontolyticus. *Postgrad Med J*, 1996, 72: 297-298.
271. Sugano S, Matuda T, Suzuki T, Makino H, Iinuma M, Ishii K, Ohe K, Mogami K. Hepatic actinomycosis: case report and review of the literature in Japan. *J Gastroenterol*, 1997, 32: 672-676.
272. Woo PC, Fung AM, Lau SK, Hon E, Yuen KY. Diagnosis of pelvic actinomycosis by 16S ribosomal RNA gene sequencing and its clinical significance. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2002, 43: 113-118.
273. Litwin KA, Jadbabaie F, Villanueva M. Case of pleuropericardial disease caused by Actinomyces odontolyticus that resulted in cardiac tamponade. *Clin Infect Dis*, 1999, 29: 219-220.
274. Mack R, Slicker K, Ghamande S, Surani SR. Actinomyces odontolyticus: Rare Etiology for Purulent Pericarditis. *Case Rep Med*, 2014, 2014: 734925.
275. Chao CT, Liao CH, Lai CC, Hsueh PR. Liver abscess due to Actinomyces odontolyticus in an immunocompetent patient. *Infection*, 2011, 39: 77-79.
276. Yanagisawa R, Minami K, Kubota N, Iwade T, Ogiso Y. Asymptomatic subcutaneous cervical mass due to Actinomyces odontolyticus infection in a pyriform sinus fistula. *Pediatr Int*, 2017.
277. P. A. LONG LIS, A. V. PHAM, and G. H. G. DAVIS. Characterization of Morococcus cerebrosus gen. nov., sp. nov. and Comparison with Neisseria mucosa. *Int J Syst Bacteriol*, 1981.
278. Charlotte Trouvé RR, Patrick Descheemaeker, and Eric Nulens. Acute Post-Cataract Endophthalmitis Caused by Morococcus cerebrosus. 2015.
279. Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet Microbiol*, 2009, 134: 45-54.
280. Takeuchi F, Watanabe S, Baba T, Yuzawa H, Ito T, Morimoto Y, Kuroda M, Cui L, Takahashi M, Ankai A, Baba S, Fukui S, Lee JC, Hiramatsu K. Whole-genome sequencing of staphylococcus haemolyticus uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species. *J Bacteriol*, 2005, 187: 7292-7308.
281. Barros EM, Ceotto H, Bastos MC, Dos Santos KR, Giambiagi-Demarval M. Staphylococcus haemolyticus as an important hospital pathogen and carrier of methicillin resistance genes. *J Clin Microbiol*, 2012, 50: 166-168.

282. Bannerman T. Staphylococcus, Micrococcus and other catalasepositive cocci that grow aerobically. In: Murray, P., Baron, E., Jorgerson, J., Pfaller, M., Yolken, R. (Eds.), Manual of Clinical Microbiology.

