Derleme

ANKEM Derg 2013;27(3):167-172
doi:10.5222/ankem.2013.167

AĞIZ SAĞLIĞININ YENİ TANIMI: AĞIZ MİKROBİYOMU*

Güven KÜLEKÇİ
gkulekci@istanbul.edu.tr

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, İSTANBUL

ÖZET

Ağız mikrobiyomu biyoçeşitliliğinin çözümü, sağlığı sürdürme ya da hastalığa neden olma mekanizmalarını öğrenmek için çok önemlidir. Mikrobiyom ve metagenom profillerini benzeri görülmedik derinlikte saptayan yeni nesil sekanslama teknikleri ağız mikrobiyolojisinde devrim yaratmıştır. Ağız sağlığının derinlemesine tanımı/ mikrobiyomik hem ağız hem sistemik hastalıkların erken ya da geri dönüşebilir evrede farkına varılması ve tanı konmasını sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: *ağız, biyoçeşitlilik, mikrobiyom*

SUMMARY

The New Definition of Oral Health: Oral Microbiome

It is crucial to unravel the biodiversity of the oral microbiome to learn the mechanisms by which it maintains health or causes disease. The next-generation sequencing techniques allowed for profilling of the microbiomes and metagenomes at unprecedented depths have revolutionised the oral microbiology. The depth definition of oral health/ microbiomic will allow the ability to recognize and diagnose both oral and systemic diseases at an earlier or reversible stage.

Keywords: *biodiversity, microbiome, oral*

İnsan Mikrobiyom Projesi

İnsan Mikrobiyom Projesi (*Human Microbiome Project*, HMP), Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 2007 yılında Ulusal Sağlık Enstitüsü (*National Institute of Health*, NIH) tarafından Tıbbi Araştırma Yol Haritası (*Roadmap for Medical Research*) girişimi olarak son teknolojik ilerlemelerden yararlanarak yenilerini geliştirmek için başlatılmıştır[27,28]. Amaç bizimle birlikte yaşayan mikroorganizmaların sağlık ve hastalıkla ilişkisini belirlemektir. Bu projenin başlatılmasında İnsan Genom Projesi (*Human Genome Project*, HGP) ile insan genomunun salt ~20,000 protein kodlayan gen içeriyor olmasının; bu sonucun meyve sineği genomundan çok farklı olmadığının yarattığı şaşkınlığın payı vardır. İnsan Mikrobiyom Projesi, İnsan Genom Projesi'nin mantıksal ve deneysel bir devamıdır. İnsan Mikrobiyom Projesi, ABD yanında Avrupa ve Asya'nın dahil olduğu dünya çapında, birden fazla projeden oluşan disiplinler arası bir çabadır[28]. Metagenomik yaklaşımla çalışılmaktadır. Metagenomik yaklaşım, bir laboratuvarda üretilen tek bir bakteri suş genomunun incelenmesi yerine doğal çevrelerinden alınarak bir bütün olarak mikrop topluluklarının genomlarının incelenmesidir. Böylece ekosistemlerin karmaşık mikroflora/mikrobiyota içerikleri, evrimsel ve metabolik özellikler yönünden sorgulanmaktadır.

Mikrobiyom terimi, insanla yaşayan mikroorganizmalar ve insan vücudunun bir kompleks interaktif sistem "süperorganizma" olarak ele alınması görüşünden doğmuştur. Bu terim, ABD'li Nobel Ödüllü moleküler biyolog *Joshua Lederberg* (1925-2008) tarafından 2001 yılında icat edilmiştir[18]. Om (*Ome*, Ω), "bir şeyin bütünü" anlamı veren bir ektir. Mikrobiyom vücudumuzu tam olarak paylaştığımız ancak sağlık ve hastalık belirleyicileri olarak göz ardı ettiğimiz kommensal, simbiyotik ve patojen mikroorga-

*28.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi Kahvaltılı Oturum-5 Sunumu (22-26 Mayıs 2013, Antalya)

nizmalar ekolojik topluluğudur.

