

T.C
ADIIYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**DIABETES MELLİTUS HASTALARINA AİT DIŞKI
KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN BAKTERİ TÜRLERİNİN NORMAL
DIŞKI KÜLTÜRLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

ARİF İRFAN TURAN

Danışman Öğretim Üyesi:
Dr. Öğr. Üyesi Sadık AKGÜN

ADIIYAMAN - 2021

TEŞEKKÜR

Çalışma süresi boyunca her konuda desteğini, anlayışını ve emeklerini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Sadık Akgün'e, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca akademik katkılarını esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülnur Tarhan'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresinde, çalışma sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve yorumlanmasında bilgi ve katkılarını sunan ağabeyim Osman Turan'a, yabancı dil konusunda yardımlarını eksik etmeyen Özel Eğitim Uzman'ı Musap Yalçın'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her evresinde maddi ve manevi hertürlü desteğini aldığım eşim Ayşegül Turan'a, birbirinden değerli çalışma arkadaşlarıma ve sevgileri ve destekleriyle her zaman yanımda olan değerli aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Gastrointestinal sistemde bulunan mikroorganizmalar insan vücudunda besinlerin sindirimine yardımcı olmakla birlikte, metabolizmaya da katkıda bulunurlar. Bu mikroorganizmalar, insan hücrelerine göre sayıca yaklaşık 10 kat daha fazla bulunup, adeta vücudun bir organı gibi çalışmaktadırlar. Ayrıca gastrointestinal sistem ekosistemi mikrobiyotasının belli bir dengesi olup, bu denge çeşitli sebeplerle bozulabilir. Bu bozulma diyabet, obezite, parkinson, hipertansiyon ve gastrointestinal hastalıklar gibi çeşitli rahatsızlıklara yol açabilmektedir. Bu çalışmada, diyabetik hastaların bağırsak mikrobiyotasındaki farklılaşmanın diyabetik olmayan bireylere göre durumunun karşılaştırılıp, araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metod: Çalışmaya diyabeti olmayan 137 birey ile diyabet tanısı almış 100 birey alındı. Diyabetik olan ve olmayan bireylerden alınan dışkı örnekleri ile bakteriyolojik kültür identifikasyon işlemleri yapıldı ve üreyen bakteri kolonileri konvansiyonel yöntemler ve otomatize tanımlama sistemi kullanılarak identifiye edildi. Ayrıca dışkı örnekleri gönderilen hastalardan gaitada gizli kan testi ve eşzamanlı olarak alınan serum örneklerinde glukoz ve HbA1C değerleri incelemek amacı ile istatistiksel analizleri yapılarak değerlendirilmeye alındı.

Bulgular: Yapılan değerlendirmeler sonucunda diyabetik hastalarda, diyabeti olmayanlara göre *E. coli* gibi gram negatif ve bütirat üretmeyen bakterilerin yoğunluğunun daha fazla ($p= 0,01$), sayısal olarak bakteri çeşitliliğinin daha az, gizli kan pozitiflik durumunun daha fazla ($p= 0,01$) ve gastrointestinal rahatsızlıklara (%61) daha duyarlı oldukları tespit edildi.

Sonuç: Bu sonuçlar, metabolik hastalık riski ve etyopatogenezinin belirlenmesinde mikrobiyotanın bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Gastrointestinal flora, *Escherichia coli*, Diyabetes Mellitus, bakteriyolojik kültür identifikasyonu, mikrobiota

ABSTRACT

Aim: Microorganisms in the gastrointestinal tract help the digestion of food in the human body, as well as contribute to metabolism. These microorganisms are approximately 10 times more than human cells and work almost like an organ of the body. In addition, there is a certain balance of the microbiota of the gastrointestinal ecosystem and this balance can be deteriorated for various reasons. This deterioration can lead to various diseases such as diabetes, obesity, Parkinson's, hypertension, and gastrointestinal diseases.

Material and method: The purpose of this study is to compare and investigate the differentiation of the intestinal microbiota of diabetic patients compared to non-diabetic individuals. The samples of the study were 100 individuals diagnosed with diabetes and 137 individuals without diabetes. Bacteriological culture identification procedures were performed with stool samples taken from individuals with and without diabetes, and bacterial colonies that grew were identified by conventional methods. In addition, the stool occult blood test, and the glucose and HbA1C values in serum samples taken simultaneously from the patients were evaluated by statistical analysis for the purpose of examination.

Results: As a result of the evaluations, it was determined that the density of gram-negative and non-butyrate-producing bacteria such as *E. coli* was higher in diabetic patients compared to non-diabetic patients ($p= 0.01$). While bacterial diversity was less in diabetic patients, their occult blood positivity was much higher ($p= 0.01$). Also, they were more sensitive to gastrointestinal disturbances (61%).

Conclusion: These results suggested that microbiota can be used to determine metabolic disease risk and etiopathogenesis.

Key words: Gastrointestinal flora, *Escherichia coli*, Diabetes Mellitus, bacteriological culture identification, microbiota

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Gastrointestinal Sistem	3
2.2. Diabetes Mellitus	5
2.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus	5
2.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus	5
2.2.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus	6
2.3. Gastrointestinal Flora	6
2.4. Gastrointestinal Floranın Şubeleri	6
2.4.1. Bacteroidetes	6
2.4.2. Prevotella.....	6
2.4.3. Firmicutes.....	7
2.4.4. Lactobacillus	7
2.4.5. Clostridium	7
2.4.6. Actinobacteria.....	7
2.4.7. Bifidobacterium	7
2.5. Gastrointestinal Floranın Fonksiyonları.....	7
2.6. Bağırsak Mikrobiyotası ve Hastalıklar	8
2.6.1. İnflamatuar Barsak Hastalığı, İrritabl Barsak Sendromu ve Antibiyotik İlişkili İshaller	8

2.6.2. Obezite	8
2.6.3. Diabetes mellitus	8
2.6.4. Kanser	9
2.6.5. Şizofreni, Anksiyete, Depresyon	10
2.6.6. Parkinson hastalığı	10
2.7. Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri	11
2.7.1. Direkt Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri	11
2.7.2. İndirekt Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri	13
2.7.3. Moleküler Tanı Yöntemleri	14
3. MATERYAL METOT	15
3.1. Serumda Glukoz ölçümü	15
3.2. HbA1C Ölçümü	15
3.3. Gaitada Gizli Kan Ölçümü	15
3.4. Kültür	16
3.4.1. Gram Boyama	16
3.4.2. Katalaz Testi	17
3.4.3 Oksidaz Testi	17
3.4.5. Koagülaz Testi	18
3.4.6. Germ Tüp Testi	18
3.5. Tam Otomatik Kültür Antibiyogram	19
3.6. İstatistiksel Analiz	19
4. BULGULAR	20
TARTIŞMA	28
SONUÇ VE ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR	35

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

DM:	Diabetes mellitus
GGK:	Gaitada gizli kan
GİS:	Gastrointestinal sistem
GN:	Gram negatif
GP:	Gram pozitif
HbA1C:	Hemoglobin A1C
KRK:	Kolorektal kanser
KZYA:	Kısa zincirli yağ asitleri
Non DM:	Diabetes mellitus olmayan
T1DM:	Tip 1 diyabet
T2DM:	Tip 2 diyabet
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
IgM:	Immunglobulin M
IgG:	Immunglobulin G

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 a: GGK Pozitif hasta testinin görünümü	16
Şekil 1 b: GGK Negatif hasta testinin görünümü	16
Şekil 2 a: Besiyerinde üremiş mikroorganizma	17
Şekil 2 b: Katalaz enziminin eklenmesi sonucu oluşan gaz kabarcıkları.....	17
Şekil 3: Oksidaz testi sonucu oluşan renk değişimi	18
Şekil 4: Mayalarda germ tüp oluşumunun görünümü.....	19



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Yaş ve cinsiyete göre diyabetik olan ve olmayan hastaların dağılımı.....	20
Tablo 2: Cinsiyet diyabet arasında ki korelasyon için pearson ki kare analizi	20
Tablo 3: Yaş diyabet arasında pearson ki kare analizi.....	21
Tablo 4: Yaş ve cinsiyete göre diyabetik olan ve olmayan hastalarda GGK dağılımı ..	21
Tablo 5 : GGK ile diyabet arasında pearson ki kare analizi	22
Tablo 6 : DM hastalarının glukoz değerlerine göre dağılımı.....	22
Tablo 7: DM hastalarının HbA1C değerlerine göre dağılımı	22
Tablo 8: Hastalarda üreyen mikroorganizmaların dağılımı	23
Tablo 9: E. coli ile diyabet arasındaki korelasyon için pearson ki-kare analizi	24
Tablo 10: Hastalarda üreyen dominant mikroorganizma türüne göre hastaların dağılımı	25
Tablo 11: Üreyen mikroorganizmaların gram boyama yöntemine göre değerlendirilmesi	26
Tablo 12: Diyabet ile gram negatiflik arasındaki korelasyon için pearson ki-kare analizi	26
Tablo 13: Hastaların cinsiyetine göre aynı zamanda bulunan diğer hastalıkların dağılımı	27

1. GİRİŞ

Vücudun bütün hücreleri temel görevlerini yerine getirmek amacı ile besinlere ihtiyaç duyarlar. Bu ihtiyaç; karbonhidratlar, yağlar, proteinler, vitaminler, mineraller ve selüloz liflerin vücuda alınmasıyla karşılanır. Besinlerin vücuda alınması gastrointestinal sistem (GİS) vasıtası ile gerçekleşir (1, 2).

GİS'in, aldığı besinleri moleküler yapılarına ayrıştırması, sindirim sonucu üretilen küçük molekülleri kan dolaşımına vermesi, sindirime uğramamış besinleri ve diğer atık ürünleri vücuttan uzaklaştırmak gibi temel görevleri vardır. Besinler alındıktan sonra sindirim kanalında; ilerleme, sindirim, emilim ve boşaltım gibi işlemlerden geçerler. Ayrıca bu gıdalar, besinlerin sindirim kanalından uzaklaştırılmalarına yardım eden salgılar ve enzimlerle de karşılaşılırlar.

Sindirim, çiğneme ile başlar. Bu aşamada yiyecekler küçük parçalara ayrılır. Daha sonra bu gıdalar GİS boyunca ilerler ve bu süreçte sindirim enzimleri ile karşılaşılır (1). Sindirim vasıtası ile besinler emilime hazır hale gelinceye kadar parçalanırlar. Emilen besinler, enerji kaynağı olarak kullanılır. Bu enerji kaynağı ise vücut bileşenlerinin sentezi, yeni hücreler, hormonlar, enzimlerin üretimi ve atık maddelerin ortadan kaldırılması gibi işlemler için önemlidir (2-4).

Diabetes Mellitus (DM), genetik ve çevresel faktörlerin birbirleriyle ilişkisi sonucu meydana gelir. Tip 1 diyabet (T1DM), pankreasta insülin yapımı ve sekresyonundan sorumlu beta hücrelerinin zarar görmesi sonucu ortaya çıkar. Tip 2 diyabet (T2DM) ise karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi periferik dokularda insülinin metabolik etkilerine karşı bir direnç oluşumu ile birlikte pankreas beta hücre harabiyeti sonucu oluşur. Son yıllarda yapılan çalışmaların sonuçları, gerek T1DM gerekse de T2DM'nin gelişimine sebep olan çevresel faktörlerden birinde de mikrobiyota olabileceğini tespit etmektedir (5). Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler ile oluşan disbiyoz, bağırsak geçirgenliğinde artış, immün düzenleyici mekanizmalarda harabiyet ile pankreas adacıklarındaki beta hücrelerinin tahribatı ile sonuçlanan bir otoimmün sürece sebep olmaktadır. Ayrıca obez olmaya neden olan diyetler ile tetiklenen doymuş yağlar ve disbiyoz, bağırsak geçirgenliğinde artış ve inflamatuvar cevap T2DM oluşumuna yol açabilir (5, 6). Bağırsak mikrobiyotası ile immünite ve metabolizma etkileşimi ve bunlarla birlikte diyabet oluşma riski; aralarında yaş, diyet, ilaçlar, doğum şekli, fiziksel aktivite ve sigara gibi çok sayıda çevresel faktörden de etkilenmektedir (6).

Küresel kanser vakalarında, kolorektal kanser (KRK) üçüncü sırada yer almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tam olarak mikrobiyotada bulunan mikroorganizmalar

düzeyinde bir tanımlama yapamamasına karşın, GİS florasının KKK gelişiminde önemli bir faktör olduğunu belirtmektedir. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, Gaitada Gizli Kan Testi'nin (GGK) KKK'in tespiti ve teşhisinde oldukça güvenilir sonuçlara ulaşılabileceği ve bu testin duyarlılığının %30-92, spesifitesinin özgüllüğünün %90-99 oranında olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan diğer ise çalışmalarda KKK insidansı ve özellikle plazma glukoz ve glikozile hemoglobin A1C (HbA1C) arasındaki ilişki araştırılmıştır. 1978 ve 1987 yılları arasında İtalya'da 21.311 erkek ve 15.991 kadın ile yapılan "Risk faktörleri ve Yaşam Beklentisi" çalışmasında, dokuz epidemiyolojik çalışmanın birleştirilmiş verilerine göre yüksek plazma glukoz düzeyleri ile KKK arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (7).