ASM Press, Washington. 2003.
283. Panda S, Jena S, Sharma S, Dhawan B, Nath G, Singh DV. Identification of Novel Sequence Types among Staphylococcus haemolyticus Isolated from Variety of Infections in India. *PLoS One*, 2016, 11: e0166193.
284. Gamberini S, Anania G, Incasa E, Zangirolami A, Tampieri M, Boari B, Benea G, Manfredini R. Staphylococcus hemolyticus liver abscess as an uncommon presentation of silent colonic cancer: a case report. *J Am Geriatr Soc*, 2006, 54: 1619-1620.
285. Teeraputon S, Santanirand P, Wongchai T, Songjang W, Lapsomthob N, Jaikrasun D, Toonkaew S, Tophon P. Prevalence of methicillin resistance and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance in Staphylococcus haemolyticus among clinical strains at a tertiary-care hospital in Thailand. *New Microbes New Infect*, 2017, 19: 28-33.
286. Marsou R, Bes M, Brun Y, Boudouma M, Idrissi L, Meugnier H, Freney J, Etienne J. Molecular techniques open up new vistas for typing of coagulase-negative staphylococci. *Pathol Biol (Paris)*, 2001, 49: 205-215.
287. Novakova D, Sedlacek I, Pantucek R, Stetina V, Svec P, Petras P. Staphylococcus equorum and Staphylococcus succinus isolated from human clinical specimens. *J Med Microbiol*, 2006, 55: 523-528.
288. Doualla Bija M, Namme Luma H, Abena Mbida P, Tchaleu Nguenkam C, Okalla Ebongue C. Cervical spondylodiscitis due to Staphylococcus equorum. *Med Mal Infect*, 2013, 43: 255-257.
289. Tuazon CU, Murray HW, Levy C, Solny MN, Curtin JA, Sheagren JN. Serious infections from Bacillus sp. *JAMA*, 1979, 241: 1137-1140.
290. Cotton DJ, Gill VJ, Marshall DJ, Gress J, Thaler M, Pizzo PA. Clinical features and therapeutic interventions in 17 cases of Bacillus bacteremia in an immunosuppressed patient population. *J Clin Microbiol*, 1987, 25: 672-674.
291. Morello A, Bettinazzi N. Brain abscess due to gas bacillus infection. Report of a case. *J Neurosurg*, 1966, 24: 752-754.
292. Sakai C, Iuchi T, Ishii A, Kumagai K, Takagi T. Bacillus cereus brain abscesses occurring in a severely neutropenic patient: successful treatment with antimicrobial agents, granulocyte colony-stimulating factor and surgical drainage. *Intern Med*, 2001, 40: 654-657.
293. Llenas-Garcia J, Fernandez-Ruiz M, Caurcel L, Enguita-Valls A, Vila-Santos J, Guerra-Vales JM. Splenic abscess: a review of 22 cases in a single institution. *Eur J Intern Med*, 2009, 20: 537-539.
294. Aguş N SA, Özkalay N, Cengiz A. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci. *ANKEM Derg*, 2006, 20(3): 145-147.
295. Gül Yurtsever S ŞA, Pehlivan M, Afşar İ, Çeken N, Türker M. İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde vankomisine dirençli enterokok infeksiyonu. *Hastane İnfeksiyonlarDergisi*, 2006, 10(3): 178-181.
296. Choi SH, Lee SO, Kim TH, Chung JW, Choo EJ, Kwak YG, Kim MN, Kim YS, Woo JH, Ryu J, Kim NJ. Clinical features and outcomes of bacteremia caused by Enterococcus casseliflavus and Enterococcus gallinarum: analysis of 56 cases. *Clin Infect Dis*, 2004, 38: 53-61.
297. Gascon F, Castano MA, Gonzalez A, Cordon MD. [Endocarditis due to Enterococcus casseliflavus]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2003, 21: 275-276.

298. Reid KC, Cockerill IF, Patel R. Clinical and epidemiological features of Enterococcus casseliflavus/flavescens and Enterococcus gallinarum bacteremia: a report of 20 cases. *Clin Infect Dis*, 2001, 32: 1540-1546.
299. Pappas G, Liberopoulos E, Tsianos E, Elisaf M. Enterococcus casseliflavus bacteremia. Case report and literature review. *J Infect*, 2004, 48: 206-208.
300. Iaria C, Stassi G, Costa GB, Di Leo R, Toscano A, Cascio A. Enterococcal meningitis caused by Enterococcus casseliflavus. First case report. *BMC Infect Dis*, 2005, 5: 3.
301. Sambhav K, Mathai A, Reddy AK, Reddy BV, Bhatia K, Balne PK. Endogenous endophthalmitis caused by Enterococcus casseliflavus. *J Med Microbiol*, 2011, 60: 670-672.
302. Klug TE, Henriksen JJ, Fuursted K, Ovesen T. Significant pathogens in peritonsillar abscesses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2011, 30: 619-627.
303. Parhiscar A, Har-El G. Deep neck abscess: a retrospective review of 210 cases. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2001, 110: 1051-1054.
304. Wright PW, Wallace RJ, Jr. Pneumonia due to Moraxella (Branhamella) catarrhalis. *Semin Respir Infect*, 1989, 4: 40-46.
305. Marchant CD. Spectrum of disease due to Branhamella catarrhalis in children with particular reference to acute otitis media. *Am J Med*, 1990, 88: 15S-19S.
306. Ejlertsen T, Schonheyder HC, Thisted E. Beta-lactamase production in Branhamella catarrhalis isolated from lower respiratory tract secretions in Danish children: an increasing problem. *Infection*, 1991, 19: 328-330.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı soyadı: Kübra KARAÇAM **Doğum Tarihi:** 22.10.1988 **Doğum Yeri:** MALATYA **Uyruğu:** T.C. **Adres:** Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum **Tel:** 0505-9396258/ 0442 2133563
Eğitim
Lise: Mehmet Emin Resulzade Anadolu Lisesi, Ankara (2002-2006) **Lisans:** Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Konya (2008-2013) **Uzmanlık:** Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Erzurum (2014-2017)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK KURULU