Bu proje doğrultusunda *mikroflora* yerine *mikrobiyom* terimi kullanılmaya başlamıştır. Mikrobiyomu oluşturan mikroorganizmalara da *mikrobiyota* denmektedir. Ayrıca *mikroflora* terimi, "flora" eki, bitkilerle ilişkili olduğundan daha uygun olan "biyota" eki ile değiştirilerek *mikrobiyota* olarak kullanılmaya başlamıştır[8]. Sıklıkla *mikroflora/mikrobiyota/mikrobiyom* birbirinin yerine kullanılsa da *mikrobiyom*, belli bir çevredeki mikroplar yani *mikrobiyota* ile mikrobiyotanın genetik elementlerinin (genomlarının) ve çevresel etkileşimlerin tümüdür. İnsan mikrobiyotası, "insan" hücrelerimize sayıca 10:1 üstün gelen 100 trilyon mikrop hücresinden oluşur[22]. Bu mikroorganizmalar genomları ile insan genomunu yaklaşık 100 kat çoğaltır[20,28].

İnsan vücudu ile ilişkili sağlık ve hastalıkta rol oynan mikroorganizmalar ökaryotlar, arkaelar, bakteriler ve virüslerdir. Mikroorganizmaların farklı fonksiyonları ve karşılıklı etkileşimlerini inceleyerek konağın fizyolojisi ve sağlığını nasıl etkilediğini anlamayı amaçlayan araştırma alanı mikrobiyomik (*microbiomics*) olarak adlandırılır[20]. Mikrobiyomik, mikrobiyom ve sağlık arasındaki korelasyon hakkında doğru ve derinlemesine bilgi toplamak için metagenomik ve klinik araştırma birlikteliği gerektirir[30].

İnsan Mikrobiyom Projesi, başlangıçta 300 sağlıklı insanın 15-18 vücut bölgesi ile ilişkili mikrop topluluklarını belirlemeyi vaat etmiştir. Hem kültür edilen hem edilmeyen bakterilerden 300'ü ağız boşluğundan olmak üzere 1000 referans genoma kadar sekanslanmıştır[27]. İnsan Mikrobiyom Projesi, hızlı veri bildirme sözünü de tutarak *Data Analysis and Coordinating Center* (DACC) / Veri Analizi ve Koordinasyon Merkezi kurulmuştur. Web sitesi http://www.hmpdacc.org tüm verilerin merkezi deposudur. İşlenmemiş tüm 16S, WGS (*Whole-Genome* Shotgun) ve referans genom sekans bilgileri, Biyoteknoloji Bilgi Ulusal Merkezi'nde (*National Center for Biotechnology Information*, NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/43021) depolanmaktadır[26]. DNA sekanslama teknolojilerinin hızla ilerlemesi, gittikçe daha çok DNA sekansının daha düşük maliyetle oluşturulmasını sağlamaktadır. Mikrobiyom örneklerinden izole edilen genomik DNA sekanslarının Gbp (*gigabase* / 1,000,000,000 bp) miktarlarında elde edilmesi sıradan bir iş olmuştur. Gelecek on yılda bu sınırın önemli ölçüde genişleyeceği düşünülmektedir.

İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi

İnsan Mikrobiyom Projesi kapsamında Diş ve Kraniyofasyal Araştırma Ulusal Enstitüsü (*The National Institute of Dental and Craniofacial Research*, NIDCR) desteğinde İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi (*Human Oral Microbiome*, HOM) de yürümekte ve İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı (*Human Oral Microbiome Database*, HOMD) (www.homd.org) oluşturulmaktadır[9]. Böylece insan ağız mikrobiyolojisi üzerine geliştirilmiş en kapsamlı veritabanı elde edilecektir. İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi sayesinde sağlık ve hastalıkla ilgili türler karşılaştırılabilecek, tedavinin ağız ekolojisi üzerine etkisi izlenebilecek ve mikrobiyal kayma çalışmaları yapılabilecek ve ayrıca ağız mikrobiyotasının sistemik sağlıkla ilişkisi daha iyi anlaşılabilecektir.

Yeni bir proje olmasına karşın ağız mikrobiyologları için mikrobiyom ve polimikrobiyal hastalığın önemi uzun yıllardır bilinmektedir. 1986'den beri kültürden bağımsız 16S rRNA gen sekanslarına dayanan klonal çalışmalarla 700 prokaryotik tür bildirilmiştir[1,19]. İnsan ağız mikrobiyomu, kolay örnek alınabildiği ve dünyanın en yaygın infeksiyon hastalıkları olan diş çürüğü ve dişeti hastalıkları ile ilişkisi nedeniyle en çok çalışılan mikrobiyotadır. Tahminler ağız türlerinin ~1,200 türe ulaşabileceğini; hatta daha yükseleceğine işaret etmektedir[12]. Ayrıca yeni nesil sekanslama teknolojisi kullanan çalışmalar, HOMD'da listelenen filum sayısının iki katına çıkabileceğini bildirmektedir[14,23].

Ağız mikrobiyom incelemeleri en yaygın ağız bakteri türlerinden ~300'ünün özel olarak dizayn edilmiş problarla aynı anda saptanabildiği HOMIM (*Human Oral Microbe Identification Microarray*), topluluğun taksonomik profil ve çeşitliliği hakkında bilgi sağlayan 16S rRNA gen çok değişken bölgesini hedef alan DNA amplikonlarının sekanslanması (16S rRNA pirosekanslama) ve taksonların tanısı kadar topluluğun üstün fonksiyonlarının belirlendiği tüm topluluğun direkt gen sekanslaması, metagenomik shotgun sekanslama (*Whole-Genome Shotgun*,

WGS) testleri ile yapılmaktadır[9]. Elde edilen sekanslardan % 97 sekans benzerliğinde toplananlar *operasyonel taksonomik ünite* (OTU)/*tür*/*filotip* olarak değerlendirilmektedir.

İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı (HOMD)

2013 yılı erişim bilgisine göre HOMD'da insan ağız boşluğunda var olan ~700 prokaryot türün yaklaşık % 49'u resmen adlandırılmış, % 17'si adlandırılmamış ancak kültür edilmiş ve % 34'ü salt kültür edilmemiş filotip olarak kayıtlıdır[6]. HOMD, henüz adlandırılmamış türler için geçici bir adlandırma şeması sunar; böylece herhangi bir laboratuvara ait suş, klon ve prob verileri, stabil olarak adlandırılmış bir başvuru şeması ile ilişkilendirilebilir. Sekans bilgileri fenotipik, filogenetik, klinik ve kaynakça bilgisi ile görüntülenir. Bu bilgilerin toplamı, her bir takson için benzersiz İnsan Ağız Takson (Human Oral Taxon, HOT) Numarası'nı oluşturur. Bu veritabanına HOM, HMP ve diğer sekanslama projelerinde belirlenen ağız bakterilerinin genom sekansları da eklenmektedir. HOMD'da şu anda 315 ağız takson genomu (HOMD'daki taksonların % 46'sı) bulunmaktadır[6]. HOMD'da taksonomik hiyerarşide 2013 yılında bakteri takson sayısı 687, genom sayısı 1,047; arkea takson sayısı bir ve genom sayısı bir olmak üzere toplam insan ağız takson sayısı 688'dir[6].

Ağız boşluğu bakteriler, mantarlar, arkaelar, virüsler ve protozoonlar dahil insan vücudunun en çeşitli mikrobiyomlarından birisidir[29]. Bakteriler üstün mikroorganizmalardır; > 100 mantar türü bulunmaktadır. Henüz kültür edilmemiş filotiplerin bazıları metanojenik *arkaea*'lardır[29]. Ağız boşluğunda bulunan 10 bakteri filumu *Bacteroides, Chloroflexi, Firmicutes, Tenericutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes, Synergistetes* ve adlandırılmamış iki filum SR1 ve TM7'dir[9].

Sekansların salt cins düzeyinde tanımlanmasına olanak veren İnsan Ribosomal Veritabanı Projesi (*Ribosomal Database Project*), (http://rdp.cme.msu.edu) çok yüksek verimlilikteki pirosekanslama bilgilerini desteklemektedir[29]. Ağız mikrobiyom araştırma tekniklerinden geniş tabanlı 16S rRNA gen pirosekanslama ve daha önce tanımlanmış ağız bakterilerine özel 16S rRNA hibridizasyonuna dayanan HOMIM tekniği 20 kişiden alınan ağız çalkalama örneklerinde karşılaştırılmıştır[3]. İki teknik, filum ve cins düzeyinde yaygın olanların varlığında yüksek uyum gösterirken daha az görülen cinslerde zayıf uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada RDPII'ye dayanarak 16S rRNA gen pirosekanslama ile 79,000 sekanstan 11 bakteri filumu ve 77 cins tanımlanmıştır[3]. Üstün olan filumların beşi *Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria* ve *Fusobacteria*'dır. HOMIM ile 49 cins ve her iki teknikle ortak 37 cins tanımlanmıştır. Üstün olan cinsler *Streptococcus, Veillonella, Leptotrichia, Prevotella* ve *Haemophilus*'tur[3].

Sağlıklı ağız mikrobiyomu

İlk olarak beklenmedik yüksek çeşitlilik, 454 GS FXL pirosekanslama ile 98 sağlıklı erişkinden toplanan supragingival plak biyofilminin ~10,000 filotip içerdiği ve 71 tükürükte 5,600 filotip bulunduğu bilgisidir[14]. Çocuklarda süt diş dentisyonunda üstün filum *Proteobacteria* iken kalıcı dişlenmede *Bacteroidetes*, *Veillonella* ailesi, *Spirochates* ve TM7 filumlarının arttığı bildirilmiştir[7].

Birbiriyle ilişkisi olmayan sağlıklı kişilerin ağzındaki bakteri sekanslarının bölgeden bölgeye farklılık gösterse de büyük oranda aynı olduğu yani ağız boşluğunda hem *çekirdek* hem *değişebilir mikrobiyom* varlığı gösterilmiştir[5,31]. Çekirdek mikrobiyom, tüm kişilerce paylaşılır ve vücudun farklı yerlerinde sağlıklı koşullar altında var olan sağlıklı türlerden oluşur[24,28,30,31]. Değişebilir mikrobiyom kişiye özeldir ve eşsiz yaşam biçimi, fenotipik ve genotipik belirleyicilere yanıt olarak evrilmiştir[28].

Bir sağlıklı ağız mikrobiyomunda (diş yüzeyleri, yanak, sert damak, dil ve tükürükten) > 3,600 benzersiz sekans, 1,660 çekirdek sekans, > 500 farklı filotip, 88-104 cins ve üstü takson bulunmuştur; üstün takonlar *Firmicutes* (*Streptococcus* cinsi, *Veillonellaceae* ailesi, *Granulicatella* cinsi), *Proteobacteria* (*Neisseria* ve *Haemophilus* cinsleri), *Actinobacteria* (*Corynebacterium, Rothia* ve *Actinomyces* cinsleri), *Bacteroidetes* (*Prevotella, Capnocytophaga* ve *Porphyromonas* cinsleri) ve *Fusobacteria* (genus *Fusobacterium* cinsi) filumlarıdır[31]. Her bir kişisel örnek örnek en az yanak örnekleri ve en yüksek diş arayüz örnekleri

olmak üzere ortalama 266 tür düzeyi filotip içerir[31].

Sağlıklı kişilerde ağız boşluğu biyocoğrafyasının mukoza ve tükürükteki bakteri topluluklarının 454 pirosekanslama ile değerlendirme çalışmasında kişiler arasındaki bakteri topluluk yapısındaki farklılık, kişinin bölge farklılıklarından daha düşük bulunmuştur. Farklılığa mukozada *Streptococcus mitis* ve *Gemella hemolysans* üstünlüğünün neden olduğu ve farklılığın çok düşük sekanslama sayısında belirgin olduğu saptanmıştır[10].

Sağlıklı ağız mikrobiyomu ile ilgili bir başka çalışma 10 kişiden 11,368 bakteri 16S rRNA gen sekansı ile iç içe dört halka oluşturularak sonuçlanmıştır[5]. En içteki halka % 100 paylaşılan çekirdek ağız mikrobiyomunu, ikinci halka % 51-99, üçüncü halka % 21-50, en dış halka % 1-20 kişinin paylaştığı değişebilir ağız mikrobiyomu olarak çizilmiştir.

Ohio State University Diş Hekimliği Fakültesi tarafından çekirdek ağız mikrobiyomunu temsil eden 16S rDNA sekanslarının filogenetik olarak düzenlediği bir CORE Oral Microbiome veritabanı (http://microbiome.osu.edu) oluşturulmuş ve kullanıma açılmıştır[11]. Ağız klinik örneklerden elde edilen bakterileri tanımlamak için tasarlanmıştır. Yeni nesil sekanslamanın yüksek sayıdaki verileri ya da tek sekans sorgulaması yapılabilir. Ağız boşluğunda en bol bulunan *Firmicutes* ve *Proteobacteria* dışındaki az sayıda temsilcisi olan filumların kültür edilebilen ya da edilemeyen nadir sekansları için cins düzeyinde dairesel filogenetik ağaç çizilmiştir[11].

Sağlığın tanımı

Sağlığın derinlemesine tanımı, biyoçeşitlilik ve mikrobiyal kaymaları anlamak için, hastalıkların tanı ve tedavinin erken ve geri dönüşebilir evrede yapılabilmesi için çok önemlidir[31]. Ağız sağlığının anahtarı kendi başına kommensal ilişki ve konakla mutual ilişki içinde ekolojik olarak dengeli ve çeşitli bir mikrobiyoma sahip olmasıdır[30]. Mikroorganizmalar arasında kommensal ilişki, ağız boşluğu içinde biyoçeşitliliği sürdürecek şekilde gelişmelerine olanak verir. Biyoçeşitlilik sağlık için gereklidir; böylece konakla mikrobiyom arasındaki karşılıklı yarar ilişkisi sürer[30]. Ciddi diş çürüklü çocukların ağız mikrobiyomları, sağlıklı olanlara göre daha az çeşitlilikte bulunmuştur[13]. İnfekte kök kanallarının asemptomatik lezyonları, semptomatik olanlardan daha yüksek biyoçeşitliliktedir[21]. Sağlıkta biyoçeşitlilik, ağız boşluğu içinde her türün denge ve homestazı sürdürmek için gereken özel bir fonksiyon olduğunu göstermektedir[30]. Tipik olarak hastalıklı bölgelerde bulunan mikrobiyom, sağlıklı bölgelerdekine göre yapısal olarak daha komplekstir; bu nedenle sağlıklı bölgelerde mikroorganizma topluluk aktivitesini saptamak daha kolay olabilir[12].

Sağlıkta mikrobiyom ve konak arasındaki yarar ilişkisinde konağın mikroorganizma toplulukları için sağladığı çevrenin de payı büyüktür. Ağız mikrobiyomunu genlerimiz değil çevrenin belirlediği 27 monozigot ve 18 dizigotik ikizin 10 yıl boyunca başlıca 12-13, 17-18 ve 22-24 yaşlarında alınan 264 tükürük örneğinin 16S rRNA pirosekanslama yöntemiyle incelendiği bir çalışma ile ortaya konmuştur[25]. Bu çalışmaya göre ağız mikrobiyomu ne yediğimize, kiminle öpüştüğümüze ve dişlerimizi ne sıklıkta fırçaladığımıza bağlıdır.

Tükürük mikrobiyomu

Farklı kişi/kişilerdeki aynı ve farklı bölgelerde, farklı zamanlardaki bakteri topluluk kompoziyonunun filogenetik ağaçta kalitatif ve kantitatif uzaklık ölçümünün yapıldığı UniFrac analizi, tükürük mikrobiyomu pirosekanslaması ile birleştirilerek çalışıldığında aynı kişiden bir ay süresince alınan üç örneğin görece stabil olduğu belirlenmiştir[17]. Bu bilgi gelecekte tükürükten adli tanımlamada yararlanabilme olasılığı taşımaktadır. Ayrıca tükürük bakteri profilinin ağız ve sistemik hastalıklarla ilişki yönünden tanı aracı olarak kullanılabilme potansiyeli vardır.

Ağız diş ve sistemik hastalıklar

Dünyanın en yaygın infeksiyonları ağız mikrobiyotasından kaynaklanan diş çürüğü, periodontal hastalıklar, endodontal infeksiyonlar, ağız mukozası ile ilgili infeksiyonlardır. Biyofilme dayalı çok faktörlü ve karışık anaerop infeksiyonlardır. Ekolojik kayma ya da mikrobiyal kayma hastalığı ya da disbiyoz (disbakteri-

yoz) olarak tanımlanan hastalıklardır. Günümüzde sistemik sağlıkla ilişkili kronik inflamatuvar hastalık olarak tanımlanmaktadır. 2011 yılı Birleşmiş Milletler Kronik Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar (NCDs) Bildirgesi'ne eklenmiştir[16].

Ağız ve sistemik hastalık arasındaki ilişkiyi açıklamak için 15 aterosklerozlu ve 15 kontrol grubu hastadan alınan ağız, barsak ve aterom plak örneklerinin 454 pirosekanslama çalışmasında ağız ve ateorom plakları arasında *Veillonella, Streptococcus* ve *Propionibacterium* cinslerinden OTU'lar aynı soydan bulunmuş; ayrıca *Fusobacterium* bolluğu, kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleriyle pozitif olarak uyumlu çıkmıştır[15]. Ağız ve gastrointestinal (mide ve pankreas) kanserlerinin etiyolojisinde ağız mikrobiyomunun rol oynadığı konusunda kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır[2]. Böyle bir ilişki saptanırsa kanser riskinin noninvazif olarak ağız bakteri profili ile tanımlanabilmesi, kanserin bilinen risk faktörlerine ek gösterge olarak iş görebilmesi ve mikrobiyal profilaksi ile önlenmesi söz konusu olabilecektir.

Sonuç

Ağız mikrobiyomunun rolünü anlamamızın en önemli tarafı, salt ağız hastalıklarının başlangıç ve ilerlemesinden sorumlu olması değil özellikle ağız ve sistemik sağlığın sürmesinde anahtar rol oynamasıdır. Sağlığın derinlemesine tanımında *mikrobiyomik*, erken ya da geri dönüşebilir bir evrede hastalıkların tanı ve tedavisi-kişisel tıp / kişisel diş hekimliği hizmetinin gelişmesi için çok önemlidir; neredeyse geleceğe bir meydan okumadır. Mikrobiyomik, metagenomik ve klinik araştırma yanında *metabolomik, proteomik* ve *transkriptomik* ile birlikte etkileşimler arası karmaşık bağlantılar (*interaktom*) çözümlenebilecektir. Böylece ağız mikrobiyomunun mekansal, zamansal ve fonksiyonel haritaları geliştirilmeye başlanmıştır[12]. Tıpta uzmanlıkların nefroloji, kardiyoloji, hepatoloji gibi organa dayalı olmasından yola çıkarak mikrobiyomun bir organ olarak değerlendirilebileceği ve *mikrobiyomoloji*'nin de yeni bir uzmanlık dalı olarak düşünülebileceği ileri sürülmektedir[4]. Bu doğrultuda diş hekimliği için de ağız *mikrobiyomoloji* yeni bir uzmanlık dalı olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity, *J Clin Microbiol* 2005;43(11):5721-32. http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005 PMid:16272510 PMCid:PMC1287824
2. Ahn J, Chen CY, Hayes RB. Oral microbiome and oral and gastrointestinal cancer risk, *Cancer Causes Control* 2012;23(3):399-404. http://dx.doi.org/10.1007/s10552-011-9892-7 PMid:22271008
3. Ahn J, Yang L, Paster BJ et al. Oral microbiome profiles: 16S rRNA pyrosequencing and microarray assay comparison, *PLoS One* 2011;6(7):e22788-e95. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0022788
4. Baquero F, Nombela C. The microbiome as a human organ, *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl 4):2-4. http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03916.x PMid:22647038
5. Bik EM, Long CD, Armitage GC et al. Bacterial diversity in the oral cavity of ten healthy individuals, *ISMEJ* 2010;4(8):962-74. http://dx.doi.org/10.1038/ismej.2010.30
6. Chen T, Dewhirst FE, Izard J et al. The Human Oral Microbiome Database, http://www.HOMD.org. (güncelleme tarihi 2013-05-30).
7. Crielaard W, Zaura E, Schuller AA, Huse SM, Montijin RC, Keijser BJ. Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health, *BMC Medical Genomics* 2011;4:22 (http://www.biomedcentral.com/1755-8794/4/22) http://dx.doi.org/10.1186/1755-8794-4-22 PMid:21371338 PMCid:PMC3058002
8. Dethlefsen L, Eckburg PB, Bik EM, Relman DA. Assembly of the human intestinal microbiota, *Trends Ecol Evol* 2006;21(9):517-23. http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2006.06.013 PMid:16820245
9. Dewhirst FE, Chen T, Izard J et al. The human oral microbiome, *J Bacteriol* 2010;192(19):5002-17. http://dx.doi.org/10.1128/JB.00542-10 PMid:20656903 PMCid:PMC2944498
10. Diaz PI, Dupuy AK, Abusleme L et al. Using high throughput sequencing to explore the biodiversity in oral bacterial communities, *Mol Oral Microbiol* 2012;27(3):182-201. http://dx.doi.org/10.1111/j.2041-1014.2012.00642.x PMid:22520388
11. Griffen AL, Beall CJ, Firestone ND et al. CORE: a

phylogenetically-curated 16S rDNA database of the core oral microbiome, *PLoS One* 2011;6(4):e19051. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0019051 PMid:21544197 PMCid:PMC3081323
12. Jenkinson HF. Beyond the oral microbiome, *Environ Microbiol* 2011;13(12):3077-87. http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02573.x PMid:21906224
13. Kanasi E, Dewhirst FE, Chalmers NI et al. Clonal analysis of the microbiota of severe early childhood caries, *Caries Res* 2010;44(5):485-97. http://dx.doi.org/10.1159/000320158 PMid:20861633 PMCid:PMC2975730
14. Keijser BJ, Zaura E, Huse SM et al. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults, *J Dent Res* 2008;87(11):1016-20. http://dx.doi.org/10.1177/154405910808701104 PMid:18946007
15. Koren O, Spor A, Felin J, Fak F et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(Suppl 1):4592-8. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1011383107 PMid:20937873 PMCid:PMC3063583
16. Külekçi G. Sindemi nedir ? Kronik inflamatuvar hastalıklara yeni yaklaşım, *ANKEM Derg* 2012;26(Ek 2):374-9.
17. Lazarevic V, Whiteson K, Hernandez D, Francois P, Schrenzel J. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota, *BMC Genomics* 2010;11:523. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-11-523 PMid:20920195 PMCid:PMC2997015
18. Lederberg J, McCray A. 'Ome sweet' omics - a genealogical treasury of words, *Scientist* 2001;15:8-10.
19. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites, *Periodontol* 2000, 2006;42:80-7. http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00174.x PMid:16930307
20. Rajendhran J, Gunasekaran P. Human, microbiomics, *Indian J Microbiol* 2010;50:109-12
21. Santos AL, Siqueira JF Jr, Roças IN, Jesus EC, Rosado AS, Tiedje JM. Comparing the bacterial diversity of acute and chronic dental root canal ınfections, *PLoS ONE* 2011;6(11):e28088. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0028088
22. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract, *Annu Rev Microbiol* 1977;31:107-33. http://dx.doi.org/10.1146/annurev.mi.31.100177.000543 PMid:334036
23. Siqueira JF Jr., Fouad AF, Roças IN. Pyrosequencing as a tool for better understanding of human microbiomes, *J Oral Microbiol* 2012;4. http://dx.doi.org/10.3402/jom.v4i0.10743
24. Sonnenburg JL, Fischbach MA. Community health care: therapeutic opportunities in the human microbiome, *Sci Transl Med* 2011;3:1-5. http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3001626 PMid:21490274 PMCid:PMC3287364
25. Stahringer SS, Clemente JC, Corley RP et al. Nurture trumps nature in a longitudinal survey of salivary bacterial communities in twins from early adolescence to early adulthood, *Genome Res* 2012;22(11):2146-52. doi:10.1101/gr.140608.112.Epub 2012 Oct12.
26. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research, *Nature* 2012;486(7402):215-21. http://dx.doi.org/10.1038/nature11209 PMid:22699610 PMCid:PMC3377744
27. The NIH HMP Working Group, Peterson J, Garges S et al. The NIH Human Microbiome Project, *Genome Res* 2009;19(12):2317-23. http://dx.doi.org/10.1101/gr.096651.109 PMid:19819907 PMCid:PMC2792171
28. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project, *Nature* 2007;449(7164):804-10. http://dx.doi.org/10.1038/nature06244
29. Wade WG. The oral microbiome in health and disease, *Pharmacol Res* 2013;69(1):137-43. http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006 PMid:23201354
30. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine, *Oral Disease* 2012;18(2):109-20. http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01851.x PMid:21902769
31. Zaura E, Keijser BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities, *BMC Microbiol* 2009;9:259. doi:10.1186/1471-2180-9-259. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-9-259