GİS flora; bağırsaklardan mideye, mideden sinir sistemine kadar çok geniş bir bölgeyi olumlu ya da olumsuz her yönden etkilemektedir. Bu durumu yapılan ve yapılmakta olan bir çok bilimsel çalışma desteklemektedir. Dolayısıyla GİS'in önemi günümüzde daha iyi anlaşılıyor olmakta ve bununla ilgili daha fazla analizler, çalışmalar ve araştırmalar yapılmaktadır. Biz de bu çalışma ile mevcut araştırmaların bir parçası olmayı ve hasta dışkı örneklerinden, besiyerlerinde kültürünü yapıp DM hastalarına ait dışkı kültürlerinde üreyen mikroorganizma türlerinin diyabetik olmayan (Non DM) dışkı kültürleri ile karşılaştırıp analiz etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gastrointestinal Sistem

GİS, sindirim borusu ve aksesuar organları olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Vücutta kıvrılarak uzanan sindirim borusu yaklaşık 9 m uzunluğunda olup, ağız, farinks, özofagus, mide, ince bağırsaklar, kalın bağırsaklar, rektum ve anüsten meydana gelir. Diğer sindirime yardımcı olan organlar ise; pankreas, karaciğer, safra kesesi ile birlikte dişler, dil ve tükürük bezlerinden meydana gelir (1, 8-12).

Sindirim borusunun duvarları dört tabakadan oluşur. Bunlar dışarıdan içeriye doğru seroza, kas tabakası, submukoza ve mukozadır. Sindirim borusunda meydana gelen hareketler, hem sindirim ve absorpsiyon için lazım olan kanal içinde gıdaları hareket ettirir hem de bağırsak içeriğinin birbiriyle karışmasını sağlar. Gastrointestinal kanalın temel ilerletici hareketi peristaltizmdir. Bu hareketler için temel uyarı bağırsakların gerilmesidir. Bağırsak duvarının gerilmesine neden olan etken gıdaların bağırsak içinde bir yerde toplanmasıdır. Bağırsak epitelinin fiziksel veya kimyasal irritasyonu da peristaltik hareketi başlatır. Çeşitli salgı ve enzimler sindirim için gereklidir. Bunlar sindirim borusu duvarlarında ya da dışındadırlar. Bezler, duktuslar ile kanal içine açılmaktadır. Aminoasitler, mineral tuzlar, yağ ve vitaminler gibi bileşenler sindirim sonucunda açığa çıkmaktadır (2-4, 6-8, 13).

Toraksik ve abdominal aortadan köken alan arterler GİS'e kan getirir. Mide ve duodenuma gelen kan çölyak arterlerden, ince ve kalın bağırsakların bir kısmına hepatik ve superior mezenterik arterden, kalın bağırsakların distal kısmına ve anüse inferior mezenterik arterden sağlanır. GİS'in kan damarları, splenik dolaşımın bir bölümüdür. Bu dolaşımı, dalak, pankreas, bağırsak ve karaciğerdeki kan akımı oluşturur (1-3, 6, 13).

Çiğneme; besinlerin tükürük salgısıyla karıştırılarak, hem öğütülmesi hem de vücut ısısına getirmek için yapılan ve sindirim olayının oluşması için mideye gönderilmeye hazır hale getirilmiş bir işlemdir. Ağız içine alınan besinler tükürük bezlerini uyarır ve tükürük salgılanmasında önemli bir etkide bulunurlar. Bu bezlerde uyarıcı etki sonrası salgılarını bir kanal ile ağız boşluğuna yaparlar(14).

Mide; sindirim kanalının en geniş bölümü olup, diaframın altında ve karın boşluğunun sol üst kısmın yer alan bir sindirim organıdır. Midenin temelde 4 fonksiyonu vardır. Bunlar; besinleri depolamak, öğütmek, kimüsa dönüştürmek ve sindirimi başlatacak enzimleri salgılamaktır (15).

Kimüs oluşumu mide sıvısı vasıtasıyla meydana gelir. Bu sıvının bileşiminin büyük bir oranı sudan (%98) meydana gelmektedir. Diğer bileşimlerini ise organik ve inorganik

maddeler oluşturmaktadır. Ayrıca mide sıvısı bir günde 2 ya da 3 L miktarında salgılanıp, pH'ı 1.1-1.8 arasında değişmektedir (16).

Besinlerin mideden ince bağırsağa geçişi alınan gıdaların fiziksel ve kimyasal bileşimiyle uyumlu olup yaklaşık olarak 2.5 saatte tamamlanmaktadır. Bu geçiş peristaltik hareketler vasıtası ile olmakta, proteinler yağlara göre mideden daha hızlı geçerken, sıvılarda katılara göre ince bağırsağa daha hızlı bir geçiş yapmaktadırlar.

İnce bağırsaklar, GİS'in en uzun ve en önemli bölümü olup duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölümden meydana gelmektedir. İnce bağırsağın en önemli fonksiyonu besinlerin sindirimi ile birlikte emilimlerinin de sağlamaktır. Bu emilim olayı villus denilen çıkıntılar sayesinde gerçekleşmektedir (15, 17).

Normal şartlarda ince bağırsak, hem sindirimi gerçekleştirmek hem de bağırsak duvarlarının zarar görmemesi için günde 2 ya da 3 L kadar içerisinde sindirim enzimlerini de barındıran bağırsak sıvısı üretip, salgılar. İnce bağırsakta, sindirilen ve emilimi tamamlanan besinler dışında kalan posa maddelerinin kalın bağırsağa ulaşması için geçmesi gereken süre, yaklaşık olarak sekiz saattir (18).

Kalın bağırsak, ince bağırsağın etrafını çevreleyen, karın boşluğuna yerleşmiş olarak bulunan, yaklaşık olarak 1.5–2.0 m uzunluğunda ve 7 cm çapında olan, ileumdan başlayıp anüsle biten ve GİS'in son bölümünü oluşturan bir sindirim sistemi organıdır. Kalın bağırsağın 3 kısmı bulunmaktadır. Bunlar; çekum, rektum ve kalın bağırsağın en önemli kısmı olan kolondur. Bu kısımlarda kimyasal sindirim gibi olaylar gerçekleşmemektedir (19).

Besinlerin, ince bağırsak tarafından absorbe edilip, kana karışmaları için yeterince öğütülmeleri gerekmektedir. Absorbe edilen besinlerden arta kalanlar (%20) kalın bağırsağa geçmektedir. Kalın bağırsak, sindirim sistemindeki fermantasyon olaylarının olduğu yerdir. Buraya gelen besinler GİS florası tarafından fermente edilirler. Bu fermantasyon sonucunda kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), amonyak, metan gazları, H₂, CO₂, fenoller, indoller ve aminler oluşmaktadır (15, 20, 21).

GİS içerisinde olmamasına rağmen sindirim işlemlerine yardım eden organlarda mevcuttur. Bunlar; karaciğer ve pankreas olup, sindirim için gerekli olan salgıları üretirler. Örneğin; yağların sindirimi için gerekli olan safra, karaciğer tarafından üretilmekte ve salgılanmaktadır (22). Pankreas ise içerisinde sindirim enzimi barındıran salgılarını kanallar vasıtasıyla ince bağırsağa salgılayıp, mideden ince bağırsağa gelen ve asit özelliğinde olan kimusun da nötrleşmesini sağlamaktadır (23).

Normal bir insan ömrü süresince GİS'den tonlarca gıda geçmektedir. GİS bu gıdaları gerek sindirerek, gerek absorbe ederek gerekse de fermente ederek insan vücuduna katkı

sağlamaktadır. Buna karşın GİS'e dışarıdan zararlı olabilecek mantar, virüs, bakteri gibi patojenlerde girebilmektedir. GİS ayrıca içerisindeki flora ile bu yabancı ve zararlı olabilecek patojenlere karşı sürekli bir mücadele halindedir (20).

2.2. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus, üretilen insülinin yetersiz olması ya da fonksiyonlarının ve salınımının gereği gibi aktivite göstermemesi durumunda ortaya çıkan metabolik bir rahatsızlıktır. Bu metabolik probleme genetik unsurlar sebep olabileceği gibi çevresel etkenler de (obezite, sigara, alkol, hareketsizlik) sebep olabilir (24).

Diabetes Mellitus, Tip 1 DM, Tip 2DM, gestasyonel DM ve diğer spesifik DM tipleri olmak üzere 4 kısma ayrılır. Bu sınıflandırmayı yapabilmek ve diabet tanısı koyabilmek için kan plazmasındaki glukoz ve HbA1C değerlerinin önemi büyüktür. DM türlerinin en yaygın olanı T2DM'dir (25).

2.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Mutlak insülin eksikliğine neden olan beta hücrelerinde problem vardır. Bu probleme çoğunlukla otoimmünite sebep olur. Çoğunlukla 30 yaş altında başlayıp hiperglisemi semptomları ani başlar. Poliüri, polidipsi, çabuk yorulma, halsizlik, ağız kuruluğu, şiddetli kilo kaybı ve noktüri mevcuttur. Hastalığın belirti verdiği yaşa ve hastalığın evresine göre şikâyetler farklılık gösterebilir. Erken dönemlerde noktüri, poliüri, polidipsi, yorgunluk, ağız kuruluğu gibi, semptomlar görülebilirken, ilerlemiş evredeki tanı ve tedavisi gecikmiş hastalarda ketoasidoz bulguları ile ilk defa müracaat edilebilir. Diyabetik ketoasidoza yatkınlık vardır. T1DM, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu oluşturmaktadır (24, 25).

2.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Pankreas tarafından salınan insülinlerin temel görevi, mevcut kan şekerinin hücre içine alınmasını sağlamaktır. Salınan bu insüline karşı oluşmuş dirençten dolayı kan glukozunun hücre içine alınamaması ya da insülinin görevini tam olarak yerine getirememesi nedeni ile T2DM oluşumu gözlenmektedir. Bu metabolik rahatsızlık sonucunda kan glukozu hücre içine alınamadığından glukoz enerji üretimi için kullanılamamaktadır. Çoğunlukla 30 yaşından sonra başlar. Obezite görülme sıklığındaki artışa paralel olarak çocuk ve ergenlik çağında görülme sıklığı da artmaktadır. Genetik yatkınlık ile birlikte yaşam tarzının da etkisi vardır. Hastalar çoğunlukla obez veya fazla kiloludur. Başlangıçta diyabetik ketoasidoza yatkınlık yoktur, fakat ilerleyen dönemde beta hücre rezervinin azalmasına bağlı olarak görülme olasılığı artar. Genellikle sessiz başlangıçlıdır ve uzun süre semptom göstermeyebilir. Bundan

dolayı risk altındaki grubun taranması önemlidir. Buna karşın bazı hastalar bulanık görme, el-ayak uyuşması, karıncalanma, ağrı, iyileşmeyen yaralar ve tekrarlayan mantar enfeksiyonları gibi şikayetlerle de müracaat edebilir. Hastalık bazen kronik komplikasyonlarının etyolojik sebepleri araştırılırken de tespit edilebilir. Bu metabolik rahatsızlık, tüm diyabet hastalarının %90-95'ini oluşturmaktadır (25, 26).

2.2.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel diyabet, çoğunlukla ilk defa gebelik durumunda saptanan farklı değerlerde glukoz intoleransı olarak tarif edilmektedir. Gebeliğe bağlı gelişen fizyolojik insülin direncinin çok fazla görülmesi olarak da açıklanabilir. Genellikle asemptomatik seyreder ve çoğunlukla doğum sonrası düzelir. Fakat ilerleyen gebeliklerde tekrarlayabilir ve hastalarda ilerleyen yaşlarda T2DM gelişebilir. Gebelik durumunda anne ve fetus sağlığında çeşitli riskler barındırdığından takibi ve taranması önemlidir (25, 26).

2.3. Gastrointestinal Flora

Mikrobiyom, vücut içerisindeki bütün mikroorganizmalar ve bunların genetik materyalini içerisine alan bir kavramdır. Mikrobiyomdan ziyade daha lokal olan ve vücudun belirli bölgelerinde yer alan mikroorganizma topluluğuna ise mikrobiyota denilmektedir (27).

Bağırsak mikrobiyotasında milyonlarca mikroorganizma yaşamakta bunların sayısı insan hücrelerinden neredeyse 10 kat daha fazladır. Bu flora da bakteriler, arkeler, mantarlar ve virüslerden meydana gelip, yoğunluk bakteri hakimiyeti mevcuttur. Ayrıca bu mikroorganizmalar vücudun belli yerlerinde mevcut olup en fazla GİS'de bulunmaktadır. Yeni doğanlarda ise bakteri florası 1 yaşına kadar sterildir ancak 1 yaşından sonra yetişkin bağırsak florasına benzer hale gelmektedir (28-30).

2.4. Gastrointestinal Floranın Şubeleri

2.4.1. *Bacteroidetes*

Gram negatif, spor oluşturmayan, çubuk şeklinde, hareketsiz, anaerobik ya da aerobik olabilen ve insan GİS'nde, sularda ve topraklarda yaşayabilen bakterilerdir. *Bacteroidetes*ler 3 sınıftan meydana gelmektedirler. Bunlar; *Bacteroides*, *Flovobacteria* ve *Sphingobacteria* olup, en yaygın olarak bulunan sınıf *Flovobacterialardır*. Bu bakterilerden *Bacteroides*, insanlarda enfeksiyona sebep olabilen patojenik bir bakteridir (31).

2.4.2. *Prevotella*

Gram negatif, anaerobik, kısa-basil şeklinde, ağız mukozasında lokalize olmuş ve hareketsiz bakterilerdir. Hücre kültüründe, melanin ürettiklerinden dolayı siyah renkli görünürler. Birçok türü insanlar için enfeksiyon sebebidir (32).

2.4.3. Firmicutes

Çoğu Gram pozitif olup, endospor oluşturabilen, yuvarlak ya da basil şeklinde olan bakterilerdir. Genel olarak bağırsak mikrobiyomunu bu bakteriler oluşturur. Bazı türleri insanlar için patojenik olabilir (33).

2.4.4. Lactobacillus

Gram pozitif, çubuk şeklinde, hareketsiz, fakültatif anaerobik ve spor oluşturmeyan bakterilerdir. En önemli özellikleri karbonhidratları laktik aside dönüştürebilmeleridir. İnsanlarda ağız ve GİS mikrobiyotasında bulunup, süt ve süt ürünlerinde yaygındırlar. İnsanlar için nadir de olsa patojendirler (34).

2.4.5. Clostridium

Gram pozitif, anaerobik, spor oluşturabilen, çubuk şeklinde ve hareket kabiliyeti olan bakterilerdir. Genel olarak toprakta ve memelilerin GİS'nde yaşamaktadırlar. İnsanlarda botulizm, gazlı gangren, tetanoz ve gastroenteritis gibi hastalıklara sebep olmaktadır (32).

2.4.6. Actinobacteria

Çoğu gram pozitif olup, gram negatif olan türleride vardır. Ayrıca çoğu aerobik, çubuk şeklinde ve çok geniş olan bir şubedir. Genel olarak toprakta ve sulu yerlerde yaşarlar. Ölmüş organizmaları, organik kısımlarına ayrıştırıp, karbon döngüsüne katkıda bulunurlar. Çok az bir kısmı patojeniktir (32).

2.4.7. Bifidobacterium

Gram pozitif, spor oluşturmeyan, anaerobik ve çubuk şeklinde olan bakterilerdir. Bağırsaklarda bulunan şekeri fermente edip, patojenik bakterilerin gelişimini engellerler. Bu nedenle probiyotik olarak bilinirler. Süt çocuklarının bağırsak florasına genel anlamda bu bakteriler hakimdir (32).

2.5. Gastrointestinal Floranın Fonksiyonları

Genel olarak GİS florasının, metabolik, yapısal ve koruyucu olma gibi fonksiyonları vardır. Bağırsak florası, organizma için oldukça önemli olup organizmanın düzenli bir şekilde çalışmasına katkıda bulunurlar. Bu flora, alınan gıdaların verimli kalorisini sağlamaktan enzimatik tepkimelere, bağışıklık sistemi gelişiminden toksik maddelerden arınmaya kadar bir çok önemli fonksiyonu yerine getirir (35, 36).

Kalın bağırsağa gelene kadar sindirime ve emilime uğramamış besinler, burada bulunan bakteriler tarafından enzimler vasıtası ile parçalanırlar ve fermentasyon işlemine dahil edilirler. Bu işlemin sonucunda kısa zincirli yağ asidi, organik asit ve alkol sentezi oluşup karbondioksit, hidrojen ve metan gazlarının salınımı gerçekleşir. Organizmanın enerji ihtiyacının yaklaşık olarak %10'unu kısa zincirli yağ asitleri karşılar. Antimikrobiyal

peptidler ve immünglobulin (Ig) A salgısı, doğal immün bariyer mukusu oluşturmaktadır. Gelişmiş immün sistem ile birlikte mevcut immün mekanizmalar mikrobiyota ile bağırsak epitelinin temas etmesini önler (37).

2.6. Bağırsak Mikrobiyotası ve Hastalıklar

2.6.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı, İrritabl Barsak Sendromu ve Antibiyotik İlişkili İshaller

Bağırsak mikrobiyotasının önemli bir kısmını oluşturan *Firmicutes* ve *Bacterioidetes*lerin inflamatuvar bağırsak hastalarında önemli bir oranda azaldığını, buna karşın *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* gibi bakterilerinde önemli bir oranda arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bu hastaların bağırsak florasının bütirat yoğunluğunda da bir kayıp söz konusudur (38).

Kronik bir GİS problemi olan irratabl bağırsak sendromu hastalığında gut florasının değişimi ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birine göre hastaların bağırsak mikrobiyotasında *E.coli*, *Bifidobakteri* ve *Laktobasilluslar* azalırken, patojen bakteri sayılarında belirli bir artış gözlenmiştir (39).

Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı bireylerin bağırsak florası kompozisyonunu bozarak yararlı bakterilerin sayısını azalatıp, patojen bakterilerin sayısını artırmaktadır. Antibiyotik kullanan bireylerde karın ağrısı ve ishal gibi semptomlar görülmektedir (40).

2.6.2. Obezite

Global bir problem haline gelen obezite, vücudun aşırı yağ biriktirmesi olarak tarif edilmektedir. Obeziteye neden olan birçok genetik ve çevresel şartlar mevcuttur. Epidemiyolojik verilere göre obeziteyi yalnızca genetik ve çevresel şartlara indirgemek sağlıklı sonuç almayı zorlaştırmaktadır. Mikrobiyotanın da obezite gelişiminde etkin rol aldığını son yıllarda yapılan çalışmaların verileri desteklemektedir. Bununla ilgili tek yumurta ikizleriyle ilgili yapılan çalışmalarda obez bireylerin bağırsak florasındaki çeşitliliğin kendisinden daha zayıf olan ikizlerinden daha az olduğu gözlemlenmiştir. *Firmicutes* ve *Bacterioidetes* miktarlarının obez bireylerdeki değişimi, kronik inflamasyon gibi problemlere sebep olabilmektedir (41, 42).

2.6.3. Diabetes mellitus

Genetik ve çevresel etkenlerin birbirleri ile ilişkisi sonucu meydana gelen diyabet, günümüzde toplum sağlığı bakımından en büyük problemlerden biri haline gelmiştir. Dünya genelinde sayıları 500 milyonun üzerinde olan diyabetik hastalar, ülkemizde de 7 milyonun üzerindedir ve yapılan sağlık harcamalarının dörtte biri bu alanda yapılmaktadır. Diyabetik

hastaların büyük bir çoğunluğunu T2DM oluşturmaktadır. Ancak günümüzde T1DM hastalığında hızlı bir artış söz konusudur (43).

T1DM pankreasta bulunan beta hücrelerinin harabiyeti sonucu oluşurken T2DM ise canlı organizma hücrelerinin insülin mekanizmasına karşı geliştirmiş oldukları bir direnç oluşumundan ortaya çıkmaktadır (5).

Son yıllarda yapılan çalışmalar bağırsak disbiyozunun, bağırsak geçirgenliğinde artışa, bağışıklık sistemi mekanizmalarının ve pankreasta bulunan insülin üretiminden sorumlu olan beta hücrelerinin harabiyetine sebep olabileceğini açıklamaktadır. Bu durum, bağırsak dizbiyozu ile diyabet arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Mikrobiyotanın, diyabet ile ilişkisi bakımından yapılmış birçok çalışma vardır. Bu çalışmalardan birinde diyabetik olmayan (Non DM) sıçanlar ile diyabete yatkın sıçanlar kullanılmış ve bu sıçanların bağırsak mikrobiyotası karşılaştırılmıştır. Yapılan bu metagenomik çalışmalar sonucunda diyabetik sıçanların bağırsak mikrobiyotasının diyabetik olmayan sıçanlara göre çeşitlilik açısından daha az olduğu saptanmıştır. Aynı sonuçlara insanlar ile ilgili yapılmış metagenomik çalışmalarda da ulaşılmış ayrıca diyabetik hastalarda *Bacteriodes* ve *Firmicutes* oranlarında bir artış, butirat üreten *Clostridiales* bakterilerinde azalma ve *Proteobakteriler*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus gasseri*'de artış olduğu görülmüştür. Yine diyabetik hastalarda, organizma metabolizması için oldukça önemli olan ve bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen bütiratın diyabetik olmayan hastalara kıyasla daha az olduğu saptanmış, bu hastalara koruyucu bağırsak florası transferi uygulandığında diyabet oluşumunun geciktirebileceği ya da önlenilebileceği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar, mikrobiyotanın diyabet ile ilişkisinin olabileceğini bizlere göstermektedir (5).

2.6.4. Kanser

Günümüzde tümör oluşumunun bir etkeninde virüsler olabileceği düşünülmektedir. Disbiyoz veya mikrobiyal dengenin, viral enfeksiyonların tümör gelişiminde olumlu ya da olumsuz bir faktör olarak ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca tümör oluşumu ve invazyonu vakalarının %15'inin enfeksiyöz etkenler olduğu düşünülmektedir. WHO, yaşamın uzamasına ve dolayısıyla da nüfusun artmasına bağlı olarak önümüzdeki yıllarda kanser insidansının artabileceğini söylemektedir. Küresel kanser vakalarında kolerektal kanser üçüncü sırada yer almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tam olarak mikrobiyotada bulunan mikroorganizmalar düzeyinde bir tanımlama yapamamasına karşın, GİS florasının KRK gelişiminde önemli bir faktör olduğunu belirtmektedir. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, gaitada gizli kan testinin (GGK); KRK'in tespiti ve teşhisinde oldukça güvenilir sonuçlara ulaşılabileceği ve bu testin duyarlılığının %30-92, spesifitesinin özgüllüğünün %90-99

oranında olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda KRK insidansı ve özellikle plazma glukoz ve glikozile hemoglobin A1C (HbA1C) arasındaki ilişki araştırılmıştır. 1978-87 yılları arasında İtalya’da 21.311 erkek ve 15.991 kadın ile yapılan “Risk Faktörleri ve Yaşam Beklentisi” çalışmasında; dokuz epidemiyolojik çalışmanın birleştirilmiş verilerine göre yüksek plazma glukoz düzeyleri ile KRK arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (7, 41, 44).

Disbiyoz olmamış, normal mikrobiyotanın direkt olarak virüsler, dolaylı olarak bakteriler ile etkileşiminin enfeksiyonel rahatsızlıklara yol açabileceği, bağışıklık metabolizmasının gelişimi için mikrobiyotanın mukozal yüzeylerde önemli bir etkiye sahip olabileceği belirtilmektedir (44).

2.6.5. Şizofreni, Anksiyete, Depresyon

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik ve metagenomik araştırmaların sonucunda mental sağlık ve davranışlarla ilgili mikrobiyota profilinde bir değişim olabileceği ihtimali güçlenmiştir (45).

En kapsamlı immun organı olan GİS ve bununla ilgili ürünler nöropatojenik olabilmektedir. Bakteriyel metabolitler, mikrobiyal değişim, nöral yollar, immun uyarılma ve bağırsak hormonal cevap, mikrobiyotanın santral sinir sistemi üzerine etkisinin potansiyel mekanizmalarının en önemlileridir. Bağırsak florasının, şizofreni hastalarında ki etkisinin incelendiği klinik bir araştırmada serolojik immun markerlar bipolar, şizofreni ve kontrol grubu arasında kıyaslanmış ve GİS florasının etkisi nedeni ile dolaşıma girmiş olan GİS florası ürünlerinin şizofrenilerde immun harabiyetine sebep olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikrobiyotanın depresyon ve anksiyete ile ilişkisini inceleyen birçok hayvan deneyi çalışmasından birinde *Campylobacter jejuni*’nin ağız yoluyla subklinik dozlarda verilmesi, sonucu farelerde immun yanıt görülmeksizin anksiyete benzeri davranışların olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte glukozla beslenen farelerin, hipotalamopituitar adrenal eksen yanıtı ve depresyon durumları deneysel olarak yükseltilmiş, yalnızca *Bifidobacterium infantis*’in verilmesi ile eski haline gelebildikleri görülmüştür. Bu etkisinden dolayı *Bifidobacterium infantis* bakterilerine “psikobiyotik” denilmektedir (46).

2.6.6. Parkinson hastalığı

Hareket kabiliyetinin zayıflaması veya kaybolması, titreme ve kas sertleşmesi gibi, semptomlar gösteren parkinson hastalığı, multifokal nörodejeneratif bir hastalıktır. Ayrıca bu hastalık, duyu kaybı, demans ve depresyon gibi semptomları da içerisinde barındırmaktadır.

Mikrobiyotanın, parkinson ile ilişkisini araştırmak için yapılan çalışmalarda bu hastaların, büyük bir çoğunluğunda kabızlık problemi ile karşılaşmış ve dışkı

örneklerinde *Prevotellaceae* bakterilerinin kontrol grubuna göre sayısal olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Bu ve benzeri sonuçlar bu hastalığın yalnızca beyin aktivite problemi olmadığı mikrobiyotasında bu hastalık için önemli bir oranda etken olduğunu göstermektedir. Bir diğer çalışmada ise çalışmada, parkinson hastaları ve kontrol gruplarının fekal numunelerindeki bakteri ve bakteri gruplarının yüzdesi PCR ile belirlenip karşılaştırılmış *Bacteroidetes* ve *Prevotellaceae*'nin parkinson hastalarında önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir (47, 48).

2.7. Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri

Enfeksiyon hastalıklarının tanısında klinik ve laboratuvar incelemeleri yapılmaktadır. Birçok hastalığın tanısında laboratuvar inceleme yöntemleri gerekli iken bazı hastalıkların tanısında ise klinik yöntemler yeterli olmaktadır.

Laboratuvar inceleme yöntemlerinde enfeksiyon etkeninin direkt tanısında mikrobiyolojik tanı yöntemleri kullanılırken, bu etkenlerin tanınmasında dolaylı olarak katkıda bulunan ve direkt tanıyı destekleyen klinik tanı yöntemlerinden de faydalanılmaktadır. Bu klinik tanı yöntemleri; patoloji, CRP, sedimantasyon, biyokimya ve hemotoloji gibi testlerden meydana gelir. Mikrobiyolojik tanı yöntemleri ise direkt, indirekt ve moleküler tanı yöntemleri olmak üzere kendi içinde üç kısma ayrılmaktadır (49).

2.7.1. Direkt Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri

Bu tür yöntemlerde temel amaç patojen mikroorganizma etkeninin sonucu meydana gelen immun cevabı ya da bu etkenin doku ve organlarda bırakmış olduğu hasarı belirlemek değil, direkt olarak patojen mikroorganizmanın kendisini tanıma veya tanımlamadır. Bunun için hastanın enfeksiyon şüpheli bölgesinden uygun ve özel teknikler ile muayene maddesi alınması gerekir. Bu analiz; dışkı, idrar, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve balgamdan direkt olarak kulak, burun, boğaz, genital bölge ve yaralar gibi bölgelerden de sürüntü şeklinde alınıp yapılabilir. Bunların herbirinin özel alınma ve incelenme yöntemleri vardır (50).

Makroskobik İnceleme

Enfekte olmuş hasta numunelerindeki patojen mikroorganizmanın identifikasyon işlemleri amacı ile yapılan bir uygulamadır. Ayrıca kesin tanı için hangi mikrobiyolojik yöntemlerin kullanılmasının daha gerekli olduğu konusu hakkında bilgilenmek amacı ile de yapılır. Gelen idrarın ve yara numunelerinin rengi, dışkının kanlı veya mukuslu olması bu çalışmanın sınırları içerisine dahil edilebilir (50).

Mikroskobik İnceleme

Boyalı ve boyasız mikroskobik yöntem olmak üzere iki kısımda incelenmektedir.

Boyasız Mikroskobik İnceleme

Enfeksiyon şüphesiyle gelmiş olan numunelerden az bir miktar alınıp, boyanmadan lam üzerine konulması ve taze olarak incelendiği yöntemdir. Bu uygulama, direkt olarak mikroorganizmanın kendisini görmek ya da etken sebebiyle oluşan lökosit ve eritrosit gibi hücreleri görmek amacıyla yapılır, tanı ve tedavi için oldukça yarar sağlar (49-50).

Boyalı Mikroskopik İnceleme

Mikrobiyolojik tanı yöntemlerinde boyama, etkenlerin mikroskop altında daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesi, bunların birbirlerinden ayırt edilmesi ve iç ve dış yapıları hakkında bilgi edinilmesi amacıyla yapılmaktadır.

Bu boyama tekniklerinden Gram boyama, laboratuvarlarda en fazla uygulanan boyama tekniği olup, bakterileri Gram pozitif (GP) ve Gram negatif (GN) özelliklerine göre ayırır. Bu uygulamada; kristal violet, lugol, eosin gibi solusyonlar ve alkol kullanılır. Yine tüberküloz etkenini belirlemek amacı ile Asido- Resistan Boyama (ARB) boyama tekniğinde karbol fuchsin, metilen mavisi solüsyonları kullanılmaktadır. Bunların dışında parazit etkenleri için lugol, eosin ve giemsa ile parazit boyamaları, spiral şekilli mikroorganizmalar için gümüşleme yöntemi, mantar etkenleri için pamuk mavisi boyası ile mantar incelemeleri gibi boyama teknikleri de kullanılmaktadır (49, 50).

Kültür

Enfeksiyon etkenlerinin, uygun koşullar altında ve optimum sıcaklıkta, inkübatör cihazlarında inkübasyon ve identifikasyon işlemleri kültür yöntemlerinin amacını oluşturmaktadır.

Gelen numunelerin, eküvyon çubuğu ve öze gibi araçlar vasıtası ile, genel olarak su, et ve malt ekstratı, serum ve peptondan oluşturulmuş temel, ayırıcı (TSI agar, Kliglar iron agar, SS agar), zenginleştirilmiş (kanlı agar, löwenstein- jensen agar), seçici (EMB agar), ölçme, kompleks ve sentetik gibi çeşitleri olan mikroorganizmaların üremesi ve gelişmesi için uygun şartlar barındıran besiyerlerine özel teknikler kullanılarak ekimi yapılmaktadır.

Gaita, burun, boğaz sürüntüleri ve balgam gibi numunelerin kültürü yapıldığında besiyerlerinde birçok çeşit mikroorganizma üremesi görülmektedir. Bunun sebebi bu muayane maddelerinin steril olmaması ve doğal bir floraya sahip olmalarıdır. Buradan patojen etkeni doğal floradan ayırt etmek ve tanımlamak gerekir. Ayrıca kan, idrar ve BOS gibi muayene maddeleri diğerlerinin aksine steril olup, bunlarda kültür vasıtası ile üretilmiş mikroorganizmalar büyük bir ihtimalle patojen etkenidir.

Mikroorganizmaların, inkübasyon ve identifikasyon işlemlerinden sonra antibiyogram tekniği kullanılarak tedavi için en uygun antibiyotik belirlenmektedir (49-50).

2.7.2. İndirekt Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri

İndirekt mikrobiyolojik tanı yöntemleri serolojik testler vasıtasıyla yapılır. Bu testler, hastalık etkeninin direkt olarak tanınmasından ziyade bu etkenin varlığı sonucu meydana gelen immun sistem yanıtını belirleyen bir yöntemdir. Bu teknikte amaç antikor ve antijenin araştırılmasıdır. Örneğin, patojen mikroorganizma sonucu vücudumuz antikor üretmekte ve bu üretim kuluçka döneminden sonra artmakta, hastalığın atlatılmasından kısa bir süreye kadar aynı seviyede kalmaktadır. Hastalığın akut döneminde Immunglobulin M (IgM) seviyesi fazla iken daha sonra Immunglobulin G (IgG) seviyesi artmaya başlar. Yapılan serolojik testler sonucu IgM seviyesinde ki artış hastalığın devam ettiğini, IgG seviyesinde ki artış ise hastalığın bittiğini ve o hastalığa karşı bağışıklık oluşturulduğunu göstermektedir.

Aglütinasyon Tekniği

Aglutinasyon, mikroorganizma ve eritrosit gibi hücre antijenlerinin antikor ile karşılaşması ya da laboratuvar ortamında karıştırılması sonucu meydana gelen ve gözle görülebilen kümeleşme oluşumudur. Aglutinasyon; lateks, tüp, hemaglutinasyon ve lam gibi çeşitli tekniklere sahip olup kan grupları ve brusella, pnömoni gibi hastalıklara bu yöntemle teşhis konulur.

Presipitasyon Tekniği

Antijenlerin, antikorlar ile karşılaştıklarında bulanıklık ve daha sonra çökme oluşturması işlemlerine dayanan bir tekniktir. Bu yöntemde, özel olarak hazırlanmış agar, bir lam üzerine veya petri içine dökülerek dondurulur. Agar içine küçük çukurlar açılır ve karşılıklı çukurların birine antijen diğetine ise antikor konulur. Daha sonra antijen ve antikoru agar içerisinde diffüze olup karşılaşmaları beklenir. Karşılaşma yerinde beyaz renkte bir bulanıklık, presipitasyon bandı oluşur.

Konjugat Tekniği

Bu teknik, kültürde saptanamayan ya da saptanması çok zor olan mikroorganizmaların tanısını kolaylaştıran bir yöntemdir.

Sabit bir yüzeye önceden tespit edilen antijenin olduğu bir ortama hasta serumu konur ve serumdaki antikor ile önceden konulmuş antijenin birleşmesi beklenir. Birleşme sonunda ortama konjugat eklenerek bunun immun komplekse bağlanması gerçekleştirilir. Bağlanan konjugatın miktarı ölçülerek değerlendirme yapılır. Ayrıca ELİSA, floresan antikor ve radioimounun assay gibi teknikler bu yöntemle yapılmakta olup, bu işlemlerin gerçekleştirilmesi için floresan boyası, enzim ve radiaktif gibi maddeler kullanılır (49- 51).

2.7.3. Moleküler Tanı Yöntemleri

Mikrobiyolojik moleküler tekniğinin en önemli amacı mikroorganizmaların hızlı tanısı ve mikroorganizmaları genetik olarak tiplendirmektir. Bu yöntemden diğer yöntemlere göre daha kesin ve daha hızlı sonuç alınmaktadır. Ayrıca bu teknikte, canlının genomu baz alınarak yapıldığından diğer yöntemlerde gördüğümüz kontamine ve benzer durumların meydana gelmesi söz konusu olmamakta, sonuç olarak ise diğer yöntemlere göre daha güvenilir sonuçlar ile karşılaşılmaktadır. DNA hibridizasyonu ve polimeraz zincir reaksiyon testleri (PCR), moleküler tanı teknikleri olarak bilinmektedir (52).

DNA Hibridizasyonu

Tek zincir şeklinde olup ve birbirlerine komplementer olan iki DNA zincirinin birbirine yapışıp tek bir yapı şekline dönüşmesi durumu hibritleşme olup bu yöntem sentetik olarak hazırlanmış ve çoğaltılmış özel DNA kısımlarının, sekansı araştırılacak olan hedef DNA ile yapışması amacıyla yapılmaktadır.

Bu yöntem ile türler arası filogenetik yakınlık belirlendiği gibi mikrobiyolojide patojen etkenlerin tanısı da konulmaktadır. Southern blot, northern blot, dot blot ve in situ gibi teknikler bu yöntem altında yapılmaktadır (52).

PCR

Sentetik oligonükleotid primerler kullanılarak, nükleik asitlerin; 94- 98°C de denatürasyonu, 37- 65°C de hibridizasyonu ve 72°C de ise polimerizasyonu işlemlerinin uygulanıp tekrarlanması sonucunda çoğaltılması işlemleridir. Ayrıca bu yöntem; kanser hastalıkları, adli tıp, klonlama, perinatal teşhis, kalıtsal hastalıklar ve mikrobiyolojide patojen mikroorganizmanın tanısı gibi alanlarda kullanılmaktadır (52).

3. MATERYAL METOT

Bu çalışmaya, 2020-2021 yılları arasında Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına, çeşitli kliniklerden gaita kültürü için gönderilen 237 örnek dahil edildi. Çalışma öncesinde Adıyaman Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 20.10.2020 tarih ve 2020/9-4 sayılı karar ile onay alındı.

Çalışmaya dahil edilen gaita örneklerinde bakteriyolojik kültür, identifikasyon işlemleri ve GGK testleri yapıldı. DM hastalarına ait dışkı kültürlerinde üreyen bakteri türlerinin Non DM hastaların dışkı kültürleri ile karşılaştırması yapıldı. Ayrıca dışkı örnekleri gönderilen hastalardan eşzamanlı olarak alınan serum örneklerinde glukoz ve HbA1C değerleri inceleme amacıyla değerlendirilmeye alındı.

3.1. Serumda Glukoz ölçümü

Glukoz ölçümü için çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan kanlardan elde edilen serumlar ile Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında çalışılan değerler analiz edildi. Hastalardan alınan kanlar 4100 rpm devirde 10 dakika süresince santrifüj cihazında (NF 1200 Santrifüj, Nüve, Türkiye) bir jelli tüp içerisinde (BD Vacutainer 5.0 ml, BD, USA) ayrıştırıldı. Tüpler çalışmaya alınmaya kadar 4°C sıcaklıkta saklandı. Uygun kit (Glucose, Abott, Germany) ve uygun cihaz (C16000, Architect, Germany) kullanılarak çalışma yapıldı. Yaklaşık bir saat sonra değerlendirme yapıldı.

3.2. HbA1C Ölçümü

HbA1C ölçümü için EDTA'lı bir tüp (BD Vacutainer 3.0 ml, BD, USA) içerisine alınan kanlar, uygun kit (HbA1Ckit-2.0, BIO-RAD, UNITED STATES) ve uygun cihaz (Hemoglobin testing system, BIO-RAD, UNITED STATES) kullanılarak çalışma yapıldı. Yaklaşık bir saat sonra değerlendirme yapıldı.

3.3. Gaitada Gizli Kan Ölçümü

Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına bakteriyolojik kültür amaçlı gelmiş dışkı örnekleri ile GGK testi ölçümü yapıldı. Gelen her dışkı örneği için bir adet kaset test kiti (Fecal Occult Blood Test, Laboquick, Türkiye) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı. Bunun için mevcut dışkı örneğinden, damlalıklı dilüsyon tüpü çubuğu yardımıyla mercimek büyüklüğü kadar dışkı alınıp dilüsyon tüpüne ilave edildikten sonra gaita ile dilüsyon sıvısının homojen hale gelmesi için tüp karıştırıldı. Hazırlanan solüsyondan, kasetin numune penceresine damlalık kullanılarak üç damla damlatıldı. On dakika beklenerek

sonuç değerlendirildi. Sonuç penceresinde kırmızı-pembe renkli çift çizgi görüldüğünde sonuç pozitif, tek görüldüğünde sonuç negatif olarak kaydedildi. Sonuç okuma penceresinde kırmızı-pembe renkli çizgilerin hiç oluşmaması veya silik olması durumunda test değerlendirme dışı bırakıldı (Şekil 1a ve 1b).



(a)

(b)

GGK testi tek çizgi kırmızı renk oluşumu Negatif çift çizgi kırmızı renk oluşumu ise Pozitif olarak değerlendirildi.

Şekil 1 a: GGK Pozitif hasta testinin görünümü

Şekil 1 b: GGK Negatif hasta testinin görünümü

3.4. Kültür

Tüm hastalara ait taze dışkı örneklerinden uygun besiyerlerine (Kanlı agar, EMB agar, SS agar, BD, USA) tek kullanımlık bir plastik öze yardımı ile ekim işlemi yapıldıktan sonra besiyerleri 37⁰ C de en az 24 saat süresince inkubasyon cihazında (EN 120 incubator, Nüve, Türkiye) bekletildi. Ertesi gün koloni formasyonu ve üremenin değerlendirilmesi için konvansiyonel yöntemler (gram boyama, katalaz, koagülaz, oksidaz ve gerektiğinde mayalar için germ tüp testi) kullanılarak identifikasyon işlemleri yapıldı.

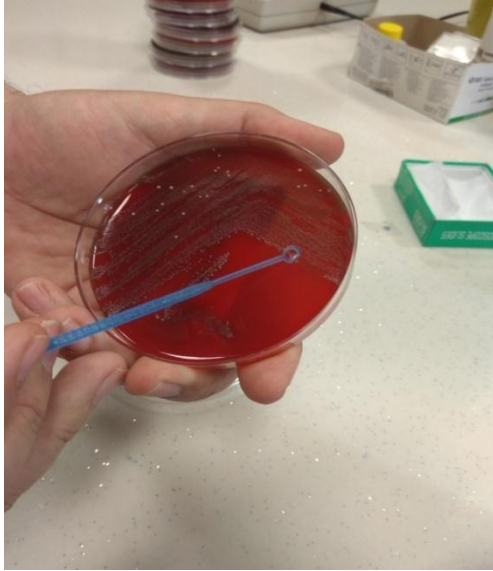
3.4.1. Gram Boyama

Gram boyama işleminde bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatılıp üreyen bakteri kolonilerinden bir-iki koloni alınarak serum fizyolojik ile homojen karışım sağlanarak

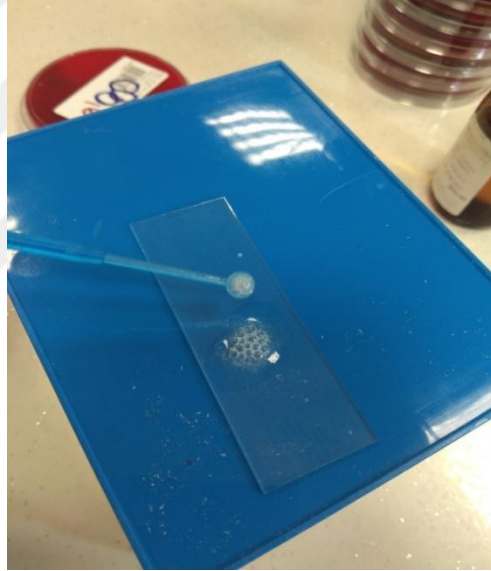
yayma yapıldı. Daha sonra preparat açık havada kurutulup alevde tespit edildi. Tespit işlemi sonrasında hazırlanan preparatlara uygun cihaz (Gram/ Hema Dual Stainer AT-3004, Dagatron, South Korea) ve kitler (Gram stain, Dagatronics Corporation, South Korea) kullanılarak boyama işlemi uygulandı. Yaklaşık 15 dakika sonra boyanıp kurutulmuş preparatlar, ışık mikroskopunun 100X' lük objektifi ile immersiyeon yağı damlatılarak incelendi.

3.4.2. Katalaz Testi

Genellikle *Stafilakokları*, *Streptokoklardan* ayırt edebilmek için amacı ile yapılır. Katalaz enzimi, ortamdaki hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijene ayrıştırır. Bunun için uygun bir kit (Katalaz ayırıcı, Or-Bak, Türkiye) kullanılarak reaksiyon sonunda oluşan serbest oksijenin gaz kabarcıklarının gözlenmesi pozitif olarak kabul edildi (Şekil 2a ve 2b).



(a)



(b)

Şekil 2 a: Besiyerinde üremiş mikroorganizma,

Şekil 2 b: Katalaz enziminin eklenmesi sonucu oluşan gaz kabarcıkları.

3.4.3 Oksidaz Testi

Genellikle GN bakterilerin ayırımında kullanılır. Cytochrome C oxydase enziminin varlığını arayan bir testtir. N,N-Dimethyl-1,4-phenylenediammonium chloride ($0.1 \mu\text{mol}$) ve α -naphthol ($1.0 \mu\text{mol}$) emdirilmiş stripler (Oxidase, Bioanalyse, Türkiye) yardımıyla kanlı agardaki taze bakteri kolonilerine değdirilerek, 20-30 saniye sonra oluşan mor renk değişimi pozitif olarak kabul edildi (Şekil 3).



Şekil 3: Oksidaz testi sonucu oluşan renk değişimi

3.4.5. Koagülaz Testi

Bu test, özellikle stafilokoklarda bulunan ve kan plazmasını pıhtılaştırarak koagülaz enzimini ortaya koyma, patojenik olanlarla nonpatojenik olanları ayırmak amacı ile yapılır. Patojenik olan *S.aureus* pozitif reaksiyon vermesine karşın *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus* negatif reaksiyon gösterir. Bunun için, üretici firma tarafından sağlanan bir lam üzerine üreyen kolonilerden bir-iki koloni alınarak üzerine bir damla uygun kit (Staph. Test Latex Reagent, Atlas Medical, Türkiye) damlatılarak bir plastik öze yardımıyla karıştırıldı. Karışım 3-5 dakika beklendikten sonra oluşan kümeleşme pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

3.4.6. Germ Tüp Testi

Germ tüp (çimlenme borusu) testi *Candida albicans* ' ları diğer maya mantarlarından ayırmak için yapılır. Kültürde üreyen maya kolonilerinden birkaç koloni alınarak alınarak, içerisinde 1-2 mL kadar insan serumu bulunan tüplere konulup karıştırıldıktan sonra inkübatörde 35-37°C yaklaşık 1,5 saat kadar bekletildi. Bu sürenin sonunda, tüpler inkübatörden çıkarılarak, örneklerden birer damla lam üzerine konulup ve üzerine lamel kapatılarak mikroskopun 40X' lık objektifi yardımıyla incelendi. İncelemede tüp görülmesi halinde *C.albicans* olarak değerlendirildi (Şekil 4).



Germ tüp oluşumu siyah ok ile gösterilmiştir

şekil 4: Mayalarda germ tüp oluşumunun görünümü.

3.5. Tam Otomatik Kültür Antibiyogram

Besi yerlerinden alınan koloniler 0.5-0.63 µg arasında MacFarland standardı seviyesinde üreticinin firmanın temin ettiği identifikasyon solüsyonu (ID broth, BD, ABD) ile seyreltildi. Daha sonra karışımından 0,50 µL'lik bir kısım alınarak antibiyogram solüsyonuna (AST broth, BD, ABD) aktarılarak tam otomatik bir kültür antibiyogram cihazı (Phoenix 100, BD, ABD) ve uygun kitleri (GP ID / AST, GN ID / AST, Yeast, BD, USA) kullanılarak çalışıldı. Çalışma sonucu, mikroorganizma türüne bağlı olarak ortalama 8-12 saat arasında alındı.

3.6. İstatistiksel Analiz

SPSS 23.0 paket programı kullanılarak çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizi yapılmıştır. Kategorik iki değişkenlerin arasındaki ilişkiyi belirlemek için Ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçların anlamlılık düzeyi %95 ($p < 0,05$) olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Laboratuvarımıza kültür amacıyla gönderilen 237 hastanın gaita örneği çalışmaya dahil edildi. (Tablo1) Çalışmaya dahil edilen hastalardan 100'ü DM hastası 137 si ise non DM hastalarından oluşmaktaydı. Yine bu hastalardan 113'ü kadın, 124'ü erkekti. Erkeklerin 55'i DM hastası, 69'u ise Non DM hastalar olup, kadınların ise 45'i DM 68'i Non DM hastalardan oluşmaktaydı (Tablo 1).

Tablo 1: Yaş ve cinsiyete göre diyabetik olan ve olmayan hastaların dağılımı

YAŞ GRUBU	DM			Non DM			Toplam		
	TOPLAM	Kadın	Erkek	TOPLAM	Kadın	Erkek	TOPLAM	Kadın	Erkek
18-45	19	3	16	102	49	53	121	52	69
46-60	42	14	28	20	10	10	62	24	38
60 >	39	28	11	15	9	6	54	37	17
Toplam	100	45	55	137	68	69	237	113	124

Bu tabloda ki bulgulara göre ki-kare analizi yöntemiyle 237 hastanın cinsiyetine göre DM hastalığı arasında ilişki olduğuna dair hipotezin anlamlılığını ölçmek için Tablo 2 deki test yöntemi kullanılmıştır. P değeri 0,05 ten daha küçük olduğu için cinsiyet ve diyabet arasında anlamlı bir ilişki vardır.

Tablo 2: Cinsiyet ve diyabet arasında ki korelasyon için pearson ki kare analizi

Ki Kare	DM	NON DM	TOPLAM	X ² MODE L DM	X ² MODE L NON DM	Pearson n DM	Pearson NOND M
Kadın	45	68	113	47,68	65,32	0,15	0,11
Erkek	55	69	124	52,32	71,68	0,14	0,10
Toplam	100	137	237				
Chi-Square Score	DF	Significance Level	P Value				
0,50	1	0,05	0,01				

Yine yaş ile DM/NON DM hastası olma durumu arasında korelasyonun varlığı hipotezine göre 237 hasta üzerinde yapılan ki-kare analizine göre Tablo 3 te de görülen P

değeri 0,05 ten daha küçük olduğu için yaş ve diyabet arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlendi.

Tablo 3: Yaş ve diyabet arasında pearson ki kare analizi

Ki Kare	DM	NONDM	TOPLAM	X ² MODEL DM	X ² MODEL NON DM	Pearson DM	Pearson NONDM
18-45	19	102	121	51,05	69,95	20,13	14,69
46-60	42	20	62	26,16	35,84	9,59	7,00
>60	39	15	54	22,78	31,22	11,54	8,42
TOPLAM	100	137	237				
Chi-Square Score	DF	Significance Level	P Value				
71,37	2	0,05	0,01				

Çalışmaya dahil edilen 237 hastanın 70'inde GGK (+) tespit edilip, bunların 57'si (%81) DM olup 13'ü (%19) Non DM hastalardan meydana geldi. DM hastalarının 40'ı (%57) kadınlardan ve 17'si (%24) erkeklerden oluşmaktaydı. Yine Non DM hastalardan 5'i (%7) kadınlardan ve 8'i (%11,5) erkeklerden oluşmaktaydı. DM hastalarında Non DM hastalarına kıyasla anlamlı bir şekilde GGK (+) fazla olduğu yine DM hastalarının GGK (+) kadınlarda erkeklerden daha fazla olduğu tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4: Yaş ve cinsiyete göre diyabetik olan ve olmayan hastalarda GGK (+) dağılımı

YAŞ GRUBU	18-45		46-60		>60		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
TOPLAM DM	10	14	24	34	23	33	57	81
KADIN DM	6	8,5	14	20	20	28,5	40	57
ERKEK DM	4	5,5	10	14	3	4	17	24
TOPLAM NONDM	2	3	3	4	8	11,5	13	19
KADIN NONDM	1	1,5	1	1,5	3	4	5	7
ERKEK NONDM	1	1,5	2	3	5	7	8	11,5

Çalışmaya dahil edilen hastalarda tespit edilen GKK (+) durumuyla DM/NONDM Hastalığı arasında korelasyon olduğuna dair hipotez için Tablo 5 te Ki-Kare testi yapılmış ve P değeri %5 ten küçük çıktığı için bu hipotez doğrulanmıştır.

Tablo 5 : GGK ile diyabet arasında pearson ki kare analizi

Kİ Kare	DM	NON DM	TOPLAM	X ² MODEL DM	X ² MODEL NON DM	Pearson DM	Pearson NONDM
GGK (+)	57	13	70	29,54	40,46	25,54	18,64
GGK (-)	43	124	167	70,46	96,54	10,70	7,81
Toplam	100	137	237				
Chi-Square Score	DF	Significance Level	P Value				
62,70	1	0,05	0,01				

Çalışmaya alınan 100 DM hastasının 56'sı (%56) 110-200 arası, 32'si (%32) 200-300 arası ve 12'si (%12) 300> glukoz değerlerine sahipti (Tablo 6).

Tablo 6 : DM hastalarının glukoz değerlerine göre dağılımı

GLUKOZ DEĞERİ	110-200		201-300		>300		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
HASTA SAYISI	56	32	32	32	12	12	100	100

Ayrıca bu hastaların HbA1C değerleri çalışılmış ve 76'sında (%76) 6-8, 24'ünde (%24) ise 8> değerlere sahip olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: DM hastalarının HbA1C değerlerine göre dağılımı

HbA1C DEĞERİ	6-8		>8		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
HASTA SAYISI	76	76	24	24	100	100

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen 237 dışkı örneğinde toplamda 245 bakteri ürediği görülmüştür. Üreyen mikroorganizmalar *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Stafilococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Corynebacterium spp* olup bu bakterilerinin %60'ını *E.coli* oluşturmaktadır. 137 Non DM hastasında üreyen *E. coli* miktarı 56 (%41) olmasına karşın 100 DM hastasında üreyen *E.coli* miktarı 85 (%85) idi. Bu durumda DM ve non DM hastalarında görülen *E. coli* miktarlarında belirgin bir fark olduğu görüldü. DM ve non DM hastalarında üreyen diğer bakteriler için anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Tablo 8: Hastalarda üreyen bakterilerin dağılımı

MİKROORGANİZMA	DM HASTA		NONDM HASTA		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
<i>E.coli</i>	85	85	56	40.88	141	57.55
<i>K. pneumoniae</i>	15	15	12	8.76	27	11
<i>Enterococcus faecium</i>	4	4	15	10.95	19	7.75
<i>E. aerogenes</i>	3	3	3	2.19	6	2.44
<i>Proteus mirabilis</i>	4	4	3	2.19	7	2.85
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	4	14	10.22	18	7.34
<i>P. aeruginosa</i>	2	2	6	4.38	8	3.26
<i>Candida albicans</i>	1	1	7	5.11	8	3.26
<i>S. epidermidis</i>	1	1	1	0.73	2	0.81
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	2	3	2.19	5	2.04
<i>Corynebacterium spp</i>	0	0	4	2.92	4	1.63
Toplam	121		124		245	

Tablo 8’deki bulgulara göre ilk satırda yer alan *E. coli* mikroorganizmasının hastaların DM/NONDM oluşuyla ilişkili olduğuna dair hipotezi doğrulamak için Tablo 9 da yapılan Ki-Kare testinde P değeri 0,05 ten küçük çıkmış ve hipotez doğrulanmıştır.

Tablo 9: *E. coli* ile diyabet arasındaki korelasyon için pearson ki-kare analizi

Ki Kare	DM	NON DM	TOPLAM	X ² MODEL DM	X ² MODEL NON DM	Pearson DM	Pearson NONDM
<i>E. Coli</i> (+)	85	56	141	59.49	81.51	10.94	7.98
<i>E. Coli</i> (-)	15	81	96	40.51	55.49	16.06	11.72
Toplam	100	137	237				
Chi- Square Score	DF	Significance Level	P Value				
46,70	1	0.05	0.01				

Laboratuvarımıza gelen dışkı örneklerinden üreyen mikroorganizma çeşitliliği incelendiğinde, DM hastalarında bu çeşitliliğin Non DM hastalarına göre daha az olduğu görüldüğü, DM hastalarında ikiden fazla mikroorganizma üremesinin hiç olmadığı tespit edildi. Tek tip üremede %86 ile DM hastaları Non DM (%72) hastalarından daha fazla iken iki veya daha fazla üremelerde Non DM hastaları DM hastalarından daha fazladır.

Tablo 10: Hastalarda üreyen dominant mikroorganizma türüne göre hastaların dağılımı

	BAKTERİ	DM HASTA		NONDM HASTA		TOPLAM	
		SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
Tek Tip Mikroorganizma	<i>E. coli</i>	69	43,5	47	30,00	116	73,50
	<i>Kleb. pneumoniae</i>	6	4	10	6,00	16	10,00
	<i>Enterococcus faecium</i>	3	2	2	1,00	5	3,00
	<i>Entero. aerogenes</i>	3	2	1	0,50	4	2,50
	<i>Proteus mirabilis</i>	1	0,5	1	0,50	2	1,00
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2	1	2	1,00	4	2,50
	<i>Pseu. aeuroginosa</i>	1	0,5	5	3,00	6	3,50
	<i>Candida albicans</i>	0	0	1	0,50	1	0,50
	<i>Stafi. epidermidis</i>	0	0	0	0,00	0	0,00
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0,5	3	2,00	4	2,50
	<i>Corynebacterium spp</i>	0	0	0	0,00	0	0,00
	Toplam	86		72		158	
İki Tür Mikroorganizma	<i>E.coli</i> + <i>K. pneumoniae</i>	5	10	8	15,50	13	25,50
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. cloaca</i>	1	2	0	0,00	1	2,00
	<i>E. coli</i> + <i>E. faecalis</i>	1	2	5	10,00	6	12,00
	<i>Candida albicans</i> + <i>E. faecium</i>	1	2	3	6,00	4	8,00
	<i>E.coli</i> + <i>S. epidermidis</i>	1	2	4	8,00	5	10,00
	<i>E. coli</i> + <i>P. aeuroginosa</i>	1	2	2	4,00	3	6,00
	<i>K. pneumoniae</i> + <i>P. mirabilis</i>	4	8	3	6,00	7	14,00
	<i>E. coli</i> + <i>E. faecium</i>	0	0	6	12,00	6	12,00
	<i>Coryne. spp</i> + <i>E. aerogenes</i>	0	0	2	4,00	2	4,00
	<i>E. aerogenes</i> + <i>E. faecium</i>	0	0	1	2,00	1	2,00
	<i>K. pneumoniae</i> + <i>P. aeuroginosa</i>	0	0	3	6,00	3	6,00
	Toplam	14		37		51	
İkiden fazla M.O.	<i>E. coli</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>E. faecalis</i>	0	0	1	50,00	1	50,00
	<i>E. coli</i> + <i>Coryne. spp</i> + <i>E. aerogenes</i>	0	0	1	50,00	1	50,00
	Toplam	0	0	2	0,00	2	0,00

Üreyen bakteriler Gram boyama yöntemine göre değerlendirildiğinde, DM hastalarında Gram negatif bakterilerin yoğunluğu dikkat çekti. DM hastalarında görülen toplam 118 üremenin 108'ini (%91.5) Gram negatif bakteriler oluştururken, sadece 10'unu (%8.5) Gram pozitif bakteriler oluşturdu. Non DM hastalarında da Gram negatif bakterilerinin yoğunluğu Gram Pozitif bakterilere göre daha fazla olup, DM hastalarında ki anlamlı fark daha belirgindi.

Tablo 11: Üreyen bakterilerin Gram boyama yöntemine göre değerlendirilmesi

Hasta Grubu	GRAM POZİTİF		GRAM NEGATİF		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
DM	10	8,5	108	91,5	118	49
NonDM	41	33	83	67	124	51
Toplam	51	21	191	79	242	100

Tablo 11'de Gram boyama yöntemiyle tespit edilen DM/NONDM hastalarında ki Gram negatiflik durumu için ürettiğimiz DM hastalarında Gram negatiflik daha yoğundur hipotezi için Tablo 12 de yer alan Ki-Kare analizi yöntemiyle yaptığımız testte P değeri 0,05 ten küçük çıktığı için bu hipotez anlamlıdır.

Tablo 12: Diyabet ile gram negatiflik arasındaki korelasyon için pearson ki-kare analizi

Kİ Kare	GP	GN	Total	X ² Model GP	X ² Model GN	Pearson GP	Pearson GN
DM	10	108	118	24,87	93,13	8,89	2,37
NON DM	41	83	124	26,13	97,87	8,46	2,26
Toplam	51	191	242				
Chi-Square Score	DF	Significance Level	P				
21,98	1	0,05	0,01				

GP: gram pozitif, GN: gram negatif.

Çalışmaya dahil edilen 100 DM hastasının eş zamanlı olarak diğer hastalıkları incelendiğinde 61'inin gastrointestinal rahatsızlığının olduğu tespit edilip, Non DM

hastalarına göre çok anlamlı bir fark bulundu. DM hastalarının cinsiyet durumu göz önüne alındığında, anlamlı bir fark görülemedi.

Tablo 13: Hastaların cinsiyetine göre aynı zamanda bulunan diğer hastalıkların dağılımı

Hastalıklar	DM			Non DM			Toplam
	Toplam	E	K	Toplam	E	K	
Akut gastrit	21	14	7	6	4	2	27
Gastroenterit ve kolit	9	5	4	4	3	1	15
Gastro-özofajial reflü	13	7	6	2	-	2	17
İrritabl barsak send.	8	4	4	1	-	1	9
Ülseratif kolit	8	5	3	5	3	2	14
Kolon malign neoplazmı	2	2	-	-	-	-	2
Hiperlipidemi	10	6	4	7	4	3	19
Anemi	18	8	10	13	2	11	38
Diğer Hastalıklar	11	4	7	99	53	46	81
Toplam	100	55	45	137	69	68	237

E: Erkek, K: Kadın

TARTIŞMA

Diabetes mellitusun artan prevalansı sadece insan genomundaki, beslenme alışkanlığındaki veya günlük fiziksel aktivitedeki değişiklikler ile açıklanamamaktadır. Bütün bunlara ek olarak, yaşamın tüm evresinde enerji dengesine katkısı olduğu gösterilmiş bir başka faktör daha bulunmaktadır. Hem insan hem de hayvan çalışmalarında, bağırsak mikrobiyotası olarak adlandırılan bu faktörün diyabet ile sonuçlanabilen birçok intestinal biyolojik fonksiyonda rol oynadığı gösterilmiştir.

Özellikle son yıllarda bağırsak mikrobiyotasının çok sayıda hastalıkla ilişkisi bulunduğu öne sürülmektedir. Bu hastalıklardan birisi de T2DM hastalığıdır. Bağırsak mikrobiyotası ve insülin direnci arasında direkt bir ilişki olduğu 2007 yılında Cani ve arkadaşları tarafından real time qPCR kullanılarak yapılmıştır. Araştırma yüksek yağ içerikli bir beslenme programının bağırsak mikrobiyotasında yer alan bazı bakterilerin sayısında artışa yol açtığını tespit etmiştir. Bu bakteriler, insülin direncinde önemli rol oynayan lipopolisakkarit düzeyinde de artışa sebep olmaktadır. Cani ve ark.'larına göre GİS florasında gram-negatif bakterilerin varlığı metabolik hastalıklarla ilgilidir. Bu bakterilerin dış membran temel bileşenlerinden olan lipoprotein, endotoksemiye yol açabilecek inflamasyon ve inflamatuvar cevap düzenleyicisi olarak diyabetin gelişiminde rol oynadığı bildirilmektedir (53). Bizim çalışmamızda da GN bakterilerin oranlarının fazla olmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0,05$).

Diyabet hastalarının intestinal mikroorganizma çeşidi ve düzeyiyle ilgili yapılmış birçok çalışma mevcuttur. Zhang ve arkadaşları 16S rDNA tabanlı yüksek verimli sıralama kullanarak yaptıkları bir çalışmada denekleri T2DM, prediyabet ve normal glikoz toleransı grubu olmak üzere 3'e ayırmışlar ve üç grubunda GİS florasının benzer olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Prediyabet grubunda normal glikoz toleransı grubuna göre butirat üreten *Akkermansia muciniphila* ve *Faecalibacterium prausnitzii*'nin daha az olduğu saptanmıştır. Ayrıca *Verrucomicrobia*, prediyabet ve T2DM gruplarında, normal glikoz toleransı grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada hem T2DM hastalarının GİS florasının diğer bireylerden farklı olduğuna hem de GİS florasındaki değişimlerin glikoz intoleransının gelişimiyle de alakalı olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır (54).

Larsen ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, 18 tip 2 diyabetik hasta ile 18 non-diyabetik kontrol karşılaştırılmış ve bağırsak mikrobiyotasında gözlenen değişikliklerin hem sınıf hem de tür düzeyinde olduğu belirtilmiştir. Sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında, T2DM hastalarda belirgin olarak daha düşük *Firmicutes* konsantrasyonları görülmüş ve

Bacteroidetes ve *Proteobacteria* düzeylerinin artma eğiliminde olduğu rapor edilmiştir. *Bacteroidetes/Firmicutes* oranlarının bozulmuş glukoz toleransı ile belirgin şekilde ve pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Tür düzeyinde incelendiğinde *Bacteroides-Prevotella/Clostridium coccoides-Eubacterium rectale*, *Escherichia coli* oranlarının da diyabetik hastalarda anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (55). Yine, Sasaki ve ark.'ları tarafından yapılan randomize, çift-kör ve plasebo-kontrollü farklı bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (56).

İzole bütirat uygulaması ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Nitekim bu uygulamanın sağlıklı mikrobiyotanın diyet polisakkaritlerinden ürettiği KZYA'lar ile var olan yolları aktif hale getirerek, insülin direnci ve obeziteye karşı koruyucu özelliği vardır. Bütirat ile yapılan deneysel çalışmalarda insülin hassasiyeti ve kahverengi yağ dokusu birikimi problemlerinin giderildiği gösterilmiştir (57). Yine Qin ve ark.'ları Tip 2 diyabetli hastalarda bağırsak mikrobiyal içeriği üzerinde analiz yapmak için, 345 Çinli bireyden alınan bağırsak mikrobiyal DNA'sının derin shotgun sekanslamasına dayanan iki aşamalı bir metagenom çalışmada bir ilişki çalışması uygulamış, T2DM'li hastaların orta derecede bağırsak mikrobiyal disbiyozu ile karakterize olduğunu ve bazı evrensel bütirat üreten bakterilerin (*Roseburia* türleri ve *Faecalibacterium prausnitzii*) bolluğunda bir azalma ve çeşitli fırsatçı patojenlerde bir artışın yanı sıra sülfat azalması ve oksidatif stres direnci sağlayan diğer mikrobiyal işlevlerin zenginleştiğini belirtmişlerdir (58). Bu çalışmaya benzer bir çalışma da Danimarka'da yapılmış ve *Proteobacteria*'ların T2DM'li bireylerde arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen sonuçların Çin'de yapılan çalışma ile (58) örtüştüğünü ve bununla beraber *E.coli* miktarının arttığı gösterilmiştir (55).

Nadal ve ark.'ları, diyabetik ve non diyabetik kişilerin bağırsak mikrobiyotasını Floresan In Situ Hibridizasyon yöntemi ile çalışmış ve Non DM'li kişilerde *Bacteroides* ve *Prevotella* bakteri grubunu daha fazla bulmuşlardır. DM'li kişilerde ise *Clostridia coccoides* ve *Escherichia coli* bakterilerinin daha yoğun olduğunu gözlemlemişlerdir (59).

Bağırsak mikrobiyotasının DM'de bir rol oynadığı bilindiğinden, Tetz ve New York'taki İnsan Mikrobiyoloji Enstitüsü'ndeki meslektaşları, Kostic ve arkadaşları ile birlikte 16 kişi üzerinde yapılan ileriye dönük uzunlamasına mikrobiyom kohort çalışmasından elde edilen verileri analiz ederek Lökosit antijenleri (HLA) -amiloid üreten bakterilere odaklanan bir algoritma kullanarak DM'ye duyarlılığını araştırmışlardır. Mikrobiyota dizileme ve işleme için Illumina HiSeq500 platformunda yüksek verimli shotgun sıralaması gerçekleştirilmiştir.

Bu analiz, otoimmünite ile bağırsak amiloidi üreten *E. coli* dinamikleri arasında anlamlı bir ilişki ortaya çıkardı (60, 61).

Madacki-Todorovic ve meslektaşları tarafından yürütülen ayrı bir çalışmada, insülinin biyofilm oluşturma kabiliyeti ile bağlantılı olarak *E. coli'nin* artan metabolik aktivitesi üzerindeki doğrudan etkisine dair kanıtlar sunmaktadır. Bu çalışmanın araştırmacıları, insülin hormonunun, diyabetli hastalarda morbi mortalite ile ilişkili en yaygın patojen olarak *E. coli'nin* enzimatik virülan faktörlerinin ekspresyonu üzerindeki etkisini araştırmıştır. Üç *E. coli* suşu (*E. coli-C1*, *E. coli-C2* ve *E. coli-C* biyofilm oluşturunca özelliği olmayan), biyofilm oluşturmeyen *E. coli* suşu (*E. coli-Ref*) ile kontrol olarak, geleneksel mikrobiyolojik tanımlama ve izolasyon yöntemleri kullanılarak hastaların klinik örneklerinden izole edilmiştir. *E. coli*, gerekli tüm besin takviyesine sahip olduğu zaman farklı ortamlarda büyüme ve çoğalma yeteneğine sahiptir bu da *E. coli'* nin tanımlayıcı bir özelliğidir. Bu nedenle, tüm *E. coli* suşları, 2.5 U / mL doz konsantrasyonunda insan insülini ilavesiyle farklı inkübasyon süreleri için 37°C'de büyüme ortamında inkübe edildi. Sonuç olarak bu çalışma, insan hormonu insülininin, bu düşük konsantrasyonda bile, yalnızca bakteri hücrelerinin çoğalması üzerinde önemli uyarıcı etkiye sahip olmadığını, aynı zamanda *E. coli'nin* metabolik aktivitesini önemli ölçüde etkilediğini ve biyofilm oluşumu için bir otoindüktör görevi gördüğünü göstermiştir. Bu bulgulara dayanarak araştırmacılar, insan insülinini, aspartil proteinaz genlerinin ekspresyonu üzerindeki uyarıcı etkisinden dolayı, *E. coli* enfeksiyonlarının yayılması ve ilgili patojenitenin artması için potansiyel risk faktörü olduğu sonucuna varmışlardır (62).

Çalışmamızda, DM hastalarına ait dışkı kültürlerinde üreyen mikroorganizma türlerinin Non DM hastalarının dışkı kültürleri ile karşılaştırmasını, dahil ettiğimiz 237 gaita örneğini bakteriyolojik kültür identifikasyon işlemleri yöntemiyle inceledik. Tespit ettiğimiz *Proteobacterilerin* fazlalığı ve bütirat üreten bakterilerin nadir olması diğer çalışmalar ile benzerdir. Ayrıca çalışmamızda toplam olarak 242 bakteri üremiş ve üremiş olan bakterilerin 141'ini (%60) *E. coli'* nin oluşturduğu gözlenmiştir. Üremiş olan *E. coli* miktarının 85'i (%85) çalışmaya dahil edilen 100 DM hastasında, 56'sı (%41) Non DM olan 137 hasta içerisinde görülmüştür. Sonuç olarak, DM hastalarında *E. coli* oranlarını artmış ve bu oranların Non DM hastalarına göre daha fazla olduğu saptanmış olup, istatistiksel olarak literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Bağırsak mikrobiyotası normal insanlarda çeşitlilik açısından zengindir. Azalan mikrobiyal çeşitlilik ve disbiyoz obezite, T2DM ve düşük iltihaplanma ile bağlantılı olduğunu

bildiren Hollister ve ark.'ları (63) bağırsak mikrobiyal DNA'sının derin Sobs, Shannon ve Simpson indekslerine dayanarak yaptıkları bir çalışmada denekleri tip T2DM, normal kontrol (NK) ve bozulmuş glukoz regülasyonu (BGR) olarak üç gruba ayırmışlar ve üç grubun da bağırsak mikrobiyotası çeşitliliğinde farklılık olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Çalışmada On beş filum, 223 cins ve 452 tür belirlenmiş, filum düzeyinde, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria*, *Fusobacteria*, *Elusimicrobia* olmak üzere üç grupta baskın bakteri filumları görülmüştür.

Firmicutes ve *Bacteroidetes* üç grupta en yüksek bolluğa sahip, sırasıyla % 32.13, %38.35 ve %36.41 *Bacteroidetes* ve sırasıyla % 62.05, 55.53 ve %52.95'i *Firmicutes* oluşturmuştur. *Proteobacteria* ve *Actinomycetes* dahil olmak üzere bakteri filumlarının bolluğu T2DM grubunda % 2.94 ve % 2.13, bozulmuş glukoz regülasyonu grubunda %3.14 ve 2.47 ve normal kontrol grubunda %4.79 ve %4.57 idi. Filum sınıflandırma seviyesinde, yeni T2DM, BGR (bozulmuş glukoz regülasyonu) ve NK'nin bağırsak mikrobiyotasının yapısal bileşenleri farklılıklar göstermektedir. NK (normal kontrol) ile karşılaştırıldığında, T2DM ve BGR'deki bağırsak mikrobiyotasının bolluğu ve çeşitliliğinin azaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak sekanslama derinliği tüm örnekler için yeterliydi ve sekanslama kapsama derinliği >%97 idi. Analiz sonucunda her üç indeks de istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve bu, üç grupta bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinde farklılıklar olduğunu gözlenmiştir. Kontrol grubu analiz edildiğinde, Shannon ve Sobs indekslerine göre, BGR grubuna göre bakteri bolluğunun yüksek olduğu tespit edilmiştir (64).

Tunuslu ve Kuzey Afrikalı diyabeti olan ve olmayan katılımcılarda yapılan bir başka çalışmada ise diyabetik katılımcılarda, diyabeti olmayanlara kıyasla daha düşük miktarlarda *Firmicutes*, *F. prausnitzii* ve *A. muciniphila* tespit edilmiş. Bununla birlikte, *Bifidobacterium spp* oranlarında önemli bir farklılık gözlemlenmiştir. Tunuslu diyabetli katılımcılarda tespit edilen dengesiz bağırsak bakterileri, bütirat üreten bakterilerin azalması ile karakterize, daha az çeşitli bağırsak mikrobiyotası sunan T2DM'li Çinli hastalarda da rapor edilmiştir (58, 65).

Kültür identifikasyonu ile yaptığımız çalışmada, DM hastalarında üremiş olup genel olarak bütirat üretmeyen ve çeşitlilik olarak tek tip olan mikroorganizma oranı (%86) saptandı. Bu oran Non DM hastalarında daha az (%72) idi. Ayrıca DM hastalarında üreyen ve çeşitlilik olarak iki tip mikroorganizma türü % 14 olarak saptanırken ikiden fazla mikroorganizma türü ise hiç görülmedi. Bu oranlar Non DM hastalarında ise iki tip mikroorganizma için %37 ve ikiden fazla tip mikroorganizma için %2 idi. Tespit ettiğimiz bu

sonuçların, literatür ile bakteri çeşitliliğinin sayısal olarak uyumlu olduğu ve tür düzeyindeki bakteri çeşitliliğinin ise farklı olduğu saptandı.

Çeşitli çalışmalarda, GGK testinin KRK'nin tespiti ve teşhisinde oldukça güvenilir sonuçlara ulaşılabileceği ve bu testin duyarlılığının %30-92, spesifitesinin özgüllüğünün %90-99 oranında olduğu bildirilmiştir. GGK testi, tümörün ve tümörden kaynaklı bağırsak kanamalarının tespiti amacıyla yapıldığından GGK pozitifliği, kolonoskopide kolorektal kanser teşhisini koyma ihtimalini artırır (66).

Yuhara ve ark.'larının yapmış olduğu bir çalışmada DM, artmış KRK riski ile ilişkili olduğuna ve DM olanların rektal kanser riski, DM olmayanlardan yaklaşık %20 daha yüksektir ve kolon kanser riski %38 daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (67). Yine başka bir çalışmada ise KRK riskinin, DM'li bireylerde Non DM'li bireylere göre %30 daha fazla olduğu görülmüştür (68). Arslan ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada ise; DM'li olan ve Non DM olan bireyler karşılaştırılmış ve KRK görülme ihtimali açısından DM'li bireylerin 3 kat daha yüksek riske sahip oldukları sonucuna varılmıştır (69). Turan ve arkadaşlarının çalışmasında KRK'e eşlik eden hastalıklar HiperTansiyon, DM ve KOAH olarak bulunmuştur (70). Menteş ve arkadaşlarının çalışmasında ise KRK nedeniyle opere edilen hastaların 85'inde (%42.5) ek hastalıklar bulunmuş ve sık görülen hastalıklar arasında, hipertansiyon ve DM olduğu bildirilmiştir (71).

Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz 237 hastanın 70'inde GGK (+) tespit edilip, bunların 57'si (%81) DM olup 13'ü (%19) Non DM hastalarından meydana geldiği görülmüştür. DM hastalarında Non DM hastalarına kıyasla anlamlı bir şekilde GGK (+) fazla olduğunu saptadık ve bu durum literatürde konusu olan, DM hastalarında KRK görülme ihtimalinin daha yüksek olması, gözlemleriyle uyumludur. DM ve Non DM hastaları arasında GGK pozitiflik durumunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0,05$). Ayrıca eş zamanlı olarak yaptığımız çalışmamızda 100 DM hastasının 61'inde gastrointestinal rahatsızlıklarının olduğu, Non DM hastalarında ise 137 hastadan sadece 18'inde olduğu saptanmıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Normal şartlarda gastrointestinal flora; patojenlerden korunma, metabolizma ve immun sistemin gelişiminde büyük öneme sahiptir. Moleküler teknolojiye gelişmeler ile birlikte, gastrointestinal flora daha iyi açıklanmış; diyabet mellitus, obezite, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, irritabil kolon hastalığı, romatoid artrit gibi otoimmun hastalıklar, bazı spondiloartropatiler ve enfeksiyöz enterokolit gibi pek çok hastalık ile ilişkili olduğu görülmüştür. Gastrointestinal flora kendi içerisinde dengeli olan bir mikroekosistemdir. Tek bir bakterinin bile gastrointestinal epiteli ile olan ilişkisi büyük bir metabolik süreci de beraberinde getirmektedir. Çevresel şartlar, kullanılan ilaçlar ve kişinin yaşam biçimi bu mikrofloranın düzenini bozabilir. Gastrointestinal floranın disbiyozisi konak immünesine hasar vererek hastalık oluşumuna sebep olur. Gastrointestinal flora homeostasisinin normal bir şekilde tutulması sağlıklı yaşam için vazgeçilmez bir unsurdur (39).

Gastrointestinal flora bağırsakta sindirilmeyen karbonhidratların ve proteinlerin sindirimini, çeşitli vitaminlerin de sentezini sağlayarak metabolizmaya katkıda bulunmaktadır. Gastrointestinal flora üyelerinin metabolizmaya en büyük katkılarından biri KZYA sentezlemeleridir. Sentezlenen bu yağ asitleri bağışıklık yanıtının oluşmasında çok önemli bir görev almaktadır. Ayrıca KZYA, Glukagon-like Peptide 1 sekresyonunu uyararak insülin sentezini arttırmaktadır. GİS' teki homeostasinin bozulması KZYA'ların azalmasına ve sonuç olarak Glukagon-like Peptide 1'in sekresyonunda da azalmaya sebep olur (37).

Yaşam tarzı, diyetler, coğrafik faktörler ve çevresel şartlar mikrobiyotayı etkileyip, mikrobiyotanın kompozisyonunu belirlemektedir. Ayrıca antibiyotiklerin gereksiz ya da aşırı kullanımı, GİS mikrobiyotasındaki mikrobiyomların azalmasına ya da yok olmasına sebep olmaktadır. Bu mikrobiyomların azalması sebebiyle birçok hastalık oluşabilmektedir. Bu çalışmada diyabetik bireylerde GİS florasında oluşan değişiklikler incelendi. Yapılan çalışmada, bakteriyolojik kültür identifikasyon işlemleri, gaitada gizli kan ve eşzamanlı olarak alınan serum örneklerinde glukoz ve HbA1C testleri çalışıldı. İstatistiksel analizler ile değerlendirme sonucunda diyabetik hastalarda, diyabeti olmayanlara göre *E. coli* gibi gram negatif ve bütirat üretmeyen bakterilerin yoğun olduğu ($p= 0,01$), buna karşın sayısal olarak bakteri çeşitliliğinin daha az olduğu ve bu hastalarda gizli kan pozitiflik oranının daha yüksek olduğu ($p= 0,01$) tesbit edildi. Ayrıca gastrointestinal rahatsızlıklara (%61) daha duyarlı oldukları görülmüştür. Diyabetli bireylerde gram-negatif bakterilerin artışı söz konusudur ($p=$

0,01). Bu artış inflamasyona ve bunun sonucunda da insülin hassasiyetini azaltarak tip 2 diyabetin oluşumuna neden olmaktadır. Çalışmamızda büyük bir ölçüde literatürde şu ana kadar yapılan çalışmalara benzer sonuçlara ulaşılmıştır.

Ayrıca eş zamanlı olarak yaptığımız çalışmamızda 100 DM hastasının 61'inde gastrointestinal rahatsızlıklarının olduğu, Non DM hastalarında ise 137 hastadan sadece 18'inde olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar diyabet ile GİS rahatsızlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ve diğer başka çalışmalar için de bir araştırma konusu olabileceğini göstermektedir.

Bu sonuçlar, metabolik hastalık riski ve etyopatogenezisinin belirlenmesinde mikrobiyotanın bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu durumda, daha önceden analiz edilmiş GİS mikrobiyotası kompozisyonuyla diyabet oluşumu geciktirilebilecek veya engellenebilecektir.

Bu konuda, bakteriyolojik kültür identifikasyonu işlemleriyle ilgili yapılmış literatürde sınırlı sayıda çalışmanın olması nedeniyle bu araştırma, bilimsel açıdan önem arz etmektedir. Diyabet gelişiminde birçok faktör etkilidir. Bu faktörlerle birlikte daha kapsamlı bir çalışma yapıp, daha geniş hasta grubunda ve farklı popülasyonlarda tekrarlanıp analiz edilmesi, bu çalışmanın doğruluğu açısından faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Manning MV. Assessment of Digestive and Gastrointestinal Function. In: Smeltzer SC, Bare BG, (ed). *Brunner & Suddarth's textbook of medical-surgical nursing*, 10th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2004, 938-57.
2. Sancak B, Akşit D, Cumhuri M. İçinde: Sancak B, Cumhuri M, (editörler). *Fonksiyonel Anatomi, Baş-Boyun ve İç Organlar*, 9. Basım. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.; 2015, 161-36
3. Ganong WF. *Gastrointestinal Function. Review of Medical Physiology*, 21th ed. USA: The McGraw-Hill Companies; 2003, 471-16.
4. Guyton AC, Hall JE. Gastrointestinal Fizyoloji. İçinde: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ (editörler). *Tıbbi Fizyoloji*, 11. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2007, 769-25.
5. Tai N, Wong FS, Wen L. The role of gut microbiota in the development of type 1, type 2 diabetes mellitus and obesity. *Rev Endocr Metab Disord* 2015;16(1):55-65.
6. Preston RR, Wilson TE. *Gastrointestinal System. Physiology*, 1th ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 2013, 377-10.
7. Walsh CJ, Guinane CM, O'Toole PW, Cotter PD. Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Letters*. 2014;588(22):4120-30.
8. Waugh A, Grant A. Sindirim Sistemi. İçinde: Sağlık Bilimleri için Ross ve Wilson Sağlıkta ve Hastalıkta Anatomi ve Fizyoloji, Kopuz C, (çeviri editörü). Ross and Wilson for Health Sciences Anatomy and Physiology in Health and Disease. 11. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2017, 278-28.
9. Guyton AC, Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, 14th ed. Amsterdam: Elsevier; 2021, 753-762.
10. Deniz M. Enterik Sinir Sistemi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;2: 41-36
11. Kuran S, Özın Y. Fonksiyonel GIS Hastalıklarında Visseral Hipersensitivite. *Güncel Gastroenteroloji* 2007;11(1):17-1.
12. Baykal Y. Enterik sinir sistemi ve hastalıklardaki rolü, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1999;19:40-7
13. Lewis SL, Dirken SR, Heitkemper MM, Bucher L. Gastrointestinal System. In: Harding MM (eds). *Medical Surgical Nursing: Assessment and Management of Clinical Problems*, 9th ed. Canada: Elsevier Mosby; 2014, 865-85.

14. Gürken VS. Tükürüğün Biyokimyası, İşlevleri ve Ağız Sağlığı Açısından Önemi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2005.
15. Chen J, Gaikwad V, Holmes M, Murray B, Povey M, Wang Y, Zhang Y. Development of a simple model device for in vitro gastric digestion investigation. *Food and Function* 2011;2:174-182.
16. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, 12th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 2010, 1091.
17. Başaran A. *Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı*, 7. Baskı. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2020, 187-210.
18. Keshaw S. *The Gastrointestinal System at a Glance*, 1thed. United Kingdom: Blackwell Science; 2004, 117.
19. Özden A. Gastro-intestinal sistem ve probiyotik-prebiyotik synbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji* 2005; 9(3): 124-133.
20. Gürsoy O, Kınık Ö, Gönen İ. Probiyotikler ve gastrointestinal sağlığa etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2005; 35: 136-148.
21. Arıcioglu F. Sindirim Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi. http://e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/tebakademi/pratik_ilac/3.pdf 26. 03. 11 Mart 2021.
22. Rogers K. *The Digestive System*, 15thed. New York: Britannica Educational Publishing; 2011, 67-74.
23. World Health Organization. Global report on diabetes. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565257>. 28 Mart 2021.
24. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. https://care.diabetesjournals.org/content/42/Supplement_1/S13. 18 Nisan 2021
25. Başaran Y. Diabetes Mellitus. İçinde: Aydoğan Ü, Koç B (editörler). *Temel Aile Hekimliği*, 1. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2016, 233-244.
26. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings* 2014;89:107-14.
27. Koenig JE, Spor A, Scalfone N. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011;108:4578-85.
28. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Medicine* 2016;8:51.

29. Sankar SA, Lagier JC, Pantarotti P. The human gut microbiome, a taxonomic conundrum. *Systematic and Applied Microbiology* 2015;38:276-86.
30. DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, et al. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clinic Proceedings* 2008;83:460-9.
31. Eilers H, Pernthaler J, Glockner FO, Amann R. Culturability and in situ abundance of pelagic bacteria from the North Sea. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66:3044–3051.
32. Tunçkanat FF. *Tıbbi Mikrobiyoloji Akıl Notları*, 1. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2018,43-113.
33. Marx T. *In Foods and Dietary Supplements in the Prevention and Treatment of Disease in Older Adults*, 1th ed. New York: Advances in Immunology; 2015,363-372.
34. Evren M., Apan M., Tutkun E., Evren S. Geleneksel Fermente Gıdalarda Bulunan Laktik Asit Bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* 2011;9:11-17
35. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annual Review of Nutrition* 2002;22:283-307.
36. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489:220-30.
37. Murphy EA, Velazquez KT, Herbert KM. Influence of high-fat diet on gut microbiota: a driving force for chronic disease risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2015;18:515-20.
38. Bozok T, Şimşek T, Kömür S, Ulu A. Normal mikrobiyal floranın insan sağlığı üzerine etkisi ve insan mikrobiyom projesi. *Archives Medical Review Journal* 2014;23(3):420-6.
39. Koca TT. Bağırsak mikroflorasının inflamatuvar hastalık patogeneziindeki yeri. *Archives Medical Review Journal* 2015;24(1):78-91.
40. Duman M, Çağlar A. Antibiyotiğe bağlı ishallerde probiyotiğin önemi. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi* 2017;7(1):1-7.
41. Salman T, Varol U, Yıldız İ, Küçükzeybek Y, Alacacioğlu A. Mikrobiyota ve kanser. *Acta Oncologica Turcica* 2015;48(2):73-8.
42. Alcock J, Maley CC, Aktipis CA. Is eating behavior manipulated by the gastrointestinal microbiota? Evolutionary pressures and potential mechanisms. *Bioessays* 2014;36(10):940-9

43. Harjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop PH. Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA*. 2013;310(4):427-8.
44. Vyshenska D, Lam KC, Shulzhenko N, Morgun A. Interplay between viruses and bacterial microbiota in cancer development. *Semin Immunol*. 2017; 32: 14–24.
45. Sirisinha S. The potential impact of gut microbiota on your health: current status and future challenges. *Asian Pacific Journal Allergy and Immunol* 2016;34(4):249-64.
46. Evrensel A, Ceylan ME. Bağırsak beyin eksen: psikiyatrik bozukluklarda bağırsak mikrobiyotasının rolü. *Current Approaches in Psychiatry* 2015;7(4):461-72.
47. Parashar A, Udayabanu M. Gut microbiota: implications in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders* 2017;38:1-7.
48. Unger MM, Spiegel J, Dillmann KU, Grundmann D, Philippeit H, Bürmann J. Short chain fatty acids and gut microbiota differ between patients with Parkinson's disease and age-matched controls. *Parkinsonism and Related Disorders* 2016;32:66-72.
49. Javetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Review of Medical Microbiology*, 7th ed. New York: Appleton and Lange;1987, 310-420.
50. Howard J. *Clinical and Pathogenic Microbiology*, 4th ed. Washington: The C.V. Mosby Company; 1987, 23-43
51. T.C Milli Eğitim Bakanlığı. Laboratuvar Hizmetleri.
http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/Besiyeri.pdf 14.06.2021
52. Gürsoy NF, Otlı B. Mikrobiyata Çalışmalarında Moleküler Tanı Yöntemleri. 378182 (dergipark.org.tr) 14.06.2021
53. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009;58 (8): 1091-103.
54. Zhang X, Shen D, Fang Z, et al. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One* 2013;8:71108.
55. Larsen, N., Vogensen, F.K., van den Berg, F.W., Nielsen, D.S., Andreasen, A.S., et al., Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5: 9085.
56. Sasaki, M., Ogasawara, N., Funaki, Y., Mizuno, M., Iida, A., Goto, C., Koikeda, S., Kasugai, K., Joh, T., Transglucosidase improves the gut microbiota profile of type 2 diabetes mellitus patients: a randomized double-blind, placebo-controlled study. *BMC Gastroenterol* 2013; 8: 13-81.
57. Gao Z, Yin J, Zhang J, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 2009;58:17-1509.

58. Qin J, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012; 490: 55–60.
59. Nadal I, Santacruz A, Marcos A, et al. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33 (7): 758-67.
60. Tetz G, Brown SM, Hao Y, Tetz V. Type 1 Diabetes: An association between autoimmunity, the dynamics of gut amyloid producing *E.coli* and their phages. *Scientific Reports*. 2019;9:9685
61. Kostic AD, Gevers D, Siljander H, et al. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host & Microbe*. 2015;17(2):260-273.
62. Madacki-Todorovic K, Eminovic I, Mehmedinovic NI, Ibrisimovic M. İnsülin, diyabete bağlı *Escherichia coli* patogenezinde uyarıcı ajan olarak hareket eder . *Int J Diabetes Clin Res* . 2018; 5 (4): 098.
63. Wang M, Monaco MH, Donovan SM. Impact of early gut microbiota on immune and metabolic development and function. *Semin Fetal Neonatal Med*. (2016) 21:380–7.
64. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology*. 2014; 146:1449–58.
65. Fassatoui M, Lopez-Siles M, Díaz-Rizzolo DA, Jmel H, Naouali C, Abdessalem G, et al. . Gut microbiota imbalances in Tunisian participants with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Biosci Rep*. 2019; 39(6): 21-63
66. Trowbridge B., Burt R.W. Colorectal cancer screening. *Surg Clin N Am*. 2002; 82:943-957.
67. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA. Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer? *Am J Gastroenterol*. 2011;106(11):21-1911
68. Larsson S.C., Orsini N., Wolk A. Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97:1679
69. Arslan E., Özçelik F., Demirbaş Ş. Obezite ile ilişkili kanser türleri. *Anatol J Clin Investig*. 2013;7(3):176-184.

70. Turan E., Yalçın B.M., Yücel İ., Unal M. İlk Kez Tanı Konan Kolorektal Kanser Hastalarının Epidemiyolojik Özellikleri, *Türk Aile Hekimliği Dergisi*, 2012;16(4):169-177.
71. Menteş B.B., Ege B., Üner A., Ünsal D., Yüksel O., Bostancı H., Oğuz M. Kolorektal kanserlerin tedavi sonuçları: tek merkezli, 200 vakalık seri. *Gazi Tıp Dergisi / Gazi Medical Journal*.2007;18(3):97-103.