Sayı : 68

22.11/ 2016

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

22.11.2016 tarih ve 16/43 sayılı yazınız ekinde gönderilen Prof. Dr. Turgut DEMİR danışmanlığında Arş. Gör. Dt. Kübra KARAÇAM'ın yürüteceği **"Periodontol Apselerden Kültür Yardımıyla İzole Edilen Bakterilerin 16S PCR ve DNA Dizi Analizi ile Tanılanması"** konulu uzmanlık tezi çalışması ile ilgili etik kurul başvurusu kurulumuz tarafından incelenmiş olup, konu ile ilgili alınan karar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi arz ve rica ederim.

Prof. Dr. O. Murat BİLGE
Etik Kurul Başkanı

Eki: Etik Kurul Kararı

Adres: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı ERZURUM

Tel : (442) 2360944

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK KURULU

Oturum Tarihi: 22.11.2016
Oturum Sayısı: 13/2016

KARAR

SORUMLU ARAŞTIRMACI	Prof. Dr. Turgut DEMİR Arş. Gör. Dt. Kübra KARAÇAM
Araştırmanın Açık Adı	***Periodontol Apselerden Kültür Yardımıyla İzole Edilen Bakterilerin 16S PCR ve DNA Dizi Analizi ile Tanılanması***
Karar No	**68.**
Alınan Karar	Prof. Dr. Turgut DEMİR yöneticiliğinde, Arş. Gör. Dt. Kübra KARAÇAM'ın yürüteceği ***"Periodontol Apselerden Kültür Yardımıyla İzole Edilen Bakterilerin 16S PCR ve DNA Dizi Analizi ile Tanılanması"*** konulu uzmanlık tezi çalışmasının, Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan 19 Ağustos 2011 tarih ve 28030 sayılı "Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik" hükümlerine bağlı kalınarak yapılmak şartıyla kabul edilmesinde bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oybirliği ile karar verildi.

Prof. Dr. O. Murat BİLGE
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Nuran YANIKOĞLU

Prof. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR

Prof. Dr. Kezban Meltem ÇOLAK TOPÇU

Yrd. Doç. Dr. Ali KİKİ

EK-3. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU

Sayın katılımcı, bu araştırma Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında akademik çalışma olarak yürütülmektedir. Bu çalışmayı kabul etmeniz durumunda başlangıçta anamnez alınıp rutin periodontal muayeneniz yapılacak ve böylece periodontal apse var olup olmadığı belirlenecek varsa tanımlanacaktır. Daha sonra araştırma materyali olarak periodontal apse içeriği bir enjektör ile aspire edilecektir. Daha sonra rutin periodontal tedavileriniz yapılacaktır.

Araştırmayı reddetme hakkına sahipsiniz. Size herhangi bir ücret ödenmeyecek ve sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. İstediğiniz zaman çalışmadan çıkma hakkına sahipsiniz. İlgi ve yardımınız için teşekkür ederim.

Prof. Dr.Turgut Demir

Arş.Gör.Dt. Kübra Karaçam

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji ABD.

Katılımcının Beyanı

Araştırmacılar tarafından yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarılarak bu çalışmaya katılımcı olarak davet edildim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmadım ve yapılan tüm açıklamaları anlamış bulunmaktayım. Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum ve herhengi bir ödeme talep etmiyorum.Yukarıdaki bilgileri okudum ve bu koşullarda bu araştırmaya kendi rızamla, hiçbir zorlama ve baskı altında kalmadan katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcı adı soyadı:

İmza: