

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ROSACEA HASTALARINDA BAĞIRSAK MİKROBİYOMUNUN
METAGENOMİK DNA PROFİLİ**

UZMANLIK TEZİ

ARŞ. GÖR. KEREM YILMAZ

OCAK-2019



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ROSACEA HASTALARINDA BAĞIRSAK MİKROBİYOMUNUN
METAGENOMİK DNA PROFİLİ

UZMANLIK TEZİ

ARŞ. GÖR. KEREM YILMAZ

DANIŞMAN:

PROF. DR. MUSTAFA ALTINDIŞ

OCAK-2019

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 27/06/2018 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

.../.../...

Arş. Gör. Kerem YILMAZ

İmza

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa Altındış'e, uzmanlık eğitim sürecim ve tezimin her aşamasında sabır, hoşgörü ile bilgi, fikir ve tecrübelerini sunan değerli hocam Sayın, Prof. Dr. Mehmet Köroğlu'na, tezimin planlanmasından ve sonuçlanma aşamasına kadar olan süreçteki katkılarından dolayı Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'ndan Sayın, Dr. Öğr. Üyesi Bahar Sevimli Dikicier'e, Arş. Gör. Dr. Gülcan Yüksek'al'a, kliniğimizin uzmanlarına, asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz teknisyen ve personeline ve hayatım boyunca her zaman desteklerini yanımda hissettiğim sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Arş. Gör. Kerem YILMAZ

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	v
TABLolar	vi
ŞEKİLLER.....	vii
EKLER.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. ROSACEA TANIM	4
2.2. EPİDEMİYOLOJİ.....	5
2.3. PATOGENEZ	5
2.3.1. Genetik Predispozisyon	6
2.3.2. Reaktif Oksijen Radikallerine Maruziyet.....	7
2.3.3. Nörojenik İnflamasyon ve Vasküler Hiperreaktivite	7
2.3.4. Enfeksiyöz Etkenler	7
2.3.5. Anormal Doğal İmmün Yanıt ve Antimikrobiyal Peptidler.....	8
2.4. ROSACEA KLİNİĞİ	8
2.4.1. Rosacea Major Alt Tipleri	9
2.5. TANI	9
2.6. AYIRICI TANI	10
2.7. TEDAVİ.....	11
2.7.1. Yaşam Tarzı Değişikliği.....	11
2.7.2. Topikal Tedaviler	11
2.7.3. Sistemik Tedaviler.....	12
2.7.4. Cerrahi Tedaviler.....	12
2.7.5. Fototerapi.....	12

2.8. MİKROBİYOM	12
2.8.1. Disbiyozis ve Hastalıklar.....	13
2.8.2. Bağırsak-Beyin Etkileşimi	17
2.8.3. Bağırsak-Cilt Etkileşimi	18
2.8.4. Bağırsak Mikrobiyomunun Cilt Hemostazındaki Rolü.....	21
2.8.5. Disbiyozis ve Cilt Dishemostazisi.....	22
2.8.6. Mikrobiyom Analizleri	22
3. MATERYAL ve METOD	26
3.1. ETİK KURUL ONAYI	26
3.2. ÇALIŞMA GRUBU	26
3.3. FEKAL ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	27
3.4. FEKAL ÖRNEKLERİN BRİSTOL SKORLAMASI ve pH ÖLÇÜMÜ	27
3.5. GENETİK MATERYAL(DNA) İZOLASYONU	28
3.6. 16S rRNA SEKANS	28
3.7. BİYOİNFORMATİK ANALİZ	29
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	29
4. BULGULAR	31
4.1. GÖNÜLLÜLERİN YAŞ/CİNSİYET DAĞILIMI.....	31
4.2. BRİSTOL SKORLAMASI SONUÇLARI	31
4.3. GAİTA pH SONUÇLARI	32
4.4. 16S rRNA SEKANS ANALİZLERİ.....	32
4.5. ENTEROTİP ANALİZLERİ	37
4.6. BESLENME ŞEKİLLERİ.....	37
4.7. İSTATİSTİK ANALİZLERİ.....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
KAYNAKLAR	50
EK 1. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı	65
EK 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	66
EK 3. Mini Anket Formu	67
ÖZGEÇMİŞ	68

KISALTMA VE SİMGELER

ER	Eritema Telenjektazik Rosacea
PR	Papülopüstüler Rosacea
FR	Fimatöz Rosacea
OR	Oküler Rosacea
UV	Ultraviyole
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
TLR	Tolllike Reseptör
AMP	Antimikrobiyal Peptid
NRSEC	Amerikan Ulusal Rosacea Topluluğu Uzman Komitesi
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
DLE	Diskoid Lupus Eritematozus
GIS	Gastrointestinal Sistem
HMP	İnsan Mikrobiyom Projesi
SCFA	Kısa Zincirli Yağ Asidi
ENS	Enterik Sinir Sistemi
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>
<i>P. acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
rRNA	Ribozomal RNA
OTU	Operasyonel Taksonomik Üniteler
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
İBS	İrritabl Bağırsak Sendromu
SIBO	Small Intestinal Bacterial Overgrowth

TABLULAR

Tablo 1. Rosacea alt tipleri ve öne çıkan özellikleri

Tablo 2. Rosacea evreleri

Tablo 3. İntestinal mikrobiyom kompozisyonundaki değişiklikler ve ilişkilendirildiği bazı hastalıklar

Tablo 4. Dizileme sistemleri ve özellikleri

Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin yaş/cinsiyet dağılımı

Tablo 6. Bristol skorlaması sonuçları

Tablo 7. Gaita pH farklılıkları

Tablo 8. İki grup arasında filum bazında ortalama bolluk yüzdeleri

Tablo 9. Gönüllülerin beslenme şekilleri

ŞEKİLLER

Şekil 1. Disbiyotik ve sağlıklı GİS mikrobiyomu

Şekil 2. Mikrobiyota-bağırsak-beyin etkileşimi

Şekil 3. Bağırsak-cilt aksı

Şekil 4. Bristol dışkı skalası

Şekil 5. Filum bazında sekans analiz sonuçları

Şekil 6. Cins bazında sekans analiz sonuçları

Şekil 7. Tür bazında sekans sonuçları

Şekil 8. Beta çeşitlilik sonuçları

Şekil 9. PD ile alfa çeşitlilik sonuçları

Şekil 10. Shanon indeksi ile alfa çeşitlilik sonuçları

Şekil 11. Rosacea tanılı ve sağlıklı gönüllülerde öne çıkan mikroorganizmalar

Şekil 12. Rosacea tanılı hastalarda yüksek oranda saptanan bir mikroorganizma analiz örneği

Şekil 13. Sağlıklı gönüllülerde yüksek oranda saptanan bir mikroorganizma analiz örneği

EKLER

Ek 1. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı

Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Ek 3. Mini Anket Formu



ÖZET

Giriş ve Amaç: Yeni nesil sekans analiz sistemlerinin kullanıma girmesi ile bağırsak mikrobiyomunun hemen hemen tamamını tespit etme olanağı sağlandığı için, mikrobiyomun öneminin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyomu diyabet, hipertansiyon, depresyon gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Aynı şekilde diğer vücut bölgeleri için de kullanılan bu ileri teknoloji akne vulgaris, sedef hastalığı ve atopik dermatit gibi bazı dermatolojik hastalıkların patogenezi ortaya koymak için de kullanılmıştır. Dermatolojik hastalık mekanizmaları sadece deri mikrobiyomundan değil, aynı zamanda bağırsak mikrobiyomundan da etkilenmektedir. Kronik inflamatuvar bir dermatoz olan rosacea hastalığının patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olup, tanısı klinik olarak konulabilmektedir. Bu çalışmanın amacı; rosacea hastalığı ile bağırsak mikrobiyomu arasındaki ilişkileri belirleyerek rosacea patogenezi ışık tutmak, yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarına yardımcı olmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bilinen bir sistemik ve / veya dermatolojik hastalığı olmayan, 18-49 yaş aralığında olan, en az 4 hafta ve daha kısa süre antibiyotik, proton pompası inhibitörü ve / veya probiyotik, prebiyotik kullanmamış olan 20 rosacea tanılı gönüllü hasta ve aynı şartları taşıyan 10 sağlıklı gönüllü bu çalışmaya dahil edilmiştir. Gönüllülere ilaç kullanımı dışında beslenme alışkanlıkları, sigara, alkol kullanımı sorularını kapsayan mini bir anket uygulanmıştır. Hastalardan steril olan numune kapları ile, taze gaita örneği hastane şartlarında alınmıştır. Tüm örneklerde Bristol dışkı skorlaması yapılmıştır. Toplanan gaita örneklerinden indikatör şeritleri ile (Merck, NJ, ABD) pH ölçümleri sonrası hasta ve kontrol grubundan alınan yaklaşık 1gram gaita örnekleri, stabilizasyon tamponuna (DNA/RNA Shield™ Collection Tube, Zymo Research, CA, ABD) konularak -20°C'de birkaç gün saklanmıştır. Daha sonra nükleik asit izolasyonu (ZymoBIOMICS DNA Mini kiti, Zymo Research, CA, ABD) yapılmıştır. Bakteriyel 16S ribozomal RNA (rRNA) geni hedef dizilemesi, universal bakteri 16S primerleri 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesini hedefleyen 341f (CCTACGGGNGGCWGCAG) ve 805r

(GACTACHVGGGTATCTAATCC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Final kütüphane Illumina MiSeq ile oluşturulmuştur. Uygun amplikon dizi tanımları ve düzenlemeleri yapılarak takson ve numunelerin hiyerarşik kümelenmesiyle taksonomik haritalar hazırlanmıştır. Biyoinformatik işlemlerden sonra istatistiksel analizler yapılmıştır (LefSe). Varsayılan ayarlarla ($p < 0.05$ ve LDA etki boyutu > 2) gruplar arasında önemli farklılık gösteren taksonlar belirlenmiştir.

Bulgular: Rosacea tanılı hastaların, kontrol grubu olan sağlıklı gönüllülere göre gaita pH ortalamaları ve Bristol skorları daha yüksek bulunmuştur. 16S rRNA sekans analizleri sonuçlarına göre rosacea tanılı hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre düşük alfa çeşitlilik ve beta çeşitlilikte farklılık görülmüştür.

Metagenomik DNA analizleri sonuçlarına göre rosacea hastalarında; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* ve *Roseburia intestinalis* daha yüksek oranda, sağlıklı gönüllülerde ise *Prevotellaceae*, *Prevotella copri*, *Coriobacteriaceae*, *Desulfovibrio*, *Ruminococcaceae*, *Ruminococcus*, *Clostridiales*, *Clostridiales* Family 13, *Selenomonadales*, *Succinivibrio*, *Hungatella*, *Mollicutes*, *Butyricimonas virosa*, *Alisities*, *Oscillospira* ve *Erysipelotrichaceae* gibi cins, tür, aile, takım bazında etkenler istatistiki olarak daha yüksek oranda saptanmıştır.

Sonuç: Rosacea hastalığı ile bağırsak disbiyozisi arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada sağlıklı gruba göre rosacea hastalarında; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* ve *Roseburia intestinalis* daha yüksek oranda, *Prevotellaceae*, *Prevotella copri*, *Coriobacteriaceae*, *Desulfovibrio*, *Ruminococcaceae*, *Ruminococcus*, *Clostridiales*, *Clostridiales* Family 13, *Selenomonadales*, *Succinivibrio*, *Hungatella*, *Mollicutes*, *Butyricimonas virosa*, *Alisities*, *Oscillospira* ve *Erysipelotrichaceae* daha düşük oranda içerdiği tespit edilmiştir. Ancak literatürde rosacea ve bağırsak mikrobiyomu ile yapılmış çok az çalışma (sadece bir çalışmaya ulaşılabilmektedir) olduğu için öne çıkan mikroorganizmaların anlamlandırılabilmesi için daha çok sayıda ve daha fazla örnekleme sahip çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Rosacea, bağırsak mikrobiyomu, 16S rRNA, *Roseburia*, yeni nesil sekans

SUMMARY

Introduction and Aim: The introduction of the new generation of sequence analysis systems allows for better understanding of the importance of the microbiome, as it is possible to detect almost all of the intestinal microbiome. In the studies, intestinal microbiome is associated with many diseases such as diabetes, hypertension and depression. This advanced technology, which is also used for other body areas, has also been used to demonstrate the pathogenesis of some dermatological diseases such as acne vulgaris, psoriasis and atopic dermatitis. Dermatological disease mechanisms are not only affected by skin microbiome but also by intestinal microbiome. The pathophysiology of rosacea disease, a chronic inflammatory dermatosis, has not been fully elucidated and its diagnosis can be made clinically. The aim of this study is; To determine the relationship between rosacea disease and intestinal microbiome, to shed light on the pathogenesis of rosacea and to help the new diagnosis and treatment approaches.

Material and Method: 20 volunteers with rosacea with no known systemic and / or dermatological disease, aged between 18-49 years, who had not used antibiotics, proton pump inhibitors and / or probiotics, prebiotics for at least 4 weeks or less, and 10 healthy volunteers with the same conditions was included in the study. A mini questionnaire including questions not only about drug use but also about diet, smoking and alcohol use was applied to the volunteers. Fresh stool samples were taken from patients in samples vessels under sterile hospital conditions. All samples were applied Bristol stool scoring. After the pH measurements of the collected stool samples (Merck, NJ, USA), approximately 1 g stool samples taken from the patient and control groups were placed in the stabilization buffer (DNA / RNA Shield™ Collection Tube, Zymo Research, CA, USA) at -20°C for a few days. Nucleic acid isolation (ZymoBIOMICS DNA Mini kit, Zymo Research, CA, USA) was then performed. Bacterial 16S ribosomal RNA (rRNA) gene target sequencing was performed using the 341f (CCTACGGGNGGCWGCAG) and 805r (GACTACHVGGGTATCTAATCC), targeting the V3-V4 region of the 16S rRNA

gene of the universal bacteria 16S primers. The final library was created with Illumina MiSeq.

Taxonomical maps were prepared by hierarchical clustering of taxa and samples by making appropriate amplicon array definitions and regulations. After bioinformatics, statistical analyzes were performed (LefSe). With the default settings ($p < 0.05$ and LDA effect size > 2) taxa which are significantly different were determined between groups.

Results: Patients with rosacea were found to have higher stool pH averages and Bristol scores than healthy volunteers in the control group. According to the results of 16S rRNA sequence analysis, in patients with rosacea, there was low alpha diversity and there was difference in beta diversity compared to healthy control group.

According to the results of metagenomic DNA analysis; in rosacea patients; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* and *Roseburia intestinalis* were found at a higher rate, in healthy volunteers *Prevotellaceae*, *Prevotella copri*, *Coriobacteriaceae*, *Desulfovibrio*, *Ruminococcaceae*, *Ruminococcus*, *Clostridiales*, *Clostridiales Family 13*, *Selenomonadales*, *Succinivibrio*, *Hungatella*, *Mollicutes*, *Butyricimonas virosa*, *Alisitipes*, *Oscillospira* and *Erysipelotrichaceae*, factors on the basis of genus, species, family and order, were found to be statistically higher.

Conclusion: There was a relationship between rosacea disease and intestinal dysbiosis. In this study, in rosacea patients according to healthy group; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* and *Roseburia intestinalis* at a higher rate. However, in the literature there is a need for more studies with more and more sampling in order to make sense of the microorganisms that stand out because there are very few studies done with rosacea and intestinal microbiome (only one study has been achieved).

Keywords: Rosacea, gut microbiome, 16S rRNA, *Roseburia*, next generation sequencing



GİRİŞ VE AMAÇ

Rosacea, popülasyonun yaklaşık % 10'unu etkileyen yaygın bir kronik inflamatuvar dermatozdur. Semptomları genellikle, alevlenme ve gerileme dönemleri arasında dalgalanan, çeşitli kombinasyonlarda ve ciddiyette bulunur (Tan et al. 2016). Morfolojik özelliklere dayanarak, rosacea genellikle dört ana alt tipe ayrılır: eritema telenjektazik, papülopüstüler, fimatöz ve oküler (Wilkin et al. 2002). Eritema telenjektazik rosacea, geçici bir yüz eritemiyle (kızarma) karakterize olup, persistan sentrofasiyal eritemin bir arka planı ile kombine edilir ve telenjektazi çoğu hastada da mevcuttur. Klinik tanı açık tenli bireylerde daha zor olmaktadır. Papülopüstüler rosacea, merkezi yüz eriteminin değişken yoğunluğu ve değişken sayıda küçük eritematöz papül ve püstül ile kendini gösterir. Fimatöz rosacea en sık olarak burnu (rinophyma) etkiler ve sebace bezlerin deri kalınlaşması ve hiperplazisi olarak tezahür eden doku hipertrofisi ile ortaya çıkar. Oküler rosacea semptomları ise kuruluk, kaşıntı gibi spesifik olmayan şikayetlerden oluşur (Akpek et al. 1997, Addor 2016, Holmes and Steinhoff 2017, Two et al. 2015). Hastalığın kliniğe yansımada, hastalar sıklıkla birden fazla rosacea alt tipinin morfolojik özelliklerine sahiptir ve yanma, batma ve kaşıntı ile artmış duyarlılıktan şikayet etmektedirler (Wilkin et al. 2002). Etiyolojisinde çeşitli çevresel uyarıcı ve endojen faktörlerin artması, doğuştan gelen immün yanıtı ve anormal nörovasküler sinyali uyardığı gösterilmiş olsa da klinik formların çeşitliliği rosaceanın patofizyolojisinin tam olarak anlaşılmasına neden olmaktadır (Holmes and Steinhoff 2017, Two et al. 2015).

İnsan gastrointestinal sisteminde, bağırsaklarda kolonileşen binden fazla farklı türden oluşan 100 trilyondan fazla bakteri vardır (D'Argenio and Salvatore 2015, Moschen et al. 2012). Bağırsak mikrobiyomunda bulunan organizmaların büyük bir kısmı iki filuma aittir: *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* (Ahmad and Akbar 2016). Bağırsak içinde bakteri popülasyonlarının yoğunluğu anatomik konuma göre değişir. Örneğin gram

başına yaklaşık 10^{11-12} CFU'ya sahip olan kolon ile karşılaştırıldığında, proksimal ileum ve jejunumda gram başına yaklaşık 10^{2-3} koloni bakteri bulunmaktadır. Yani kolon tek başına vücudumuzdaki mikroorganizmaların %70'inden fazlasını barındırmaktadır (Jones 2016). Bağırsak mikrobiyomu kişiden kişiye farklılıklar göstermekle birlikte nispeten stabildir, ancak çalışmalar antibiyotik tedavisinin, uluslararası seyahat ve hastalığın normal bağırsak mikrobiyomunu değiştirebileceğini göstermiştir. Bunun yanı sıra yaş, cinsiyet, diyet, doğum şekli gibi birçok parametre mikrobiyomu etkilemektedir (Moschen et al. 2012).

Bağırsak mikrobiyomunun insan sağlığı ve hastalığının önemli bir belirleyicisi olarak rolü, tıp alanında heyecan verici bir araştırma alanı olarak yakın bir geçmişte ortaya çıkmıştır. Bağırsak mikrobiyomunda dengesizlik obezite, tip 2 diyabet, atopi ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Bağırsak mikrobiyomu ile deri hastalıkları patogenezi arasındaki dengede yeni yeni araştırılmaya ve keşfedilmeye başlamıştır. Bağırsak mikrobiyomu; geniş bir bakteri topluluğu, onların metabolitleri ve yan ürünlerinden oluşmaktadır (Bull and Plummer 2014). Ek olarak, deri ve bağırsak, nöro-immüno-endokrin organlar olarak işlev görür ve sinir sistemi, bağışıklık sistemi ve endokrin sistemi ile temel iletişimde yer alır. “Beyin-bağırsak eksenini” literatürde kapsamlı bir şekilde belgelenmiştir ve ilk olarak 1930 yılında Stokes ve Pillsbury depresyona bağırsak mikrobiyomunu değiştirmeye ve inflamatuvar cilt hastalıklarına yol açtığı zaman tanımlanmıştır (Bowe and Logan 2011). Bağırsak mikrobiyomu, sinir fonksiyonlarıyla cilt fonksiyonunu modüle edebilen strese ve diğer dış uyaranlara tepki olarak nörotransmitter maddeler üretebilmektedir. Örneğin, bağırsaktaki komünal organizmalar norepinefrin, serotonin ve asetilkolin üretebilir veya yakın enteroendokrin hücrelerden nöropeptitlerin salınımını uyarabilir. Bu nörotransmitterler bağırsak epitelyumunu aşip kan dolaşımına geçebilir ve sistemik etkilere neden olabilirler (Lyte 2014, Rea et al. 2016). Nörotransmitterlerin yanı sıra, bağırsak mikrobiyomu da propionik asit, bütirik asit, asetik asit ve diyetle alınan polisakkarit fermantasyonundan elde edilen laktik asit dahil olmak üzere kısa zincirli yağ asitleri (Short chain fatty acids-SCFA) salgılar. Bu SCFA'ların büyük çoğunluğu kalın bağırsakta üretilir. Kolon, yağ asitlerinin geri emilmesinde yüksek oranda etkilidir. Bu metabolitlerin ve nörotransmitterlerin bağırsak mikrobiyomu tarafından üretilip, kan dolaşımında klinik

olarak anlamlı seviyelere ulaşarak cildi etkileyebileceği düşünülmektedir (O'Neill et al. 2016). Ayrıca yapılan çalışmalar ile rosacea, sedef hastalığı ve atopik dermatit gibi çeşitli inflamatuvar cilt hastalıklarında eşzamanlı bağırsak ve deri mikrobiyom disbiyozis durumu gözlenmiştir (Gallo and Nakatsuji 2011).

Her ne kadar insan mikrobiyomuna ait çalışmaların çok eski bir geçmişi olmasa da son zamanlarda mikrobiyom araştırmak için metogenomik ve ekonomik olarak uygun pek çok yöntem geliştirilmiştir. Böylece mikrobiyal organizmaların insan vücudu için önemini anlamak kolaylaşmış, bağırsak mikrobiyotasının obezite, kalp-damar hastalıkları, DM gibi hastalıklarla ilişkisi daha çok belirginleşmiştir (Bull and Plummer 2014). Bu ileri teknoloji, akne vulgaris, sedef hastalığı ve atopik dermatit gibi bazı dermatolojik hastalıkların patogenezi ortaya koymak için de kullanılmıştır (Gallo and Nakatsuji 2011). Dermatolojik hastalıklar sadece deri mikrobiyotasından değil, aynı zamanda bağırsak mikrobiyotasından da etkilenmektedir. 2008 yılında Parodi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada rosacea hastalarının ince bağırsakta bakteri sayısındaki aşırı artışın (SIBO: Small Intestinal Bacterial Overgrowth) kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca SIBO'nun ortadan kaldırılması ile kutanöz lezyonlar neredeyse tamamen gerilemiş ve bu mükemmel sonuç 9 ay korunabilmiştir (Parodi et al. 2008). Nam ve arkadaşlarının rosacea ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiyi incelemek için Koreli hastalarla yaptığı diğer bir çalışmada ise rosacea hastalarının bağırsak florasındaki mikrobiyota yoğunluğunun kontrol grubu ile benzer, bileşiminin ise farklı olduğu gösterilmiştir (Nam et al. 2018).

Prevelansı yaklaşık %10 olan ve hastaların yaşam kalitesi üzerine büyük bir olumsuz etki yapan rosacea hastalığının tanı ve tedavi seçenekleri sınırlıdır ve çoğunlukla geleneksel tedaviye dirençlidir. Mevcut literatür verileri rosacea ve bağırsak mikrobiyomu ilişkisi için henüz hazırlık aşamasında olup, net bir cevap verememektedir. Bu uzmanlık tezi çalışmasının amacı; rosacea hastalığı ile bağırsak mikrobiyomu arasındaki ilişkileri belirleyerek rosacea patogenezi ışık tutmak, yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarına yardımcı olmaktır. Bunun için rosacea tanılı hastaların bağırsak mikrobiyomu ile sağlıklı gönüllülerin bağırsak mikrobiyomu arasında farklılık olup olmadığı, varsa öne çıkan mikroorganizmaların hangileri olduğu araştırılmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ROSACEA TANIM

Rosacea, popülasyonun yaklaşık % 10'unu etkileyen, etiyojisi tam olarak bilinmeyen yaygın bir kronik inflamatuvar dermatozdur. Semptomlar, genellikle alevlenme ve gerileme dönemleri arasında dalgalanan, çeşitli kombinasyonlarda ve ciddiyette bulunur (Tan et al, 2016). Rosacea, 30 ile 50 yaş arasındaki bireyleri etkiler ve ağırlıklı olarak kadınları etkileme eğilimi gösterir (Powell 2005, Steinhoff et al. 2013).

Morfolojik özelliklere dayanarak, rosacea genellikle dört ana alt tipe ayrılır: eritema telenjektazik (ER), papülopüstüler (PR), fimatöz (FR) ve oküler (OR) (Wilkin et al. 2002, Wilkin et al. 2004). Günlük klinik uygulamada, hastalar genellikle birden fazla rosacea alt tipinin morfolojik özelliklerine sahiptir ve hastalar yanma, batma, kaşıntı semptomları ile yüzdeki cildin artan hassasiyetinden şikayet etmektedirler (Wilkin et al. 2004). Klinik formların çeşitliliği rosacea patofizyolojisinin anlaşılmasını zorlaştırmıştır. Çeşitli çevresel uyarıcı ve endojen faktörlerin artmış doğal immün yanıtı ve anormal nörovasküler sinyali uyardığı gösterilmiştir (Yamasaki and Gallo 2009, Steinhoff and Bergstresser 2011, Steinhoff et al. 2013, Two et al. 2015).

Hastalar genellikle kızarıklık ve hassas cilt şikayetleriyle başvurur. Rosacea'nın tanısı için, yüzün dışbükey bölgelerinde yoğunlaşan birincil özelliklerden bir veya daha fazlası gereklidir. Birincil özellikler; kızarma (geçici eritem), transdermal eritem, papül ve püstül ve telenjektazidir. İkincil özellikler arasında yanma veya batma, ödem, plaklar, kuru görünüm, oküler bulgular, periferik lokasyonlar ve fimatöz değişiklikler yer alır (Culp and Scheinfeld 2009).

Klinik özelliklerinin akneye çok benzemesi nedeni ile erişkin aknesi veya akne rosacea gibi isimler de verilmekle birlikte rosacea; halk arasında sıklıkla ‘gülleme’ veya ‘gül hastalığı’ olarak adlandırılmaktadır (<http://www.http://turkdermatoloji.org.tr>), (Erişim tarihi: 10 Ağustos 2018).

2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Rosacea; sıklıkla 30-50 yaşları arasında ortaya çıkan, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın prevalansı ile ilgili literatür bilgisi oldukça değişken olup, erişkin popülasyonda bu oran %1-20 arasında bildirilmiştir. (Blount and Pelletier 2002, Powell 2005, Wollina 2011). Rosacea alt tipleri arasında en sık ETR ardından PPR'nin görüldüğü, FR'nin ise çok daha nadir görüldüğü bildirilmiştir. (Barco and Alamor 2008).

Rosacea, kuzey ve batı Avrupa kökenli insanlarda daha yaygındır. Hastalık diğer etnik kökenlerde daha az görülür (Halder et al. 2003). Rosacea genellikle 20'li yaşlarındaki hastalarda kızarıklık olarak kendini gösterir, 30'lu yaşlarında hastalar için zahmetli hale gelir ve daha sonra ilerlemeye devam edebilir (Berg and Liden 1989).

Rosaceade; cinsiyet dağılımı konusunda da farklı bildirimler vardır: kadın/erkek hasta oranı 1/1 - 3/1 olarak bildirilmiştir (Blount and Pelletier 2002, Barco and Alamor 2008, Elewski et al. 2011, Tüzün et al. 2014). Pediatrik rosacea henüz iyi tanımlanmamış bir durumdur ve kızarma ve eritemi ‘sağlıklı bir parıltı’ olarak tanımlama eğiliminden dolayı büyük olasılıkla vakalar rapor edilmemektedir (Kroshinsky and Glick 2006).

2.3. PATOGENEZ

Rosacea'nin patofizyolojisinde yer alan moleküler mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır ve genetik bir predispozisyona sahip multifaktöriyel etiyojisi muhtemeldir. Mikroorganizmalar, ultraviyole (UV) radyasyon, beslenme, aşırı sıcaklıklar, deri bariyer yapısında bozulma, psikososyal stres ve hormonlar gibi tetikleyicilerin, artmış doğal bağışık yanıtı ve/veya nörovasküler düzensizliği

uyarabileceğine dair kanıtlar vardır (Elewski et al. 2011, Steinhoff et al. 2013, Del Rosso et al. 2013).

Hastalık için bazı tetikleyici faktörler: (Cohen and Tiemstra 2002, Barco and Alamor 2008, Yamasaki and Gallo 2009, Erdem and Metin 2012, Chauhan and Ellis 2013, Steinhoff et al. 2013, Tüzün et al. 2014).

- Sıcak/soğuk/rüzgarlı hava şartları
- Güneşe maruziyet
- Deri veya gastrointestinal sistem içinde bulunan mikroorganizmalar (*Demodex folliculorum*, *Helicobacter pylori*, enfeksiyon, bakteriyel enfeksiyonlar)
- Çikolata / peynir / kuruyemiş / acı-baharatlı gıda tüketimi
- Alkol tüketimi
- Sigara
- Menapoz / Menstürasyon
- İlaçlar : amiodaron, topikal kortikosteroidler, bazı vitaminler
- Bazı kozmetik ürünler ve cilt bakım ürünleri
- Yorucu egzersiz
- Emosyonel stres

Rosacea patogenezinde önemli rolü olduğu düşünülen başlıca mekanizmalar şunlardır:

2.3.1. Genetik Predispozisyon

Ailesinde rosacea öyküsü olan bireylerde rosacea gelişme olasılığının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Abram et al. 2010). Yakın zamanda yapılan genomik ilişki çalışmaları ile, üç insan lökosit antijeni (HLA) alleli ve iki tek nükleotid polimorfizminin rosacea ile ilişkili olduğunu belirlenmiştir (Nicholson et al. 2007). Ayrıca rosacea ilişkili HLA genleri, tip I diabetes mellitus ve çölyak hastalığı da dahil olmak üzere, otoimmün hastalıklara olan bağlantılara sahiptir (Rainer et al. 2017).

2.3.2. Reaktif Oksijen Radikallerine Maruziyet

Reaktif oksijen radikalleri, oksidatif doku hasarına yol açabilen moleküllerdir. Bu radikallerin rosacea ile ilişkili inflamatuvar yanıtta merkezi bir role sahip olduğu varsayılmaktadır. Rosacea hastalarına ait deri örneklerinde kontrollerle karşılaştırıldığında yüksek düzeyde reaktif oksijen radikallerinin bulunduğu saptanmıştır. Reaktif oksijen radikallerinin rosacea hastalarının cildinde meydana getirdiği inflamasyon mekanizması şu şekilde açıklanabilir; reaktif oksijen radikalleri ile ortaya çıkan aşırı oksidatif stres doğal savunma mekanizmalarını deaktive eder. Bu deaktivasyon sonrasında bu radikaller protein ve lipidlerin oksidatif ve kimyasal modifikasyonuna yol açar. Bunun sonucunda rosacea hastalarında görülen lipid değişimi meydana gelmiş olur.(Erbağcı 2005, Fimmel 2008, Jones 2009, Yamasaki and Gallo 2009, Erdem and Metin 2012.).

2.3.3. Nörojenik İnflamasyon ve Vasküler Hiperreaktivite

Kutanöz nörobiyoloji kavramı, cildi sinir, bağışıklık ve endokrin sistemi ile birbirine bağlayan yakından ilişkili mono ve/veya çift yönlü yolların kompleks bir ağını içerir. Bu ağ, hücrel gelişim, büyüme, farklılaşma, vasoregülasyon ve immünolojik süreçler ve lökosit alımı veya nörojenik iltihaplanma gibi çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonları düzenler (Peters et al 2006, Arck et al. 2006, Zouboulis 2009, Peters 2016). UV radyasyonu, mikrobiyal antijenler, travma, duygusal stres, endojen hormonlar dahil olmak üzere, bu etkenlerin rosacea hastalarında nörotransmitterlerin salınımını teşvik edebilmektedir. Bu da vazodilatasyona, kızarmaya ve artmış cilt duyarlılığına, batma, kaşıntıya ve daha düşük ağrı eşiğine katkıda bulunabilir (Steinhoff et al. 2013, Salzer et al. 2014).

2.3.4. Enfeksiyöz Etkenler

Demodex türlerinin rosacea patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalar *Demodex* türlerinin, burun ve yanaklar da dahil olmak üzere rosaceadan etkilenen deri bölgelerinde tercihli olarak bulunduğunu ileri sürmektedir (Bonnar et al 1993). Araştırmalar ayrıca *Demodex* antijenlerinin rosacea hastalarında yardımcı

indükleyici T hücre infiltratlarının immün yanıtı ile sonuçlandığını düşündürmektedir. Bunun yanı sıra *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Chlamydia pneumoniae* gibi diğer mikroorganizmaların rolünü gösteren tartışmalı çalışmalar da vardır (Lazaridou et al. 2011).

2.3.5. Anormal Doğal İmmün Yanıt ve Antimikrobiyal Peptidler

Doğal (özgül olmayan) bağışıklık sistemi, epitelyal yüzeyleri enfeksiyona, fiziksel veya kimyasal travmaya karşı korur. Sistemde tolllike reseptörler (TLR'ler) mikrobiyal bileşenlere, kimyasal ve fiziksel travmaya cevap vermektedir. TLR aktivasyonu, antimikrobiyal peptitlerin (AMP'ler) salgılanması dahil anti-patojen sinyal kaskadlarının indüksiyonuna yol açar. AMP'ler; doğal immün sistemin önemli bir parçası olarak vücut yüzeyinin patojenlere karşı, spesifik olmayan korunmasında rol oynayan peptitlerdir (Meylan et al. 2006, Fimmel et al. 2008, Yamasaki and Gallo 2009, Erdem and Metin 2012). Çalışmalar göstermektedir ki; TLR ailesinin bir üyesi olan TLR2, rosacea cildinde yüksek oranda eksprese edilmektedir. Bu artış ekstrinsik uyarılara karşı artan TLR2 aktivasyonu ile ilişkilidir (Schauber and Gallo 2008, Yamasaki and Gallo 2009). Bu bulguyla benzer şekilde rosacea hastalarında, cathelicidin AMP'inin ve onun aktif formu olan LL-37'ye ayrılmasından sorumlu baskın bir serin proteaz olan kallikrein KK5'in ekspresyonunda artmış olmaktadır (Yamasaki et al. 2007, Yamasaki and Gallo 2009). Lökosit kemotaksisi, anjiyogenezin teşviki ve NF-kB'nin aktivasyonu gibi LL-37 ile indüklenen etkiler, fasiyal eritem, telenjiektaziler ve papüller ve püstüller gibi rosaceanın morfolojik özellikleri ile ilişkilidir (Yamasaki et al. 2007, Two et al. 2015).

2.4. ROSACEA KLİNİĞİ

Hastalar genellikle yanma, kızarma ve hassas cilt şikayetleriyle başvururlar. Tanıdan önce bu semptomlardan habersiz olabilirler, ancak rosaceayı indükleyen veya şiddetlendiren çeşitli tetikleyiciler veya faktörler mevcuttur (Pray and Pray 2004.). Rosacea öncelikle yanak, burun, alın ve çene gibi yüzün merkez bölgelerini etkiler. Hastada eritem, yüz kızarması, papül, püstül ve telenjiektazi görülür (Elewski et al. 2011 Schlesinger and Powell 2013). Hasta ayrıca cildin şişmesi ve pürüzlülüğünden, batma veya yanma hissinden de şikayet edebilir. Rosacea, hastanın yaşam kalitesinin

azalmasına neden olan şekil bozucu etkilere sahip olabilir (Powell 2005, Elewski et al. 2011).

2.4.1. Rosacea Major Alt Tipleri

2002 yılında, Amerikan Ulusal Rosacea Topluluğu Uzman Komitesi (NRSEC) tarafından rosacea 4 alt tipe sınıflandırılmıştır (Tablo 1) (Wilkin et al. 2002, Crawford et al. 2004, Norwood and Norwood 2007).

Tablo1. Rosacea alt tipleri ve öne çıkan klinik özellikleri

Alt tip	Klinik Özellik
Eritema telenjektazik Rosacea	10 dakikadan uzun süreli kızarma Yanma, batma, kızarıklık Kalıcı eritem Telenjektaziler
Papülopüstüler Rosacea	Kalıcı eritem ve ödem Yüzün merkezi bölgelerinde küçük aşındırıcı püstüller Küçük, kubbe şeklindeki eritematöz papüller Fimatöz değişiklikler
Fimatöz Rosacea	Düzensiz yüzey kontürleri ile cildin kalınlaşması Burun, çene, alın, göz veya göz kapaklarını etkiler
Oküler Rosacea	Gözde yanma, batma ve kaşınma hissi Işığa hassasiyet Yabancı cisim hissi Blefarit Konjonktivit

2.5. TANI

NRSEC tarafından 2002 yılında yayınlanan raporda rosacea için primer ve sekonder belirtiler tanımlanmış, primer veya sekonder belirtilerden en az birinin varlığı tanı için yeterli bulunmuştur (Wilkin et al. 2002, Wilkin et al. 2004).

Rosacea'nın teşhisi için, yüzün dışbükey bölgelerinde yoğunlaşan aşağıdaki primer belirtilerden bir veya daha fazlası gereklidir: kızarıklık (geçici eritem), transdermal eritem, papül ve püstül ve telenjektazi. Sekonder belirtiler arasında yanma veya batma, ödem, plaklar, kuru görünüm, oküler bulgular, periferik lokasyonlar ve fiematöz değişiklikler yer alır (Culp and Scheinfeld 2009).

Bunun yanı sıra bazı klinisyenler rosaceanın uygun tanı ve tedavisini belirlemek için evreleme kullanmaktadır (Tablo 2) (Pray adn Pray 2004, Crawford et al. 2004).

Tablo2. Rosacea evreleri

Pre-rosacea	Kızarıklık İrritasyon
Evre 1	Geçici eritem Hafif telenjektaziler Artmış hassasiyet
Evre 2	Kalıcı ve yayılan eritem Endema, papül, püstül Büyümüş gözenekler Oküler değişiklikler
Evre 3	Doku hiperplazisi, fibroplaziler Büyük inflamatuvar nodüller ve furonkül Rinofima

Rosacea için spesifik tanısal bir test yoktur. Rosaceanın tanısı, hastanın ortaya koyduğu belirtiler ve semptomlarla konur, çoğu dermatolojik rahatsızlıklar benzer semptomlara sahip olduğundan, genellikle güçtür (Napierkowski 2016).

2.6. AYIRICI TANI

Rosacea kliniği, acne vulgaris, seboreik dermatit, sistemik lupus eritematozus (SLE), diskoid lupus eritematozus (DLE) ve folikülit dahil olmak üzere diğer bazı durumlar ile karıştırılabilir. Acne vulgaris komedonlar ve kistler tarafından ayırt edilirken, rosacea daha fazla eritem ve telenjektaziye sahiptir. Seboreik dermatit kaşları, nazolabial kıvrımları, kulakları etkiler ve kaşıntı şikayeti ile pullaşır. Rosacea ve

seboreik dermatit sıklıkla çıkarılır. Fakat bununla birlikte, rosacea hastalarında nadiren yüzünde kaşıntı şikayeti vardır. SLE'deki döküntü papüller veya püstüller içermez ve DLE lezyonları sıklıkla kabuklu ve pulludur. Folikülit de yaygın olarak merkezi yüze değil, saç foliküllerine etki eder (Hoag and Raspa 2007, Scheinfeld and Berk 2010).

2.7. TEDAVİ

Hastalığın karmaşıklığından ötürü, rosacea yönetimi geniş bir terapötik modalite yelpazesini kapsar. Semptom şiddeti, relapslar ve hastalığın tipik ilerleyici doğasındaki dalgalanmalar, mevcut tedavi seçenekleri ve bunların uygun kullanımları hakkında tam bir anlayış gerektirir (Chauhan and Ellis 2013). Rosacea tedavisi, semptomları azaltmayı veya hafifletmeyi amaçlamaktadır; şu anda durum için bilinen tam bir tedavi yoktur (Napierkowski 2016).

Rosacea tedavisinde kullanılan yöntemler:

2.7.1. Yaşam Tarzı Değişikliği

Tedavinin ilk amacı hastaya semptomları üreten yaygın tetikleyiciler hakkında eğitmektir: soğuk, sıcak, güneş ışığı, alkol, stres, baharatlı yiyecekler ve kozmetik ürünler gibi. En önemlisi, ciddi belirtilerin önlenmesi ve yaşam kalitesinin artırabilmesidir (Napierkowski 2016).

2.7.2. Topikal Tedaviler

Hafif ile orta dereceli rosacea hastalığında topikal tedavi yaklaşımı ilk hat olarak kabul edilir. Metronidazol, azeleik asit, ivermektin rosacea'nın enflamatuvar lezyonlarını tedavi etmek için FDA tarafından onaylanmıştır ve çoğu hasta tarafından genellikle iyi tolere edilir. Brimonidine tartarat rosacea ile ilişkili kalıcı yüz eriteminin topikal tedavisi için ilk ilaç olarak onaylandı. Brimonidin jel, vazokonstriktif aktiviteye sahip seçici bir α 2-adrenerjik reseptör agonistidir, bu da hastaların çoğunda persistan yüz eriteminin azalmasına yol açar. Sodyum sülfasetamid; % 5 kükürt içeren veya içermeyen formülasyonları (temizleyici, krem, jel, losyon) papülopüstüler rosaceayı kontrol etmek için uzun yıllardır kullanılmaktadır, fakat sınırlı etkinlik verisi nedeniyle FDA tarafından onaylanmamıştır. Makrolidler ve makrolid analogları, permetrin, retinoidler, topikal

kalsinörin inhibitörleri ise tercih edilen diğer topikal ajanlardır (Thiboutot et al. 2003, Fowler et al. 2012, Stein et al. 2014, Rainer et al. 2017).

2.7.3. Sistemik Tedaviler

Rosacea tedavisi için çeşitli doz rejimlerinde oral tetrasiklin ve doksisisiklin kullanımının yaygın olmasına rağmen, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından enflamatuar rosacea lezyonlarını tedavi etmek için onaylanan tek oral ajan, 2006 yılında onaylanan modifiye edilmiş bir doksisisiklidir. Uygun dozajdaki bu doksisisiklin antimikrobiyal etkiler olmadan anti-enflamatuar etki sağlar; in vivo mikrobiyolojik çalışmalar, oral kavite, deri, bağırsak sistemi ve vajinada bakteriyel flora üzerinde uzun süreli etki göstermemiştir. Tetrasiklinleri kullanamayan enflamatuar rosacea hastalarında, etkinlik ve güvenlik verilerinin sınırlı olmasına rağmen oral azitromisin bir alternatif gibi görünmektedir. Daha şiddetli veya inatçı papülopüstüller ve erken dönemde fimatöz rosacea vakalarında oral izotretinoin tedavisi gerekebilir (Modi et al. 2008, van Zuuren and Fedorowicz 2016, Rainer et al. 2017).

2.7.4. Cerrahi Tedaviler

Rinofima tedavi edilmeyen rosaceade granüloamatöz infiltrasyonun neden olduğu burnun büyük, şişkin, kırmızı/eritemli görünümü için açıklayıcı bir terimdir. Mekanik dermabrazyon, karbondioksit lazer yüzey yenileme ve cerrahi traş teknikleri, rinofimanın kozmetik iyileşmesini sağlayabilir (Cohen and Tiemstra 2002).

2.7.5. Fototerapi

Güncel araştırmalar ile, rosaceanın eriteminde etkili olan ışık bazlı tedaviler bulunmuştur. Multiplex lazer yöntemi eritem ve telenjektazinin azaltılmasında etkili bulunmuştur. 550 ile 670 nm dalga boyundaki lazer, özellikle ER için etkili olabileceği düşünülmektedir (Larson and Goldman 2007, Kawana et al. 2007).

2.8. MİKROBİYOM

Mikrobiyota terimi (komensal veya normal flora) aslında, vücudumuzda yaşayan komünal, simbiyotik ve potansiyel olarak patojenik mikroorganizmaların ekolojik bir

topluluğunu temsil etmesi anlamına gelmektedir. Mikrobiyom terimi orijinal olarak bu ekosistemdeki tüm genomları temsil edecek şekilde türetilmiştir, ancak genellikle mikrobiyota ile birbirinin yerine kullanılmaktadır (Sekirov et al. 2010, The Human Microbiome Project Consortium 2012, Ding and Schloss 2014, Sirisinha 2016).

Bağırsak mikrobiyomumuz, gastrointestinal sistemimizde (GİS) kolonize eden geniş bir bakteri, virüs, mantar ve protozoa topluluğudur (Ipci et al. 2017). Bu mikroorganizmalardan oluşan topluluk, insan hücrelerin 10 katı hücre ve konakçıdan 150 kat daha fazla genetik materyal içerir (Wu and Lewis 2013, Ipci et al. 2017). Metagenomikteki son gelişmeler, yüksek verimli DNA sekanslama teknolojisinin ortaya çıkışı mikrobiyomun insan sağlığı ve patolojisi üzerindeki dinamik etkisini anlamamızı sağlamıştır (Moore-Connors et al. 2016, Sirisinha 2016).

Bağırsaklarımızda bulunan 1000'den fazla bakteri türünde ana filum; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve daha az oranda *Verrucomicrobia* şeklindedir. Günümüzde insan mikrobiyotasının önemli ölçüde kişinin kendi hayatı döneminde ve kişiler arasında varyasyonlar sergilediği iyi bilinmektedir, ancak herhangi bir yetişkin bireyde mikrobiyota yıllar boyunca nispeten sabit kalmaktadır (Sekirov et al. 2010, The Human Microbiome Project Consortium 2012, Ding and Schloss 2014, Sirisinha 2016).

GİS mikrobiyotası (kolonda 10^{14} 'e kadar, ince bağırsakta yaklaşık 10^6), oral kavite ve diğer bölge mikrobiyotalarına oranla oldukça stabildir. Bununla birlikte, konağın yaşı, doğum şekli, diyet alışkanlıkları, hijyen, antibiyotik kullanımı ve yaşadığı coğrafya gibi çevresel maruziyetlerle önemli ölçüde değişir (Sirisinha 2016).

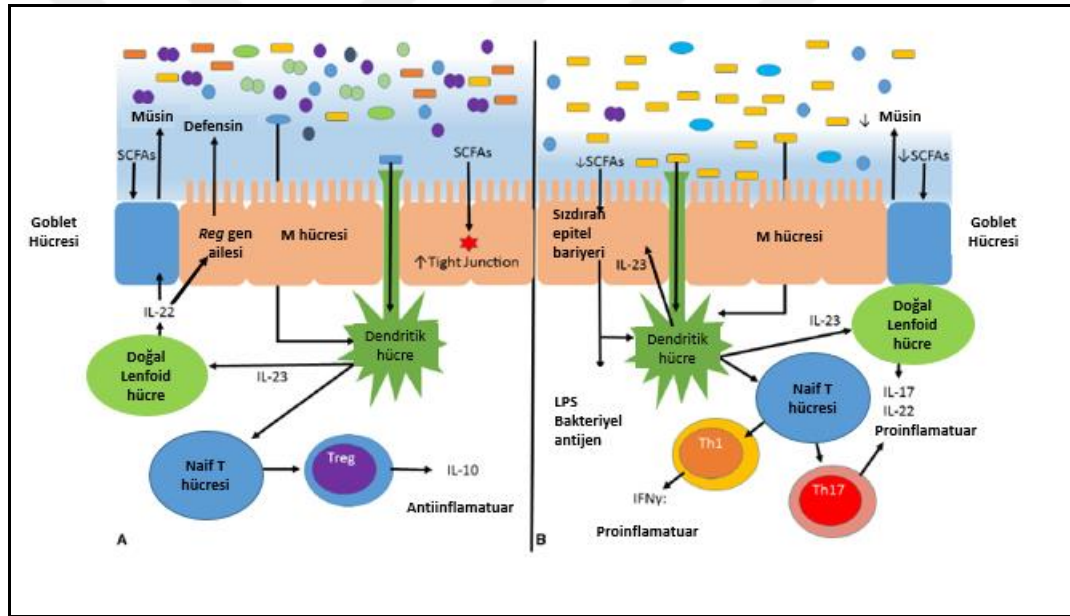
Mikrobiyom çalışmalarının başlangıcı çok eskiye dayanmamaktadır. 2007 yılının sonunda “İnsan Mikrobiyom Projesi” (Human Microbiome Project-HMP), mikrobiyota üzerindeki yayınların logaritmik bir artışına yol açmıştır (The Human Microbiome Project Consortium 2012, Ding and Schloss 2014, Sirisinha 2016).

2.8.1. Disbiyozis ve Hastalıklar

Mikrobiyom, enerji homeostazisi ve metabolizması, vitaminlerin ve diğer besinlerin sentezi, endokrin sinyalleme, enteropatojen kolonizasyonunun önlenmesi, bağışıklık fonksiyonunun düzenlenmesi ve ksenobiyotik bileşiklerin metabolizması

dahil olmak üzere hayati fizyolojik ve immünolojik süreçlere katılır (Nicholson et al. 2012, Barko et al. 2018). Birçok gastrointestinal ve sistemik hastalık, anormal bağırsak mikrobiyal toplulukları ile ilişkilendirilmektedir. Patogenezi tam olarak aydınlatılmamış olmakla beraber, mikrobiyom ile konakçı metabolik ve bağışıklık sistemleri arasındaki karmaşık etkileşimler yoluyla etkilediği düşünülmektedir (Şekil 1) (Barko et al. 2018).

Mukozal immünolojik hemostazın korunması milyarlarca zararsız mikroorganizma ve nadir, patojen istilacılar arasında ayırım yapılmasını gerektiren muazzam bir görevdir. Hem doğal hem de adaptif immün yanıtlar, yabancı mikrobiyal ve diyet antijenlerine sürekli maruz kalma karşısında patojen kolonizasyonunu ve doğrudan lokal ve sistemik inflamatuvar yanıtları önlemeye çalışır (Barko et al. 2018).



Şekil 1. Disbiyotik ve sağlıklı GİS mikrobiyomu (Barko et al. 2018'dan uyarlanmıştır.)

A) Sağlıklı bireylerde;

- Pro- ve anti-inflamatuvar sinyaller, komensal organizmaların tanındığı ve tolere edildiği şekilde dengelenirken, patojenlerin mukus tabakasına ve alttaki epitelyumun içine girmesi engellenir.
- SCFA'lar epitelyum sıkı bağlantılarını güçlendirir ve mukus tabakasının üretimini uyandır.

- Kommensal organizmalar, naif T-lenfositlerinin anti-inflamatuar ve immünomodülatör sitokinleri salgılayan Treg hücrelerine olgunlaşmasını teşvik eden dendritik hücreler ve epitelyal M hücreleri tarafından kabul edilir.
- Lenfositler, antimikrobiyal defansinleri salgılamak için üstteki epitelyal hücreleri uyarır.

B) Disbiyotik bireylerde;

- Disbiyozis yerleşik mikrobiyotadaki çeşitliliğin azalması ile karakterize edilir.
- Dendritik hücreler ve M hücreleri tarafından değişen bir antijenik ortamın tanınması, naif T hücrelerinin her ikisi de pro-enflamatuar sitokinleri salgılayan Th1 ve Th17 hücrelerine olgunlaşmasıyla sonuçlanır.
- Değiştirilmiş mikrobiyal metabolizma (Örneğin, azaltılmış kısa zincirli yağ asidi-SCFA üretimi), bağırsak mikrobiyal topluluklarını stabilize eden ve patojenler tarafından kolonizasyonu önleyen mukus tabakası gibi konakçı koruyucu faktörlerin bozulmasını teşvik eder.

GİS mikrobiyomu, sindirim sistemi hastalıkları üzerine bağırsak epiteli, peristaltizmi gibi birçok kilit noktadaki rolü ile etkilidir. Bunun dışında inflamasyon, bağışıklık sistemi, beslenme ve endokrin sistem üzerine olan etkileri nedeniyle, sindirim sistemi dışında da çok sayıda hastalığın patogenezinde etkilidir (Björkstén 2001, Vrieze et al. 2010).

GİS mikrobiyomundaki değişiklikler ile ilişkilendirilmiş hastalıklardan araştırmalarda en sık yer verilmiş olanlar ve mikrobiyomdaki değişiklikler Tablo 3'de özetlenmiştir (Clemente et al. 2012, Taneja 2014, Mell et al. 2015, Cenit et al. 2015).

Tablo 3. İntestinal mikrobiyom kompozisyonundaki değişiklikler ve ilişkilendirildiği bazı hastalıklar (Yılmaz ve Altındış 2017)

Hastalık	Mikrobiyomdaki Değişiklik	Etki
Allerji	<i>Lactobacillus spp.</i> azalma	Erken kolonizasyon, allerjik mediyatörlerin oluşumunda/azalmasında önemlidir.
	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> azalma	
	<i>Clostridium difficile</i> azalma	
	<i>Helicobacter pylori</i> azalma	
Çölyak	<i>Bacteroides vulgatus</i> artış	Erken yaşta kolonizasyon oranları, glutene oral toleransa sebep olabilmektedir.
	<i>Escherichia coli</i> azalma	
	<i>Clostridium coccooides</i> azalma	
Otizm	<i>Bacteroidetes</i> artış	Kontrol grubuyla karşılaştırma sonucu azalmış bakteriyel çeşitlilik mevcuttur.
	<i>Proteobacteria</i> artış	
	<i>Actinobacteria</i> azalma	
	<i>Firmicutes</i> azalma	
Obezite	<i>Bacteroidetes</i> azalma	Bağırsakta artan Gram negatif bakteri oranı, dolaşımda lipopolisakarit artışına sebep olur. Bu da kronik endotoksemi ve insülin direncini doğurur.
	<i>Lactobacillus</i> artış	
	<i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> oranı azalma	
	<i>Methanobrevibacter smithii</i> azalma	
Tip 2 Diyabet	<i>Firmicutes</i> azalma	Bağırsakta artan Gram negatif bakteri oranı, dolaşımda lipopolisakarit artışına sebep olur. Bu da kronik endotoksemi ve insülin direncini doğurur.
	<i>Clostridium</i> azalma	
	<i>Bacteroides-Prevotella</i> artış	
	<i>Clostridia coccooides-Eubacterium rectale</i> azalma	
	<i>Betaproteobacteria</i> artış	
	<i>Bacteroidetes/Firmicutes</i> oranı artış	
Romatoid Artrit	<i>Bifidobacteria</i> azalma	Bağışıklık sistemi üzerine etkilidir. Bazı bakteriyel metabolitler, pro-inflamatuvar moleküllerin üretilmesini tetikleyebilir.
	<i>Bacteroidetes</i> azalma	
Tip 1 Diyabet	<i>Bacteriodes</i> artış	Azalmış intestinal permeabilite ve inflamasyon sonrası, pankreas beta hücre hasarı oluşur.
	<i>Firmicutes</i> azalma	
	<i>Akkermansia</i> azalma	
Hipertansiyon	<i>Veillonellaceae</i> azalma	Artmış plazma asetat ve heptanoat seviyeleri ile mikrobiyota kompozisyonu, kan basıncı artışı ile ilişkilidir.

2.8.2. Bağırsak-Beyin Etkileşimi

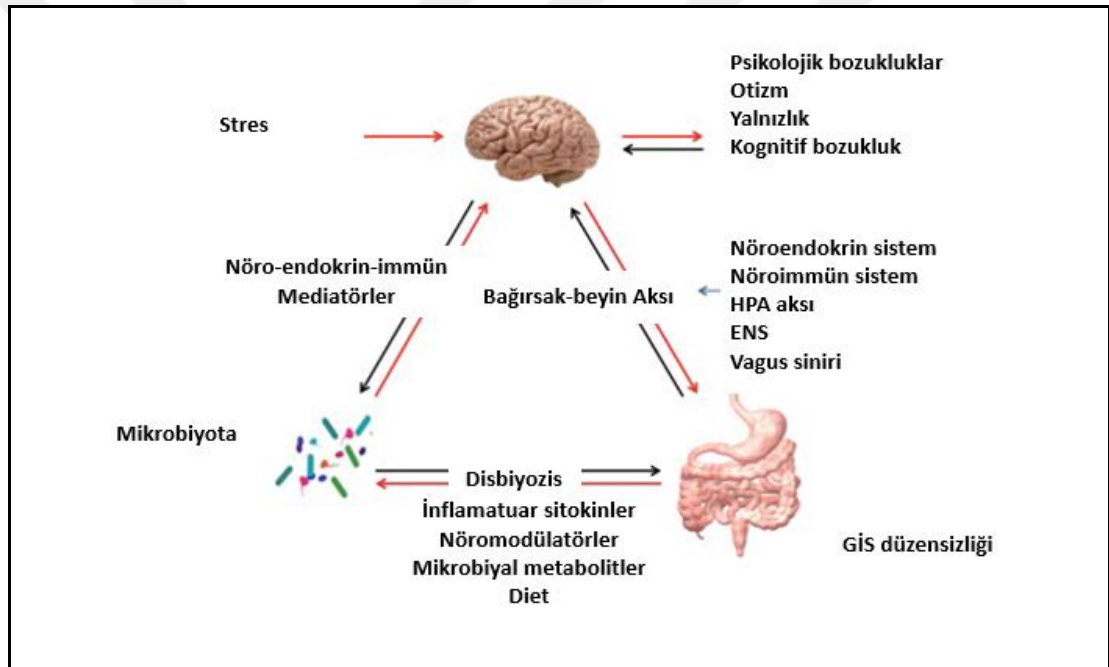
Bağırsak mikrobiyotasının beyin fonksiyonlarının şekillenmesinde etkili bir rolünün olması, son yıllarda çok sayıda araştırmacının dikkatini çeken yeni, güncel bir konudur. HMP sonuçları değerlendirildiğinde bazen, bağırsak bütünlüğü ve etkinliğinin düzensiz / sorunlu oluşunun beyin fonksiyonlarını etkileyebileceği gözlenmiştir (Collins et al. 2012, Mayer et al. 2014, Thakur et al. 2014, Dinan et al. 2015, Sherwin et al. 2016).

Bu nöral ve hormonal sinyaller, bağışıklık ve endokrin sistemleri gibi diğer kaynaklardan faktörlerle birlikte, bağırsak efektör hücrelerinin aktivitelerini düzenleyebilir. Bağırsak mikrobiyotasının etkisi altında, GIS kanalındaki bu aynı hücreler, merkezi sinir sisteminin aktivitesini düzenlemek için geri sinyal gönderebilir. Bağırsaktaki birçok bakteri türünün, nörotransmitterlere ve nöromodülatörlere cevap verebilen reseptörlere sahip olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Aynı şekilde, mikrobiyota elemanları biyolojik olarak aktif nörokimyasal benzeri maddeler, örneğin serotonin, asetilkolin, melatonin ve histamin üretme kabiliyetine sahiptir. Bu moleküller, enterik sinir sistemi (ENS) ve vagus siniri aktivitesini ve fonksiyonunu modüle edebilir ve bu mediatörler merkezi sinir sistemi tarafından algılanabilir. Aynı şekilde SCFA'lar gibi GIS mikrobiyotasından gelen biyoaktif metabolitler de ENS'yi ve otonom sinir sistemini uyarır (Collins et al. 2012, Mayer et al. 2014, Thakur et al. 2014, Dinan et al. 2015, Sherwin et al. 2016) Bu da bağırsak mikrobiyotası ile nörolojik ve psikiyatrik bozukluklar, örneğin depresif davranışlar, kaygı, duygudurum bozukluğu, hatta otizm gibi sosyal ve gelişimsel bozukluklar arasındaki olası bir bağlantıyı açıklar (Şekil 2) (Sekirov et al. 2010, Foster et al. 2013, de Theije et al. 2014, Sherwin et al. 2016).

İnsan cildinin ve uzantılarının, çok çeşitli nöroendokrin uyarıların hedef organları olduğu göz önüne alındığında nörohormon ve nöropeptidlerin serum seviyesindeki GIS hastalıklarla ilişkilendirilmiş anormallikleri sadece merkezi sinir sistemi hastalıkları ile değil, cilt sağlığı ve dermatoz oluşumu ile de ilişkilidir (O'Neill et al. 2016).

GIS mikrobiyotası, enterik sinir sisteminden beyne sinyal iletebilen ve davranışı etkileyebilen nörotransmitterlerin (GABA, serotonin, dopamin) üretimini ve ifadesini

uyarır. Bu mediyatörler aynı zamanda bağırsak bariyerinin ve sıkı bütünlüğünü de etkileyebilir, bu da bağırsak geçirgenliğini ve mukozal immün yanıtı düzenler. Ters yönde, beynin stres ve duygu sinyalleri, mukus üretimini modüle edebilir, biyofilm oluşumunu düzenler ve antimikrobiyal peptitlerin üretimini düzenleyebilir, ayrıca bağırsak geçirgenliğini ve hareketliliğini düzenleyebilir. GIS kanalında üretilen ve salınan noradrenalin, bakteri-bakteri iletişimi üzerinde bazı etkileri olabilecek bakteriyel gen ekspresyonunu etkileyebilir. Bu karşılıklı etkileşim, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini, çeşitliliğini ve zenginliğini değiştirebilir (Dinan et al. 2015, Sherwin et al. 2016).



Şekil 2. Mikrobiyota-Bağırsak-Beyin Etkileşimi (Sirisinha 2016'dan uyarlanmıştır.)

2.8.3. Bağırsak-Cilt Etkileşimi

Hem cilt hem de bağırsak immün ve endokrin sistemlere tamamen entegre olan kompleks immün ve nöroendokrin organlardır. Tüm organizmanın homeostazisi ve sağkalımı için hem cildin hem de bağırsakların düzgün çalışması gereklidir (O'Neill et al. 2016).

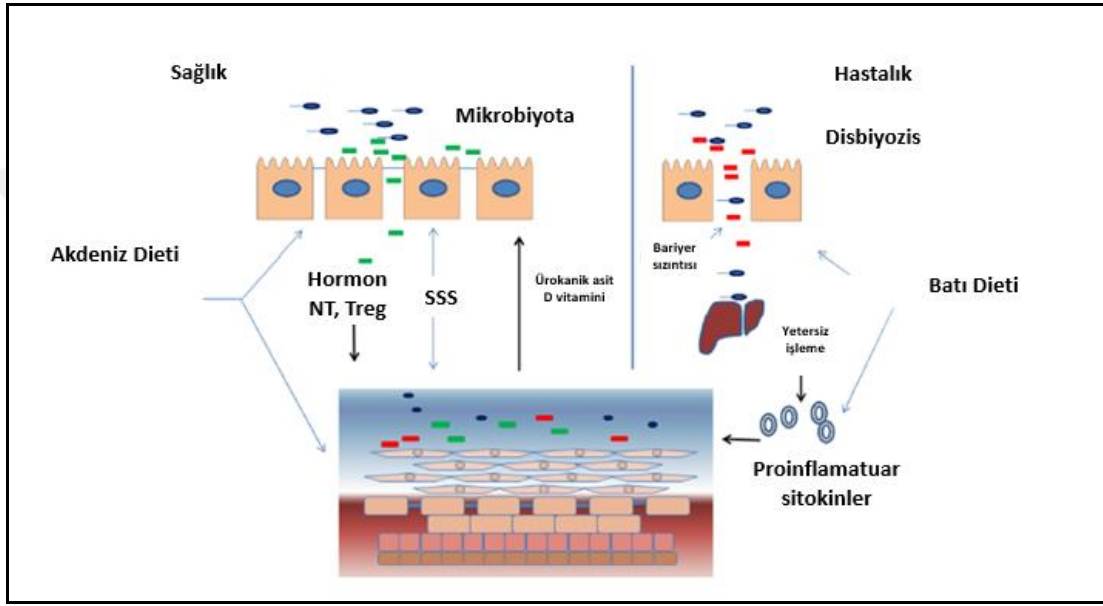
Hem diyet hem de gastrointestinal hastalıkların cilt üzerinde etkileri vardır. Tanımlanmış dermatozlar, seçilmiş gastrointestinal hastalıklar ile güçlü bir ilişki

göstermektedir. Öncelikli olarak bağırsakları etkileyen birçok durumun deride de belirtileri vardır. Rosacea hastaları incelendiğinde bağırsak disbiyozisi, *H. pylori* enfeksiyonu ve intestinal bakteriyel aşırı büyüme varlığının ciltteki yansımalarının papül, püstül ve eritem olduğu düşünülmüştür (O'Neill et al. 2016, Parodi et al. 2008).

GİS mikrobiyomu "sanal organ", cilt dahil olmak üzere diğer organ sistemlerini etkileyebilen büyük immünolojik etkiye ve metabolik kapasiteye sahiptir. Cilt-bağırsak etkileşimindeki olası mekanizmalar:

1. Bağırsak mikrobiyotası, hem yararlı hem de olumsuz etkilere sahip molekülleri sentezlemek için büyük bir kapasiteye sahiptir, bu moleküller dolaşıma erişebilir ve cilt gibi uzak bölgeleri etkileyebilir. Örneğin serbest fenol ve p-krezol bağırsak bakterileri tarafından özellikle de, *Clostridium difficile* tarafından üretilen aromatik amino asitlerin metabolitleridir. Günümüzde p-krezol disbiyotik bağırsak için biyobelirteçtir. Son zamanlardaki kanıtlar, serbest fenol ve p-krezolün dolaşıma erişebildiğini ve tercihen L-tirozin açısından zengin bir diyetle beslenen farelerin derisinde birikebildiğini göstermektedir. İn vitro veriler, p-krezol ve fenolün, keratinosit ekspresyonunu azalttığını, dolayısıyla epidermal farklılaşma ve epidermal bariyer fonksiyonunu etkileyebileceğini düşündürmektedir (Dawson et al. 2011, Miyazaki et al. 2014).
2. Metabolitlerin yanı sıra, bağırsak bakterileri de muhtemelen disbiyotik bağırsak vasıtasıyla dolaşıma girebilir ve cilde gidebilirler. Bu teori ile tutarlı olarak, son zamanlarda yapılan bir çalışmada intestinal bakterilerin DNA'sı, psoriatik hastanın plazmasından başarıyla izole edilmiştir. Karaciğerdeki fagositik Kupffer hücrelerinin normalde bağırsak komensal bakterileri ve bakteriyel ürünlerini yakaladıkları ve böylece sistemik inflamasyonu önledikleri bilinmektedir. Bununla birlikte, karaciğer güvenlik duvarında hasar, sistemik maruziyetin artmasına ve bağırsak komensallarına sistemik bağışıklık aktivasyonuna yol açar. Kupffer hücrelerinin işlev kaybının, bağırsak bakterilerinin sistemik dolaşıma girmesine ve sonradan deri patolojilerine yol açmasına ya da katkıda bulunmasına izin verdiği söylenebilir (Balmer et al. 2015, O'Neill et al. 2016).

3. Bağırsak mikrobiyotasının ciltte etkili olacak şekilde bağışıklık sistemini değiştirdiği fikri, fare modeli ve gönüllülerle yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Psoriazisli 26 hastada yapılan bir çalışmada, 6-8 hafta boyunca probiyotik takviyenin dolaşımdaki inflamatuvar belirteçlerin düzeylerine etkilerinin araştırılmıştır. Probiyotik takviyeli grupta, müdahale sonrasında CRP ve TNF-alfa seviyelerinde yüksek oranda azalma saptanmıştır (Groeger et al. 2013).



Şekil 3. Bağırsak-Cilt aksı (O'Neill et al. 2016'dan uyarlanmıştır.)

A) Sağlıkta

- Bağırsak ve mikrobiyota, dolaşıma girebilen ve cildi değiştirebilen metabolitleri, nörotransmitterleri ve hormonları üretir.
- Diyet bileşenleri, cilde hem doğrudan hem de mikrobiyota tarafından işlenerek erişebilir.
- Cilt de, D vitamini gibi bağırsakları modifiye edebilecek bir dizi kimyasal üretir.

B) Disbiyozisde

- Disbiyozis bazı bakteri ve toksinlerinin bağırsak bariyerinden sızmasına sistemik dolaşıma geçmesine neden olur.
- Karaciğerdeki yetersiz detoksifikasyon cilt için proinflamatuvar bir ortama neden olur (Şekil 3).

2.8.4. Bağırsak Mikrobiyomunun Cilt Hemostazındaki Rolü

Cilt, hemostaz durumunda iken sıcaklık düzenleme, su retansiyonu ve daha birçok fonksiyonlarını etkin bir şekilde yerine getirir (Salem et al. 2018).

Henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa da, bağırsak mikrobiyotasının deri hemostazı üzerindeki etkilerini gösterdiği mekanizmalar, bağırsaktaki kommensal canlıların sistemik bağışıklık üzerindeki modülatör etkisi ile ilişkili görünmektedir (O'Neill et al. 2016). Bazı bağırsak bakterileri ve metabolitleri; *Bacteroides fragilis*'ten retinoik asit, polisakkarit A, *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Clostridium* küme IV ve XI'ye ait bakteriler, anti-enflamatuar yanıtları kolaylaştıran düzenleyici T hücreleri ve lenfositlerin birikmesini teşvik eder (Forbes et al. 2015). Segmentli filamentli bakteriler alternatif olarak pro-inflamatuar Th17 ve Th1 hücrelerinin birikmesini teşvik eder. SCFA'lar, özellikle bütirat, enflamatuar hücrelerin proliferasyonunu, göçünü, yapışmasını ve sitokin üretimini inhibe ederek immün yanıtı bastırır (Meijer et al. 2010, Loser and Beissert 2012, Samuelson et al. 2015).

Ayrıca bağırsak mikrobiyomunun, bağırsak kommensallerinin metastazı ve metabolitleri ile deri fizyolojisi, patolojisi ve bağışıklık yanıtını doğrudan etkileyebileceğine dair yeni kanıtlar vardır (Samuelson et al. 2015; O'Neill et al. 2016). Bağırsak bariyerlerindeki düzensizlik durumlarında, bağırsak bakterilerinin yanı sıra bağırsak mikrobiyota metabolitlerinin kan dolaşımına eriştiği, deride biriktiği ve deri homeostazını bozduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada intestinal bakterilerin DNA'sı, psoriatik hastanın plazmasından başarıyla izole edilmiştir (O'Neill et al. 2016). Bu bulgular bağırsak mikrobiyomu ve keşfedilmeye yeni başlanmış olan cilt hemostazı arasında daha doğrudan bir bağlantının kanıtını temsil etmektedir.

Bağırsak mikrobiyomunun deri mikrobiyomunu da etkilediği görülmektedir. Propiyonat, asetat ve bütirat gibi lif fermentasyonu ile oluşan SCFA'ların kutanöz immün savunma mekanizmalarını etkileyen bazı cilt mikrobiyomik profillerin baskınlığını belirlemede önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. *S. epidermidis* ve *P. acnes*, diğer flora elemanlarından daha geniş SCFA kaymalarını tolere ettiği

bilinen kutanöz kommensal bakterilerdir. *Propionibacterium*, ağırlıklı olarak asetat ve propiyonik asit olan SCFA'ları üretebilen bir cinstir. Propiyonik asit, en yaygın toplum kökenli metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* olan USA 300'e karşı derin bir antimikrobiyal etki sergileyebilir. Bu da cilt hemostazını bozabilir. (Samuelson et al. 2015, Schwarz et al. 2017). Tüm bu bulgular bağırsak ve deri arasındaki fonksiyonel etkileşimli bir mekanizma için destekleyici kanıtlar sağlar.

2.8.5. Disbiyozis ve Cilt Dishemostazisi

Bir mikrobiyal dengesizlik durumu olan bağırsak disbiyozu, cilt fonksiyonunu olumsuz etkileme potansiyeline sahiptir. Aromatik amino asitlerin metabolik ürünleri olan serbest fenol ve p-kresol üretimi, özellikle de *Clostridium difficile* olmak üzere bazı patojenik bakteriler tarafından indüklendiği için, disbiyotik bağırsak ortamının biyolojik belirteçleri olarak kabul edilir. Bu metabolitler dolaşıma erişebilir, deride birikebilir, epidermal farklılaşmayı ve cilt bariyeri bütünlüğünü bozabilir (O'Neil et al. 2016). Gerçekten de, yüksek p-kresol serum seviyeleri, azaltılmış cilt hidrasyonu ve bozulmuş keratinizasyon ile ilişkilidir (Dawson et al. 2011, Miyazaki et al. 2014). İntestinal disbiyozis, artmış epitelyal geçirgenlik ile sonuçlanır, bu da daha sonra efektör T hücrelerinin aktivasyonunu tetikleyerek, bağışıklık sistemini baskılayan düzenleyici T hücre dengesini bozar.

2.8.6. Mikrobiyom Analizleri

Mikrobiyom analizi, insan vücudu üzerindeki farklı bölgelerdeki mikroorganizma kompozisyonunun görülmemiş ayrıntılarını sağlamak için numune toplama, işleme, yeni nesil sekans dizilimi ve biyoinformatik analiz basamaklarından oluşan komplike bir sistemdir. Analizin ilk adımı, numunelerin toplanması için gerekli altyapının oluşturulmasıdır. Bu durumda hastalardan ve sağlıklı / normal kontrollerden örnekler alınır. Bu örnekler oral, vajinal veya fekal olabilir. Son yıllarda daha çok bağırsak mikrobiyomu üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Kumar et al. 2014, Köroğlu 2017). Fekal örnekler diğer örneklerden farklı olarak talep üzerine o an alınamamaktadır. Bu yüzden örneğin hastaların evlerinden hastaneye transportu önem taşımaktadır. Eğer örnek oda sıcaklığında kalırsa aerobik bakterilerin lehine denge bozulacak ve bu da mikrobiyom analizinde yanlış sonuçlara neden olacaktır. Uygun alınmış

örnekler DNA izolasyonu için işlem yapılncaya kadar stabilizatör solüsyonlar ile -20 veya -80 °C'de saklanabilir (Koroğlu 2017).

Ayrıca, araştırmada diyet, antibiyotik kullanımı ve vücut ağırlığı gibi mikrobiyomu etkileyebilecek hasta bilgilerini de alması sonuçların yorumlanmasında önemli yer tutmaktadır (Kumar et al. 2014, Koroğlu 2017).

Örnekler toplandıktan sonraki ilk aşama, biyolojik materyalden bakteriyel DNA izolasyonudur. Bu aşamada ticari izolasyon kitleri veya otomatize sistemler kullanılabilir. Daha sonra uygun primerler (V4 geni için) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile bakteriyel 16S rRNA amplifikasyonu gerçekleştirilir.

İntestinal mikrobiyota elemanlarının büyük çoğunluğu, anaerobik ve kültürü çok güç olan mikroorganizmalardır. Bu zorluğu ortadan kaldırmak için moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Bakteri analizi için moleküler yöntemlerde öncelikle 16S rRNA genleri hedeflenmiştir (Clarridge 2004). 16S rRNA seçilme nedeni, bütün bakterilerde var olması, fonksiyonel olarak korunmuş olması ve yeterli hiper değişken veri tabanı içermesidir (DeLong and Pace 2001).

Oluşan amplikonlar, elektroforez veya hibridizasyon yöntemleri ile içerdikleri hiper değişken bölgelere göre ayrıştırılır. Saflaştırılan PCR ürünleri sekans işlemleri için kullanılır (Kumar et al. 2014).

Mikrobiyom dizi analizleri için günümüzde yeni nesil sekans sistemleri kullanılmaktadır. Shot gun dizileme, geniş uçlu kütüphaneler ve amplikon dizileme dahil olmak üzere farklı metagenom dizileme teknikleri kullanılmaktadır. Amplikon dizilimi nispeten ucuz, hızlı ve tek bir genomik bölgeden sekanslama avantajına sahiptir. Şu anda beş tezgah üstü cihaz mevcuttur. Bunlar; 454 GS Junior, Ion Torrent, Proton, Illumina MiSeq ve NextSeq 500'dür. Yeni nesil sekans sistemleri geleneksel yöntemlere göre üstünlükleri bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi çok daha hızlı ve bir konakçıya gen parçaları yerleştirmeye gerek kalmadan klonal olarak sınıflandırmanın sağlanabilmesidir (Tablo 4) (Sanschagrin and Yergeau 2014).

Tablo 4. Dizileme sistemleri ve özellikleri (Voelkerding et al. 2009, Dönmez et al. 2015, Rhoads and Au 2015, Akyol ve ark. 2017)

Dizileme Sistemi	Prensip
Sanger	DNA kalıbı, DNA polimeraz, nükleotidler 4 tüpe eklenir. Her tüpe düşük konsantrasyonlu ve farklı ddNTP eklenir. ddNTP ile dNTP arasında kompetisyon gerçekleşir. ddNTP sentezde zincire eklendiğinde sentez durur ve farklı uzunluklarda DNA dizileri oluşmuş olur. Jel elektroforez veya otomatik cihazlarla dizileme tamamlanır.
Maxam-Gilbert	DNA kalıbı 4 tüpe eklenir. A, G, C, T nükleotidlerinden DNA zincirini kırmak için özel kimyasallar her tüpte farklı olacak şekilde eklenir. Reaksiyon sonucunda her tüpte farklı nükleotidlerden kırılmış DNA parçaları oluşur. Jel elektroforez veya otomatik cihazlarla dizileme tamamlanır.
Pyrosekans	DNA sentezi sırasında açığa çıkan pirofosfatın saptanmasına dayanır. ATP, lüsiferaz enzimi aracılığıyla lüsiferinin oksilüsiferine dönüşmesini sağlar. Oksilüsiferin görülebilir bir ışık yaratır. Ortaya çıkan bu ışık kamera tarafından kaydedilir ve bilgisayar program yardımıyla dizi verilerine dönüştürülür. 400 bp uzunlukta okumalar yapılabilmektedir.
Roche GS FLX	Pyrodizileme prensiplerine göre çalışmaktadır. 400-500 bp uzunlukta okumalar yapılabilmektedir.
Illumina	Adaptör oligonükleotidler ile flowcell kalıp DNA hibridize edilir. Köprü PCR ile çoğaltılarak sekans primerleri ile floresan işaretli nükleotidlerle sentez sırasında sekans yapılarak DNA dizisi elde edilir. 100-150 bp uzunlukta okumalar yapılabilir.
Ion Torrent	Tek bir kalıp DNA dizisini içeren mikrokuyuya tek tip nükleotid akışı uygulanır. Verilen nükleotid kalıp ipliğe komplementer olduğu durumda yeni oluşan ipliğin yapışma katılır ve hidrojen iyonu salınımı olur. Hidrojen iyonlan hipersensitif iyon sensörleri tarafından algılanarak DNA dizisi belirlenir. 200 bp uzunlukta okumalar yapılabilir.
Solid ABI	DNA polimeraz yerine DNA ligaz enzimi kullanılır. Floresan işaretli oligonükleotid problemler kullanılır. Problemler kalıp DNA'ya hibridize olur ve primerle ligasyona girer. Floresan deteksiyonundan sonra oligonükleotid problemlerin işaretleri 5' fosfat ucu kesilerek yeni bir ligasyon siklusuna geçilir. Ligasyon, deteksiyon ve ayrılma siklusları tekrarlanarak DNA dizisi belirlenir. 50 bp uzunlukta okumalar yapılabilmektedir.
Nanopor	Membran üzerinde nano boyutta açıklık oluşturan proteinler membrana sabitlenir. Bu proteinin elektriksel olarak dirençli polimer membran tabaka üzerine sabitlenmesi ile membran üzerinde nükleotid transferlerinin yapılabileceği açıklık (nano por) oluşturulmaktadır. Küçük bir voltaj (~100mV) uygulandığında, pordan geçen iyonik akım standart elektrofizyolojik teknikler ile ölçülebilmektedir. Pordan geçen moleküllerin her biri iyonik akım miktarını farklı miktarlarda etkilediğinden ssDNA geçişi sırasında DNA sekans dizisi elde edilir. 10.000-100.000 bp okuma yapılabilmektedir.
Helicos	Kalıp DNA'ya poli A kuyruğu eklenir. Çok sayıda molekülün paralel olarak sentezlenmesi için oligo-dT flowcell yüzeyine hibridize edilir. Farklı floresan işaretli 4 nükleotid ile DNA polimeraz sisteme eklenir. Yayılan ışığın analizi ile dizileme yapılır. 25-50 bp uzunlukta okumalar yapılabilmektedir.
Pacific BioSciences	Tek molekül real time sekans teknolojisidir. Saç tokası şeklindeki adaptörler çift zincirli DNA uçlarına ligasyonla bağlanır. Farklı floresan işaretli 4 nükleotid ile DNA polimeraz sisteme eklenir. Baz eklendiğinde diziye ışımaya üretilir. Oluşan ışımalar sistem tarafından dizileme için analiz edilir. 1300 bp okumalar yapılabilmesi en büyük avantajıdır.

Illumina tabanlı yöntemler çip bazlı köprü amplifikasyon prosedürünü ve sonlandırıcı floresan işaretli nükleotidleri kullanarak dizi analizlerini gerçekleştirmektedir. Platforma ve reaktiflere bağlı olarak, HiSeq ve MiSeq platformlarında sırasıyla 300 ve 500 siklus ile analizler gerçekleştirilebilmektedir. Bu sikluslarda aynı DNA fragmanları iki kez okunmaktadır. HiSeq analizleri daha geniş kapasiteli ama daha yüksek maliyetlidir. Bununla birlikte MiSeq, 16S rRNA gen dizisi çalışmaları ile kullanım için daha büyük bir potansiyele sahiptir, çünkü daha uzun dizilim okur ve performans ve maliyeti, bireysel araştırmacıların ihtiyaçlarına göre ayarlanabilmektedir.

Son olarak elde edilen sekans verileri ile mikrobiyom data analizleri gerçekleştirilir. Sıklıkla kullanılan bir mikrobiyom analiz paketi Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) eksiksiz ve kapsamlı bir mikrobiyom analizini desteklemek için gereken faydalı, önemli biyoinformatik verileri kapsayan bir sistemdir. Biyoinformatik veri tabanları ile birlikte sonuçların değerlendirilebilir parametrelere çevrilmesi sağlanmış olur (Kumar et al. 2014).

16S rRNA gen bölgelerinin klonlanması ve sekans analizleri, bakteriyel filogenetik araştırmalar için oldukça duyarlıdır (Young and Schmidt 2004, Cole et al. 2007).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. ETİK KURUL ONAYI

Çalışmamızın etik kurul onayı (SAÜTF-KAEK No: 2018/06/27); Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan, 27.06.2018 tarihli imza ile alınmıştır (**Ek-1**).

3.2. ÇALIŞMA GRUBU

Bu araştırma, Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi (SAÜTF) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (KAEK) tarafından etik kurul onayı verilmesini takiben, Temmuz 2018 - Aralık 2018 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmaya; Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıklar polikliniğe başvurarak rosacea klinik tanısı konulmuş olan 20 hasta ve kontrol grubu olarak rosaceali hastalarla yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilen 10 sağlıklı gönüllü birey dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu olgularında; çalışma hakkında bilgi verildikten ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formuna (**Ek-2**) imzaları alınarak onam verdikten sonra çalışmaya dahil edilmeleri koşulu aranmıştır. Gönüllü olarak çalışmaya katılan tüm hasta ve kontrol grubundaki bireylere dahil edilme ve dışlama kriterlerini uygulamak amacıyla; ilaç kullanımı (antibiyotik, proton pompası inhibitörü kullanımı), beslenme alışkanlıkları, sigara, alkol kullanımı sorularını kapsayan mini bir anket uygulanmıştır. Çalışma gruplarına dahil edilme ve çalışma dışı bırakılma ölçütleri aşağıda sıralanmaktadır.

Hasta grubuna dahil edilme kriterleri:

- Rosacea tanısı almış olması

- 18-49 yaş aralığında olması
- Hastanın okur-yazar olması
- Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayarak yazılı onam vermiş olması

Kontrol grubuna dahil edilme kriterleri:

- Rosacea tanısının olmaması
- 18-49 yaş aralığında olması
- Hasta grubuyla yaş ve cinsiyet uyumu sergiliyor olması
- Gönüllünün okur-yazar olması
- Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayarak yazılı onam vermiş olması
- Bilinen sistemik, dermatolojik ve psikiyatrik tanısının bulunmaması

Çalışmadan dışlama kriterleri

- Çalışmaya katılmayı kabul etmemesi
- Rosacea tanısının olmaması
- 18-49 yaş aralığında olmamak
- 4 hafta ve daha kısa süre önce antibiyotik, proton pompası inhibitörü ve/veya probiyotik, prebiyotik kullanmış olması








3.3. FEKAL ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Hasta ve kontrol grubundan alınan yaklaşık 1g gaita örnekleri, 2 eş parçaya bölünerek DNA/RNA Shield™ Collection Tube (Zymo Research, CA, ABD) (genetik materyal koruyucu solüsyon içeren) içine konulmuştur. Alınan örnekler çalışma dönemine kadar birkaç gün süreyle -20°C'de saklanmıştır. İkinci örnekler -80°C'de saklamaya alınmıştır.

3.4. BRİSTOL SKORLAMASI ve GAİTA pH ÖLÇÜMLERİ

Çalışmamızda da Bristol dışkı skalası kullanılarak hasta örneklerinin skorlaması yapılmıştır (Şekil 4).

Toplanan gaita örneklerinden indikatör şeritleri ile (Merck, NJ, ABD) pH ölçümleri yapılmıştır.

	Tip 1: Keçi pisliği tarzında, topak topak ve parça parça sert dışkı
	Tip 2: Daha büyük ve birleşik topaklanma
	Tip 3: Daha az kalın, daha yumuşak kıvamlı, yüzeyinde derin olmayan çatlakların olduğu dışkı
	Tip 4: Yılan veya sosis gibi pürüzsüz, kaygan yüzeyli ve yumuşak kıvamlı dışkı
	Tip 5: Kenar verecek kıvamda parça parça dışkı
	Tip 6: Yumuşak kıvamlı, su içeriği daha fazla, parça parça dışkı
	Tip 7: Sert ya da yumuşak, katı dışkı içeriği hiç olmayan sulu dışkı

Şekil 4. Bristol dışkı skalası (Bengi ve ark. 2014)

3.5. GENETİK MATERYAL(DNA) İZOLASYONU

Genomik DNA, üreticinin talimatlarına göre ZymoBIOMICS DNA Mini kiti (Zymo Research, CA, ABD) kullanılarak gaita örneklerinden izole edilmiştir.

3.6. 16S rRNA SEKANS ANALİZİ

Sekans aşamasında ilk olarak; yeni nesil dizileme kütüphanesi, genomik DNA örneğinin fragmanlanması ve her iki fragman ucuna özel adaptörler bağlanmasıyla hazırlanmaktadır. Elde edilen bu kütüphane flow cell'e yüklenir ve yüzeye hibridize edilmektedir. Bağlanmış her parça köprü amplifikasyonu ile klonal olarak sentezlenmektedir. Floresan işaretli nükleotidlerden oluşan sekans reaktifleri sisteme eklenmektedir. Son aşamada flow cell görüntülenip, ölçülen emisyonlar kaydedilmektedir. Emisyonun dalga boyu ve yoğunluğu bazı tanımlamak için kullanılan parametrelerdir. Bu siklus okunacak baz miktarı kadar devam ettirilmekte ve elde edilen sonuçlar eldeki biyoinformatik veriler ile hizlama yapılarak değerlendirilmektedir (<http://www.illumina.com>), (Erişim tarihi: 10 Ocak 2019).

Çalışmamızda da elde edilen genetik materyallerden bakteriyel 16S ribozomal RNA (rRNA) geni hedef dizilemesi gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesini hedefleyen 341f (CCTACGGGNGGCWGCAG) ve 805r (GACTACHVGGGTATCTAATCC) universal bakteri 16S primerleri kullanılmıştır.

Amplikon kütüphaneleri 200 bp'den büyük fragmanlar seçilerek (ZymoResearch, Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™) ile temizlenmiştir. Daha sonra normalize edilerek bir araya toplanmıştır. Final kütüphanenin sekans analizi Illumina MiSeq ile yapılmıştır (Kozich et al. 2013).

3.7. BİYOİNFORMATİK ANALİZ

Ham sekans okumaları sonucunda ilk önce Illumina verilerinden adaptörleri çıkarmak için Trimmomatic-0.33 programı kullanılmıştır (Bolger et al. 2014). 320 bp'den küçük amplikon dizileri ve kimerik amplikon dizileri tanımlarak sistemden uzaklaştırılmıştır (Edgar et al. 2011). Elde edilen tam amplikon dizileri her bir örnek için toplanmıştır.

Mikrobiyal operasyonel taksonomik üniteler (OTU'lar) Qiime 1.9.1 (Caporaso et al. 2010) ile analiz edilmiştir. OTU'lar için referans veri tabanı olarak GreenGene veritabanı seçilmiştir. Her örnekte eşit olmayan örneklemenin yol açtığı potansiyel yanlılığı azaltmak için rastgele 50.000 diziye kadar örnek alınmıştır.

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Sekans sonuçlarına göre alfa ve beta çeşitlilik analizleri gerçekleştirilmiştir. Beta çeşitlilik; türlerin dağılımının iki farklı grup (hasta ve sağlıklı) arasındaki değişimi ya da farklı iki gruptaki tespit edilen tür içeriğinin birbirlerine benzerliğini/farklılığını göstermektedir. Diğer bir ifadeyle iki küme arasındaki kesişim kümesi dışında kalan üyelerin oranını göstermektedir. Beta çeşitlilik analizi için, Bray-Curtis farklılığı ana koordinat analizi (PCoA) kullanılmıştır.

Alfa çeşitlilik ise belirli bir grupta saptanan farklı türlerin sayısıdır. Diğer bir ifadeyle iki kümenin eleman sayısı yönünden mukayesesidir. Alfa çeşitlilik analizi için, Phylogenetic Diversity (PD) çeşitlilik endeksi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki azalmış veya artmış çeşitliliği gösterir.

Biyoinformatik analizlerle takson ve numunelerin hiyerarşik kümelenmesiyle taksonomik haritalar hazırlanmıştır. Lineer Diskriminant Analizi (Linear Discriminant Analysis-LDA), önceden tanımlanmış gruplar arasındaki dağılımları önemli ölçüde farklı olan taksonları, tanımlamak için istatistiksel analiz amacıyla kullanılmıştır (Segata et al. 2011). Ayrıca çalışmayı daha da derinleştirmek için

Lineer Diskriminant Analizi Etki Büyüklüğü (Linear Discriminant Analysis Effect Size - LEfSe) de gerçekleştirilmiştir. Özellikle metagenomik analizlere odaklanan yüksek boyutlu sınıf karşılaştırmalarını desteklemek için LEfSe yöntemini kullanılmaktadır. Varsayılan ayarlarla ($p < 0.05$ ve LDA etki boyutu > 2), LEfSe tarafından gruplar arasında önemli farklılık gösteren taksonlar belirlenmiştir.



4. BULGULAR

4.1. GÖNÜLLÜLERİN YAŞ CİNSİYET DAĞILIMI

Çalışmaya dahil edilen tüm rosacea tanılı katılımcılar kadın idi. Rosacea tanılı hastaların yaş ortalaması; $38,3 \pm 8,9$ ve sağlıklı gönüllülerin yaş ortalaması $35,7 \pm 2,9$ idi (Tablo 4).

Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin yaş cinsiyet dağılımı

	Rosacea Tanılı Hastalar	Sağlıklı Kontrol Grubu
Yaş	$38,3 \pm 8,9$	$35,7 \pm 2,9$
Erkek/Kadın	0/20	4/6
Toplam Sayı	20	10

4.2. BRİSTOL SKORLAMASI SONUÇLARI

Rosacea tanılı grubun gaita örnekleri daha çok Tip 5-7 arasında, sağlıklı gönüllülerin örneklerinin ise daha çok Tip 1-3 arasında olduğu saptandı. Tüm örneklerin Bristol dışkı skorları Tablo 5'te verilmiştir. Bristol skoruna göre mikrobiyal analizler incelendiğinde Tip 3, 4, 5'e ait örneklerin mikrobiyal çeşitliliği Tip 1, 2, 3 ve Tip 6, 7'ye göre çok daha yüksek saptandı. PD sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde Bristol skoru daha yüksek olan örneklerin daha düşük mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğu belirlendi.

Tablo 6. Bristol skorlaması sonuçları

Bristol Skoru	Rosacea (n=20)	Sağlıklı Gönüllüler (n=10)
Tip1	-	1
Tip2	2	1
Tip3	1	4
Tip4	4	3
Tip5	7	1
Tip6	5	-
Tip7	1	-

4.3. GAİTA pH SONUÇLARI

Rosacea tanılı ve sağlıklı gönüllülerin gaita pH ortalamaları karşılaştırıldığında Rosacea tanılı hasta grubunun gaita pH ortalamaları sağlıklı gönüllü grubun ortalamasına göre daha yüksek olduğu görüldü. Her iki grubun da gaita pH ortalamaları Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 7. Gaita pH Farklılıkları

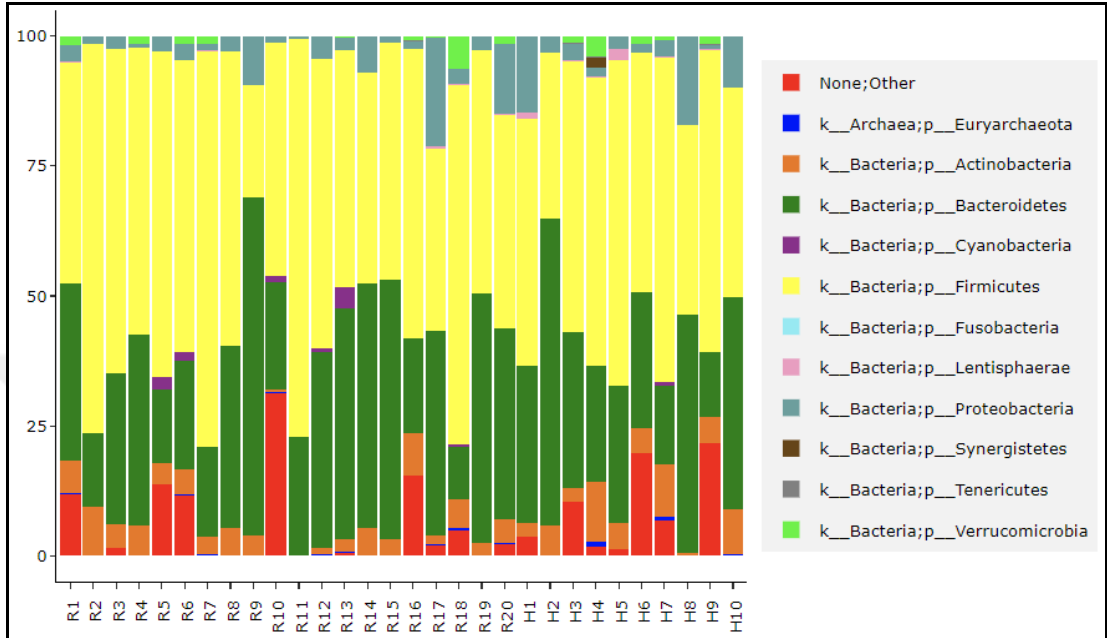
pH	Rosacea (n=20)	Sağlıklı Gönüllüler (n=10)	p değeri *
	7,5	6,7	< 0.001

*Mann-Whitney U Testi

4.4. 16S rRNA SEKANS ANALİZLERİ

Toplamda 25 milyon okuma işlemi sonrasında analiz öncesinde kimerik ampikon dizileri ve 320 bp’den küçük ampikon dizileri çıkarıldı. Biyolojik yük seviyesini değerlendirebilmek için negatif kontroller (blank ekstraksiyon kontrolü ve blank kütüphane hazırlama kontrolü) kullanıldı. Illumina Miseq ile rosacea tanılı ve sağlıklı gönüllülerin gaita örneklerinden elde edilen genomik DNA’lar sekanslanarak uygun veri tabanları ile analizler sonucu elde edilen filum, cins ve tür bazında saptanan sonuçlar sırasıyla Tablo 7, Şekil 5, 6 ve 7’de verilmiştir. Kontrol grubu sağlıklı

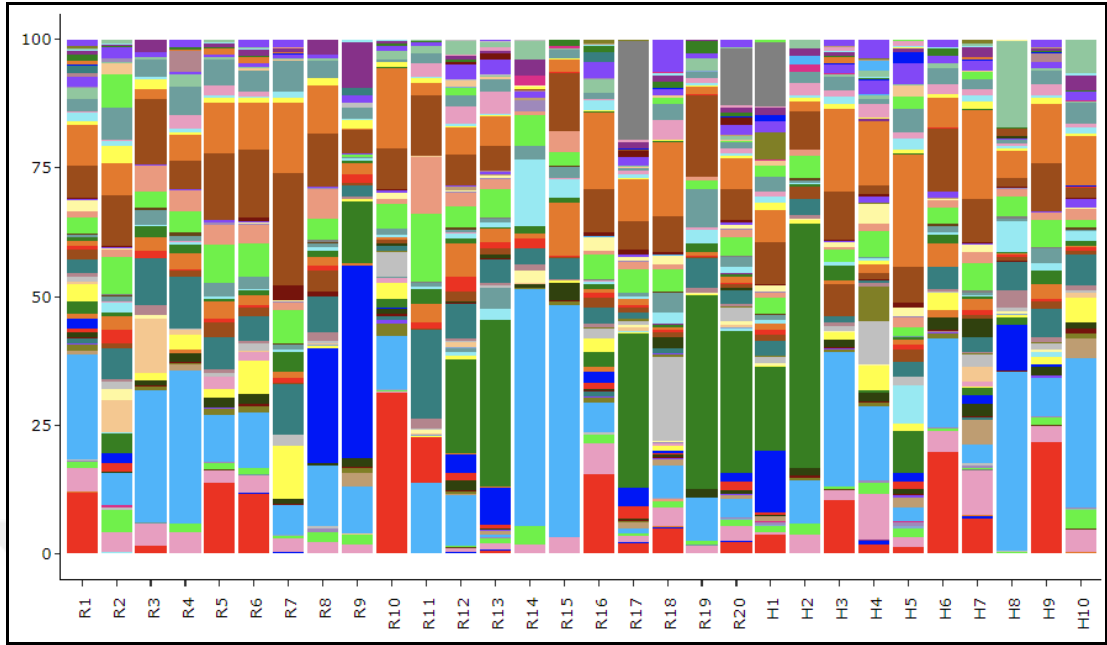
gönüllüler (H) ve rosacea tanılı hastalar (R) x ekseninde etiketlendi ve her grup için y ekseninde göreceli operasyonel taksonomik birim (OTU) bolluğu olarak ifade edildi.



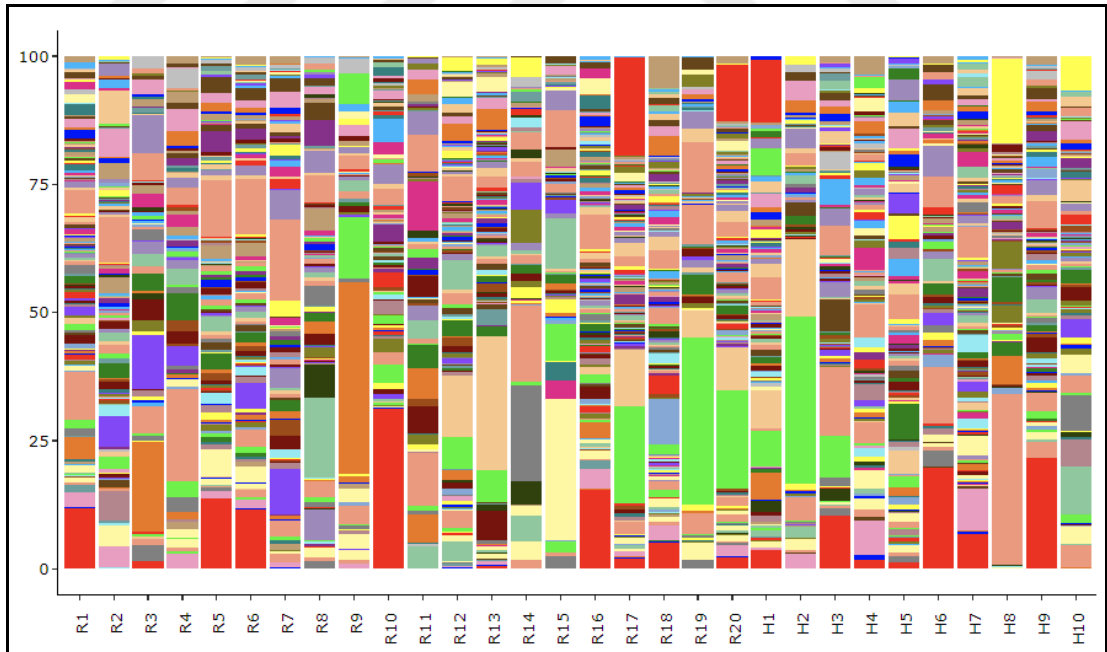
Şekil 5. Filum bazında sekans analiz sonuçları (***H**: Sağlıklı gönüllü, **R**: Rosacea tanılı hasta)

Tablo 8. İki grup arasında filum bazında ortalama bolluk yüzdeleri

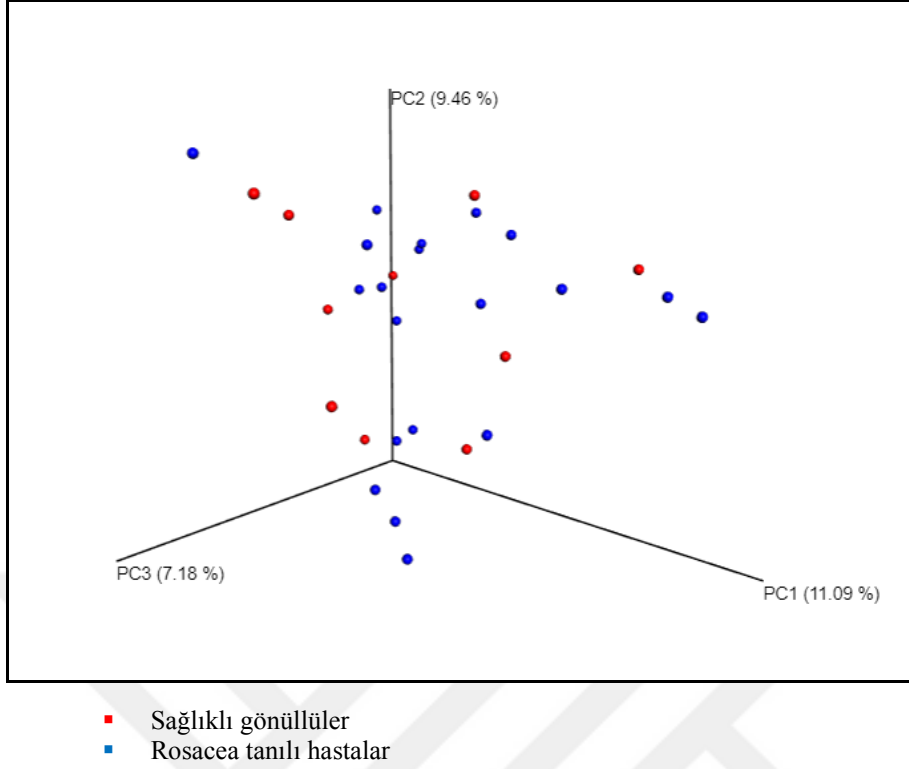
Filum	Rosacea	Sağlıklı Gönüllüler
Euryarchaeota	%0,13	%0,22
Actinobacteria	%4,10	%5,7
Bacteroidetes	%31,42	%30,8
Cyanobacteria	%0,54	%0,09
Firmicutes	%53,19	%49,26
Fusobacteria	%0	%0
Lentisphaerae	%0,07	%0,39
Proteobacteria	%4,24	%5,81
Synergistetes	%0	%0,20
Tenericutes	%0,01	%0,06
Verrucomicrobia	%0,80	%0,90



Şekil 6. Cins bazında sekans sonuçları

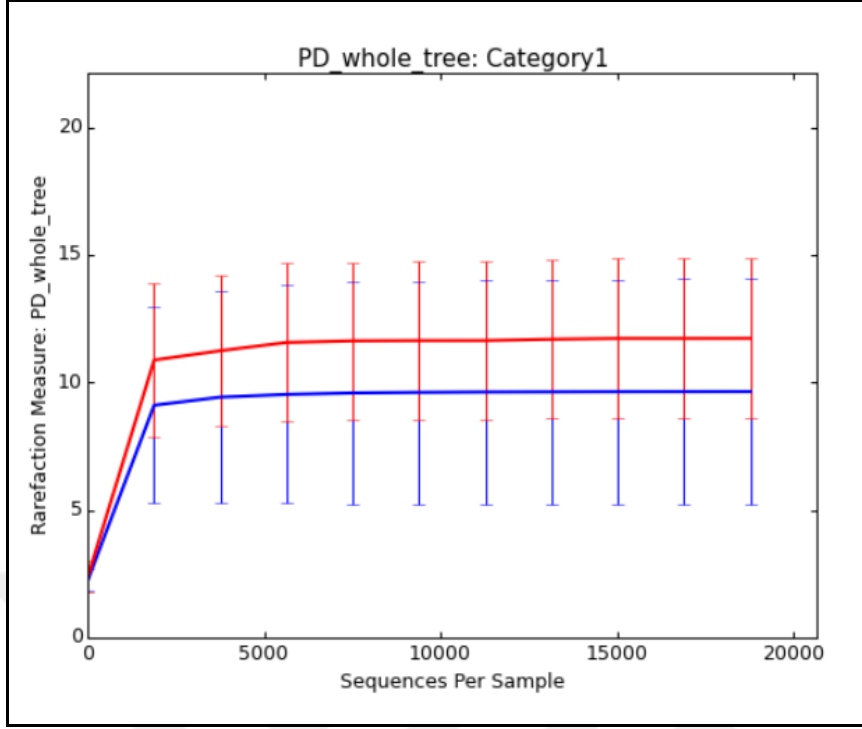


Şekil 7. Tür bazında sekans sonuçları



Şekil 8. Bray-Curtis yöntemiyle elde edilen beta çeşitlilik sonuçları

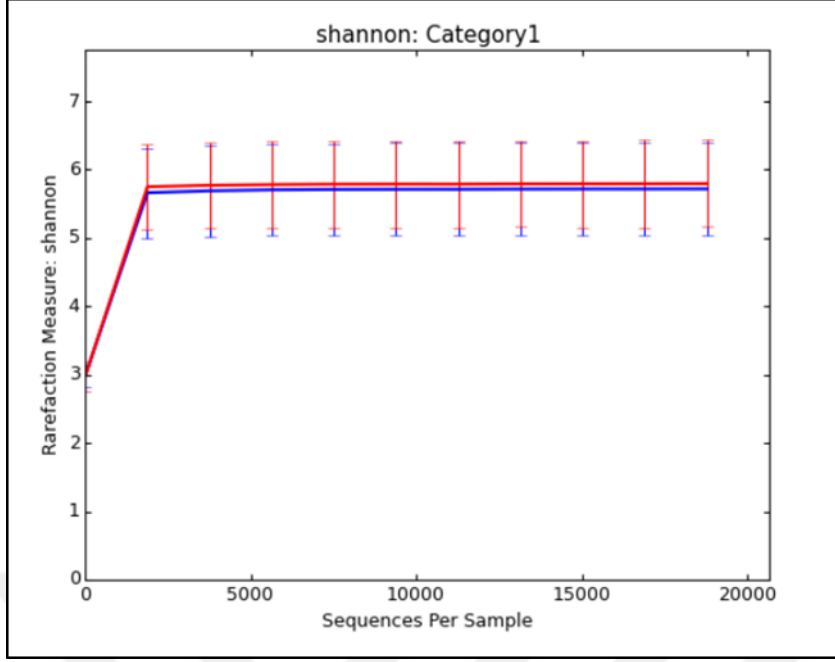
Hastalık fenotipine göre renklendirilmiş olan her bir örnekle Bray-Curtis mesafesinin temel koordinat analizinde PC1, PC2 ve PC3 (Şekil 8) çeşitliliğin çoğunu yakalayan ilk üç ana koordinatı temsil eder. Koordinat ekseninde mesafenin artması, birbirinden farklılaşmış hasta ve sağlıklı gönüllülerin mikrobiyomunu göstermektedir (Coburn et al. 2015). PC1 maksimum varyasyon oranı %11.09 olarak saptanmıştır.



- Sağlıklı gönüllüleri
- Rosacea tanılı hastalar

Şekil 9. PD yöntemiyle alfa çeşitlilik sonuçları

Rosacea tanılı hastalar ve sağlıklı gönüllüleri karşılaştırıldığında, rosacea hastalarının bağırsak mikrobiyomunda azalmış filogenetik çeşitlilik (mikrobiyal bolluk) tespit edildi (Şekil 9).



- Sağlıklı gönüllüler
- Rosacea tanılı hastalar

Şekil 10. Shanon indeksi ile alfa çeşitlilik sonuçları

Rosacea tanılı hastalar ve sağlıklı gönüllüler karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 10).

4.5. ENTEROTİP ANALİZLERİ

Rosacea tanılı hastaların 14'ü (%70) Tip 1 (*Bacteroides* hakimiyeti olan GİS mikrobiyotası), 6'sı (%30) Tip 2 (*Prevotella* hakimiyeti olan GİS mikrobiyotası), sağlıklı gönüllülerin 7'si (%70) Tip 1, 3'ü (%30) ise Tip 2 olarak saptanmıştır.

4.6. BESLENME ŞEKİLLERİ

Çalışmaya katılan tüm gönüllülere beslenme alışkanlıkları sorulmuştur. Sonuçlar Tablo 8'de verilmektedir.

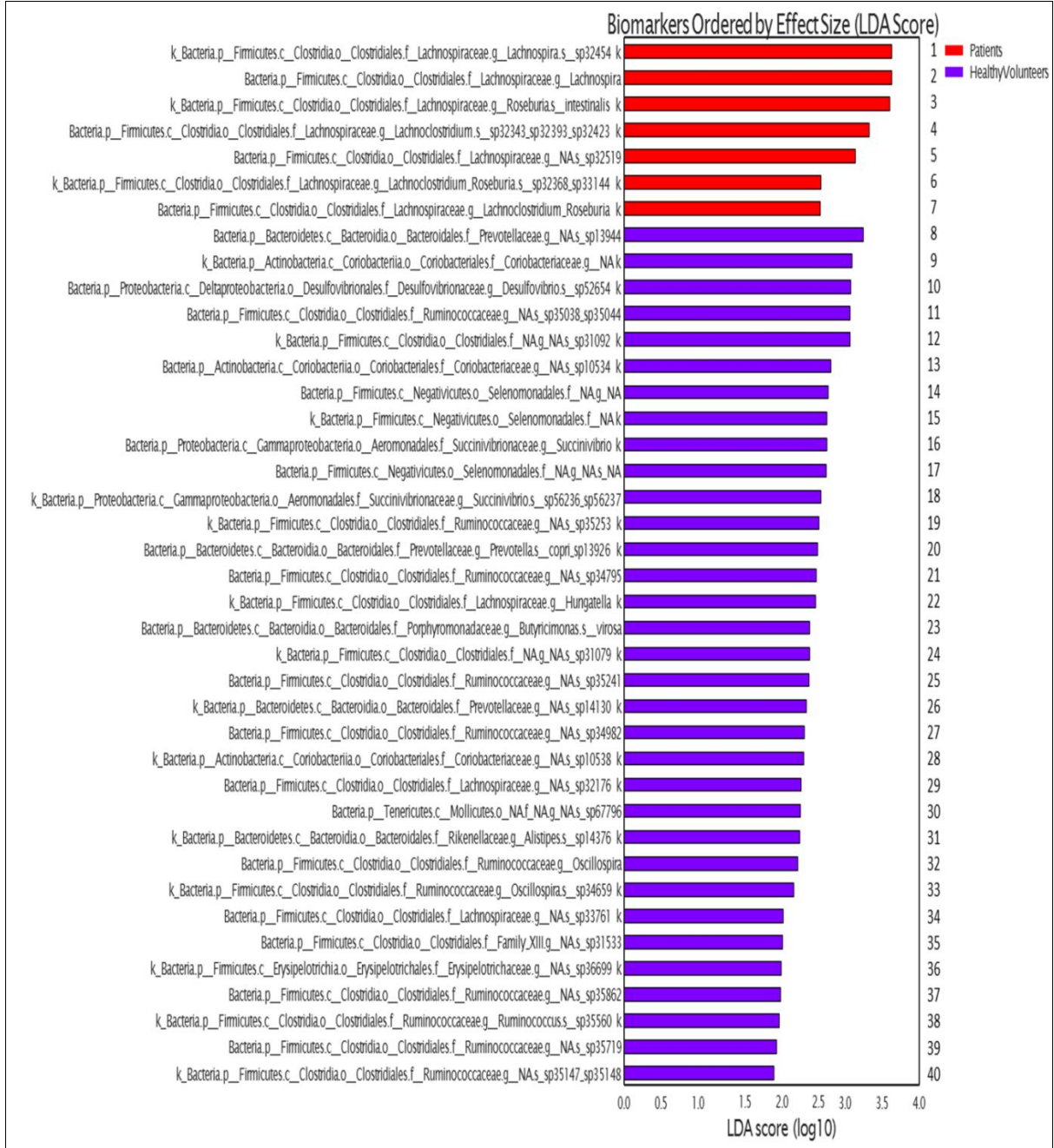
Tablo 9. Gönüllülerin Beslenme Şekilleri

Beslenme Şekli	Rosacea Tanılı Hastalar (n=20)		Sağlıklı Gönüllüler (n=10)	
	n	%	n	%
Karbonhidrat ağırlıklı	13	65	2	20
Protein ağırlıklı	6	30	5	50
Karışık beslenme	1	5	3	30

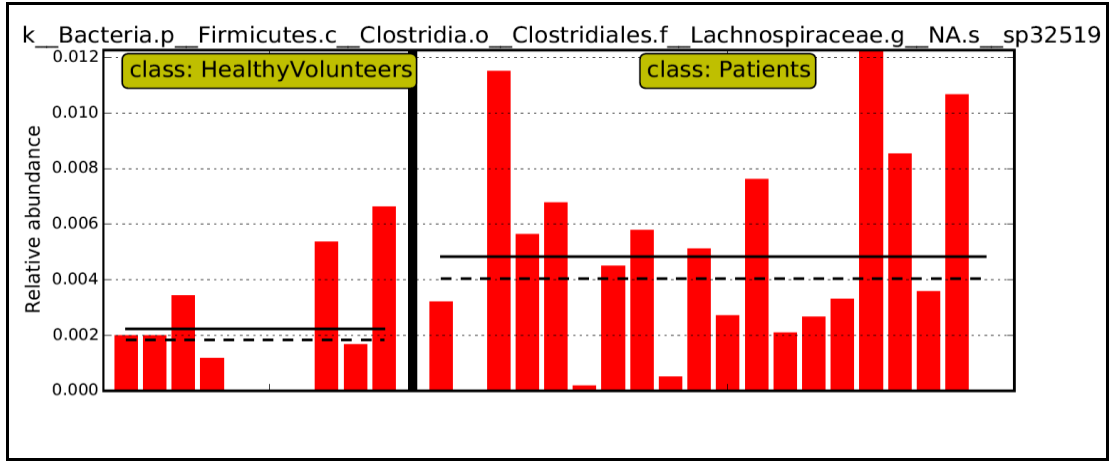
4.7. İSTATİSTİK ANALİZLERİ

Rosacea tanılı ve sağlıklı gönüllülerden oluşan gruplar arasındaki dağılımları, $p < 0.05$ ve etki büyüklüğü (LDA puanı) 2'den yüksek olan istatistiksel olarak farklı olan taksonlar tanımlanmıştır (Şekil 11). Metagenomik DNA analizleri sonuçlarına göre rosacea hastalarında; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* ve *Roseburia intestinalis* daha yüksek oranda, sağlıklı gönüllülerde ise *Prevotellaceae*, *Prevotella copri*, *Coriobacteriaceae*, *Desulfovibrio*, *Ruminococcaceae*, *Ruminococcus*, *Clostridiales*, *Clostridiales* Family 13, *Selenomonadales*, *Succinivibrio*, *Hungatella*, *Mollicutes*, *Butyricimonas virosa*, *Alisitipes*, *Oscillospira* ve *Erysipelotrichaceae* gibi cins, tür, aile bazında etkenler istatistiki olarak daha yüksek oranda saptanmıştır (Şekil 11).

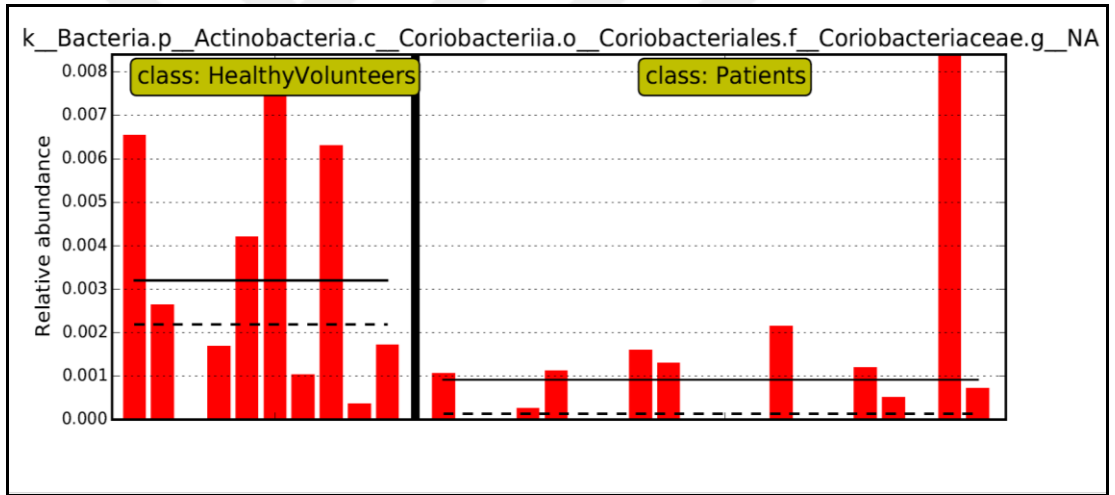
Hasta ve sağlıklı grupta yüksek oranda bulunan taksonlarla ilgili örnek analiz sonuçları Şekil 12 ve 13'de sunulmuştur.



Şekil 11. Rosacea tanılı ve sağlıklı gönüllülerde öne çıkan mikroorganizmalar



Şekil 12. Rosacea tanımlı hastalarda yüksek oranda saptanan bir mikroorganizma analiz örneği



Şekil 13. Sağlıklı gönüllülerde yüksek oranda saptanan bir mikroorganizma analiz örneği

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Rosacea; sıklıkla 30-50 yaşları arasında ortaya çıkan, patafizyolojisi tam olarak aydınlatılmamış kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın prevalansı ile ilgili literatür bilgisi oldukça değişken olup, erişkin popülasyonda bu oran %1-20 arasında bildirilmiştir (Blount and Pelletier 2002, Powell 2005, Wollina 2011). Hastalar genellikle kızarıklık ve hassas cilt şikayetleriyle başvurmaktadır. Rosaceanın tanısı, hastalık için rutinde kullanılabilen spesifik bir laboratuvar parametresi olmadığı için klinik olarak yapılmaktadır (Culp and Scheinfeld 2009). Tedavisinde de konsensus sağlanmış net bir tedavi yöntemi henüz mevcut değildir. Rosacea hastalığının tanı ve tedavisi için yeni bilimsel çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu noktada rosaceanın hem tanısı hem de patofizyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi için günümüzde birçok hastalık için araştırılan bağırsak mikrobiyomunun metagenomik analizi bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Metagenomik analiz yöntemlerindeki son gelişmeler ve yüksek verimli DNA sekanslama teknolojisinin ortaya çıkışı mikrobiyomun ve insan sağlığı / patolojisi üzerindeki dinamik etkisinin anlaşılmasını sağlamıştır (Moore-Connors et al. 2016, Sirisinha 2016). Birçok gastrointestinal ve sistemik hastalık, anormal bağırsak mikrobiyal toplulukları (disbiyozis) ile ilişkilendirilmektedir. Patogenezi tam olarak aydınlatılmamış olmakla beraber, mikrobiyom ile konakçı metabolik ve bağışıklık sistemleri arasındaki karmaşık etkileşimler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Barko et al. 2018).

Yapılan karşılaştırmalı bağırsak mikrobiyomu analizleri sonucu GİS mikrobiyomundaki değişiklikler ile ilişkilendirilmiş olan hastalıklar arasında obezite, Tip1-2 diyabet, romatoid artrit, hipertansiyon, otizm, çölyak hastalığı ve allerjik

tablolar üzerinde en sık çalışılan ve anlamlı disbiyotik değişiklikler bulunmuş hastalıklardır (Yılmaz ve Altındış 2017).

Bu bağlamda, disbiyozis belirteci olarak değerlendirilebilen gaita pH ve kolonik geçiş zamanları da birçok çalışmada araştırılmaktadır. Ohigashi ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada kolorektal kanser tanılı hastaların gaita pH ortalamasını (7,4), sağlıklı gönüllülerin gaita pH ortalamasından (6,9) yüksek bulmuş ve yüksek pH ile kolorektal kanser gelişimini ilişkilendirilmiştir. Bağırsak mikrobiyom elemanları, bağırsak mikroorganizmaları tarafından sindirilebilir olan ancak konak enzimleri tarafından sindirilmeyen, diyet karbonhidrat kaynaklarının mikrobiyal fermantasyonu ile ürettikleri SCFA'lar ile bağırsak pH'ını azaltmaktadır (Walker et al. 2005). Düşük intestinal pH, intestinal geçiş süresini azaltır ve peristaltizmi teşvik eden düz kasları uyarır. Düşük bağırsak pH'sı ile *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi yararlı bağırsak mikrobiyotası üyelerinin üremesini destekler, bu gibi bakterilerin üremesi de bağırsak pH'sını düşürdüğünden patojen bakterilerin üremesi inhibe edilmiş olur (de Moraes et al. 2016). Artmış olan pH, azalmış SCFA ve dengesiz bağırsak mikrobiyomu varlığını, dolayısıyla bağırsak cilt aksı ile cilt dishemostazını düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da bağırsak disbiyozisini destekler şekilde; rosacea tanılı hastaların gaita pH ortalaması (7,5), sağlıklı gönüllülerin gaita pH ortalamasından (6,7) daha yüksek bulunmuştur.

Bristol dışkı skorlaması da tıpkı gaita pH gibi bağırsak mikrobiyomu hakkında ön bilgi verebilmektedir. Düşük skorlar (1,2) yavaş geçişi, yüksek skorlar (5-7) hızlı geçişi ve artmış rektal hassasiyeti gösterir (Lewis and Heaton 1997). Blake ve ark. (2016), sağlıklı gönüllüler (n=169) ve irritabl bağırsak sendromu (İBS) tanılı hastalarla (n=19) Bristol dışkı skorlaması ile yaptıkları çalışmada disbiyotik bağırsak mikrobiyomuna sahip olan İBS'li hastalarda, sağlıklı gönüllülere oranla çok daha yüksek skorlar saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da rosacea tanılı hastaların Bristol skorları, sağlıklı gönüllülere göre çok daha yüksek skarlardan oluşmaktadır. Bu da azalmış kolonik transit zamanı bağırsak disbiyozisi ile ve dolayısıyla bağırsak cilt aksı ile de cilt dishemostazını düşündürmektedir.

Bağırsak ve cilt birçok önemli özelliği paylaşır: yoğun olarak damarlanmış, zengin perfüze edilmiş olmalarının yanı sıra, farklı mikrobiyal topluluklarla kitlesel olarak

kolonize edilirler. İmmün ve endokrin sistemlerine tamamen entegre olan kompleks immün ve nöroendokrin organlardır. Bu nedenle, bağırsak ve cilt optimum cilt sağlığı için birlikte çalışmalıdır (O'Neill et al. 2016). Hem diyet hem de gastrointestinal hastalıklar cilt üzerinde etkilidir ve tanımlanmış birçok dermatoz bazı gastrointestinal hastalıklarla güçlü bir ilişki gösterir. Aynı şekilde dermatolojik hastalıkların varlığının, altta yatan disbiyozisin göstergesi olabileceği bildirilmiştir (O'Neill et al. 2016). Bağırsak mikrobiyomunun cilt hemostazı üzerine etkileri birçok çalışma ile araştırılmaktadır. Bağırsak bakterilerinin cilt sağlığına yararlı etkileri birçok kemirgen ve insan çalışmaları ile belgelenmiştir. Levkovich ve ark. (2013), *Lactobacillus reuteri* takviyesi alan farelerde dermal kalınlık artışı, artmış folikülojenez ve daha kalın, daha parlak kürk gibi görünen sebosit üretiminin artışı tespit etmişlerdir. Başka bir kemirgen çalışmasında, Horii ve ark. (2014), farelere *Lactobacillus brevis* SBC8803'ün oral takviyesinin, muhtemelen intestinal enterokromaffin hücrelerinden artan serotonin salınımı ve daha sonra parasempatik yolların aktive olmasıyla kütanöz arter sempatik sinir tonunun azalması ve kütanöz kan akışının artmasıyla sonuçlandığını bildirmiştir.

İnsanlarla yapılan klinik bir araştırma ile cilt bariyeri fonksiyonunun bir belirteci olan transepidermal su kaybının ölçümüne dayanan bir çalışmada 12 hafta boyunca *L. brevis* SBC8803 oral takviyeleri aldıktan sonra, insan deneklerin transepidermal su kaybını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Ogawa et al. 2016). Plasebo kontrollü insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada iki ay boyunca *Lactobacillus paracasei* NCC2461 takviyesi alan gönüllülerin cilt hassasiyetini ve transdermal su kaybında azalma ayrıca cildin bariyer bütünlüğü üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu bilinen bir sitokin olan dolaşımdaki dönüştürücü büyüme faktörü beta'da (TGF- β) artış saptanmıştır. Bakteriyel takviyenin cilt bariyeri işlevi üzerinde olumlu bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Guéniche et al. 2013).

Bir mikrobiyal dengesizlik hali olan bağırsak disbiyozisi, cilt fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileme potansiyeline sahiptir. Bağırsakta oluşturulan metabolitler dolaşıma geçerek, öncelikli olarak ciltte birikebilir. Bunun sonucunda epidermal farklılaşmayı ve cilt bariyer bütünlüğünü bozabilir. Aromatik amino asitlerin metabolik ürünleri olan serbest fenol ve p-kresol, üretimi en belirgin şekilde *Clostridium difficile* tarafından tetiklendiğinden disbiyotik bağırsak ortamının

biyobelirteçleri olarak kabul edilir (O'Neill et al. 2016). Yapılan çalışmalarla, yüksek p-kresol serum seviyeleri ile azalmış cilt nemlenmesi ve bozulmuş keratinizasyon ilişkili bulunmuştur (Dawson et al. 2011, Miyazaki et al. 2014).

Sık görülen dermatolojik hastalıklardan biri olan atopik dermatit tanılı hastalarla yapılmış çok sayıda çalışmanın derlendiği bir yayında bağırsak mikrobiyomunda sağlıklı gönüllülere göre anlamlı farklılıklar saptandığı ve hastalığın cilt bağırsak aksı ile gelişebileceği vurgulanmıştır (Lee et al. 2018). Atopik dermatitli (n=90) hastalar ile bağırsak mikrobiyomu, 16S rRNA metagenomik sekans analizleri kullanılarak yapılan bir çalışmada *Faecalibacterium prausnitzii* ile atopik dermatit kliniği arasında güçlü bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada disbiyotik oluşumu destekler şekilde atopik dermatitli hastalarda SCFA seviyelerinde azalma da saptanmıştır (Song et al. 2016). Kronik ürtikerli (n=20) ve sağlıklı gönüllüler (n=20) ile yapılan bir çalışmada sağlıklı kontrollerin dışkı örneklerinde *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium leptum* ve *Faecalibacterium prausnitzii* sıklığı kronik ürtikerli hastalardan anlamlı derecede daha fazla saptanmıştır (Nabizadeh et al. 2017). Bir başka kronik cilt hastalığı olan psöriyazis ve bağırsak mikrobiyomu ilişkisinin araştırıldığı çalışmada *Faecalibacterium* artışı ve *Bacteroides* azalması ile psöriyazis ilişkilendirilmiştir (Codoner et al. 2018).

Bütün bu bulgular bağırsak mikrobiyomu ile yeni keşfedilmeye başlanan cilt homeostazi arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu kanıtlar niteliktedir. Bağırsak mikrobiyomundaki değişiklikler birçok hastalık gibi rosacea için de araştırılmaktadır. Bu cilt hastalığı uzun süre sivilce benzeri bir hastalık olarak yorumlanmıştır. Ancak şimdilerde bağışıklık sisteminin hassas bireylerde görülen bazı mikrobiyal ürünlere ve antijenlere maruz kalmasına karşı cilt damarlarının karakteristik, stereotipik bir cevap paterni olarak değerlendirilmektedir. Literatürde, yeni nesil dizileme yöntemleri kullanılarak rosacea ve bağırsak mikrobiyota ilişkisinin araştırıldığı sadece bir yayına ulaşılabilmektedir (Nam et al. 2017). Bunun dışındaki yapılan diğer çalışmalarda; genellikle somut verilere dayanmayan, daha çok yorumların yer aldığı görülmektedir. Bu tip yayınlarda rosacea kliniğindeki eritem, papül ve püstül oluşumu GİS disbiyozisi, *H. pylori* infeksiyonu ve dengesiz bağırsak mikrobiyomu ile ilişkilendirilmiştir (O'Neill et al. 2016). Benzer şekilde Egeberg ve ark. (2017), tarafından yapılan bir çalışmada rosacea, çölyak hastalığı, Crohn hastalığı, ülseratif

kolit, irritabl barsak sendromu ve bazı *Helicobacter pylori* enfeksiyonuyla önemli derecede ilişkili bulunmuştur. Ancak bu çalışmadaki çıkarımlar sadece *H. pylori* varlığı ile yapılmış olan kısıtlı yorumlardır.

Yapılan geniş kapsamlı literatür taramaları sonucunda, yeni nesil dizileme yöntemleri kullanılarak rosacea ve bağırsak mikrobiyota ilişkisinin az sayıda hastada (n=12) araştırıldığı sadece Nam ve ark.'larının bir çalışmasına ulaşılabilmektedir. Bizim çalışmamızda kullandığımız aynı sistemler, aynı primerler ve aynı analiz yöntemlerinin bu çalışmada da kullanıldığı görülmüştür. Bu çalışmada rosacea tanılı hepsi kadın olan 12 hastanın yaş ortalaması; 42.58, sağlıklı kontrol grubunun (n=251) yaş ortalaması; 43.02 olarak verilmiştir (Nam et al 2017). Söz konusu çalışmada; sağlıklı gönüllülerle gaita örneklerinden yapılan 16S rRNA sekans analizleri sonuçlarına göre rosacea hastalarında; *Acidaminococcus* ve *Megasphaera* daha yüksek oranda, *Slackia*, *Coprobacillus*, *Citrobacter* ve *Desulfovibrio* daha düşük oranda saptamıştır. Rosacea tanılı hastalarda sağlıklı gönüllülere göre *Acidaminococcus*, *Megasphaera* ve *Lactobacillales* istatistiki olarak daha yüksek oranda saptamış ve rosacea kliniği ile ilişkilendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda *Desulfovibrio*'nun düşüklüğü dışında farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Bizim çalışmamızdaki 16S rRNA sekans analizleri sonuçlarına göre rosacea hastalarında; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* ve *Roseburia intestinalis* daha yüksek oranda bulunmuştur (p < 0.05 ve LDA > 2). Bu bakteriler ve literatürde ilişkili bulunan hastalıklar tek tek ele alınacak olursa;

Rosacea hasta grubunda yüksek oranda saptadığımız *Lachnospira*, *Lachnoclostridium* bakterileri yapılan bir çalışmada bu bakterilerin kolonizasyonu, açlık kan glukozu seviyelerinin yanı sıra karaciğer ve mezenterik adipoz doku ağırlıklarında önemli artışlar sağlamıştır ve plazma insülin seviyeleri değerlerinde düşmelere neden olmuştur. Bu bakterinin bolluğu tip 2 diyabet gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Kameyama and Itoh 2014).

Bu çalışmada rosacea tanılı hastalarda yüksek oranda saptanan *Roseburia*, *Roseburia intestinalis* bakterileri; obeziteli kişilerde yapılan bir çalışmada da sağlıklı gönüllülere oranla daha yüksek oranda saptanmıştır. Bu bakterilerin, enerji dengesini olumlu yönde etkileyen, sindirilmemiş liflerden büyük miktarda enerji çıkardığı

düşünülmektedir. Enerji dengesindeki bu etkinin mikrobiyal kompozisyon değişiminde önemli bir rolü olabileceği düşünülmüştür (Murugesan et al. 2015). Geng ve ark. (2013) koleraktal kanserli hastalarda 16S rRNA sekans analizleri sonucunda *Roseburia* türlerinde anlamlı artış saptamışlar ve bu artışın disbiyozis ve hastalık gelişimi ile ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır. Bazı *Roseburia* türleri ise salgıladıkları özel proteinler ile bağırsaklardan IL-8 salınımına neden olarak porinflamatuar etkiler açığa çıkarabilmektedir. İlişkilendirildiği hastalıkların patogeneğinde bu mekanizmanın etkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak buna tam zıt olacak şekilde *Roseburia* türlerinin sağlık için faydalı olduğunu hatta sağlık durumunun iyi olduğunun göstergesi olabilecek bir biyo belirteç olabileceği öne sürülmektedir. Burada üzerinde durulan mekanizma; *Roseburia* türlerinin bağırsaktaki mün katmanlarına kolonize olarak ve SCFA üretimi ile antiinflamatuvar özellikler gösterdiği şeklinde açıklanmaktadır. Çalışmamızda rosacea tanılı hastalardan elde edilen bilgilere göre %65'i karbonhidrat ağırlıklı beslenmektedir. Bu da *Roseburia* gibi fermentatif özellikleri yüksek olan bazı bakterilerin daha yüksek oranda saptanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Yüksek oranda *Roseburia* varlığı hızlı kolonik geçiş zamanı ile de ilişkilendirilmektedir. Bunun da hastalarda görülen azalmış çeşitliliğin nedenlerinden olabileceği düşünülmüştür (Tamanai-Shacoori et al. 2017).

Hastalarda yüksek oranda saptanan bu bakteriler, farklı bakteriler gibi görünse de hepsi *Lachnospiraceae* ailesine dahildir. Dolayısıyla daha genel bir ifade kullanmak gerekirse rosacea hastalarının bağırsaklarında *Lachnospiraceae* ailesinde bir artış söz konusudur. Aynı aile üyeleri (Şekil 11'de 22, 29, 36 nolu satırlarda) sağlıklı kontrol grubundaki sadece ikişer örnekte yüksek bulunmuştur. Bu durumun rosacea hastaları için önemli olduğu açık bir şekilde görülmektedir. Bunun hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan bir unsur olabileceği düşünüldü. Bu durumda; *Roseburia* türleri ile ilgili literatürdeki görüşlerden birincisinin öne çıktığı söylenebilir. Diğer bir deyişle bu bakterilerin kontrol grubuna göre hastalarda artmış olmasından dolayı, iyi sağlık durumunun göstergesi olduğu görüşünü desteklemek mümkün görünmemektedir.

Bu çalışmada araştırılan sağlıklı gönüllülerde ise *Prevotellaceae*, *Prevotella copri*, *Coriobacteriaceae*, *Desulfovibrio*, *Ruminococcaceae*, *Ruminococcus*, *Clostridiales*,

Clostridiales Family 13, Selenomonadales, Succinivibrio, Hungatella, Mollicutes, Butyricimonas virosa, Alisitipes, Oscillospira ve Erysipelotrichaceae gibi cins, tür, aile, takım bazında etkenler istatistiki olarak daha yüksek oranda saptanmıştır ($p < 0.05$ ve $LDA > 2$) (Şekil 11). Şekil 11’de de görüleceği üzere kontrol grubunda yüksek oranda bulunan bakteriler; *Clostridiales* takımı (Satır 11, 12, 19, 21, 22, 24, 25, 27, 29, 32, 33, 34, 35, 37, 38, 39, 40), *Prevotellaceae* ailesi (Satır 8, 20, 26), *Coriobacteriaceae* ailesi (satır 9, 13, 28), *Desulfovibrio* cinsi (Satır 10), *Selenomonadales* takımı (Satır 14, 15, 17), *Succinivibrio* cinsi (Satır 16, 18), *Butyricimonas virosa* türü (Satır 23), *Mollicutes* sınıfı (Satır 30), *Alistipes* cinsi (Satır 31) ve *Erysipelotrichaceae* ailesi (Satır 36) şeklinde sadeleştirilebilir. Ayrıca Şekil 11’de 33 farklı bakterinin kontrol grubunda yüksek oranda saptanmış olduğu görülse de her satırda görülen bakterinin daha detay verilerine inildiğinde büyük bir kısmının sadece 1-2 sağlıklı bireyde yüksek olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı çıksa da 1-2 kişide saptanan yüksekliklerin bize net çıkarımlar sağlayamayacağı değerlendirildi. Oysa ki *Coriobacteriaceae* (satır 9), *Ruminoococcaeae* (satır 11), *Butyricimonas virosa* (Satır 23) ve *Clostridiales* (satır 24) bakterileri ise hasta grubuna göre sağlıklı kontrol grubunun çoğunda yüksek olduğu saptanmıştır. Dikkate alınması ve üzerinde önemle durulması gereken bu grup bakterilerdir. Çünkü rosacea hastalarında bu grup bakterilerin miktarı azalmıştır. Söz konusu bakteriler ve literatürde ilişkili bulunan hastalıklar tek tek ele alınacak olursa;

Sağlıklı gönüllülerde yüksek oranda saptadığımız *Corinobacteriaceae* ailesi tip 2 diyabetin tedavisinin araştırıldığı bir çalışmada, kontrol grubunda yüksek oranda saptanmasından dolayı, tip 2 diyabetin iyileşmesine katkıda bulunabilecek spesifik bir bağırsak mikrobiyomu olabileceği vurgulanmaktadır (Liu et al. 2018). Kang ve ark. (2017) anti-obezite etkinliği olan kapsasin ile, obez farelerde yaptıkları çalışmalarda önemli bir SCFA olan bütirat üreten, *Clostridiales* ailesindeki iki önemli taksondan biri olan *Ruminococcaceae* türlerinde artış saptamışlardır. Bu artmış SCFA oranları ile obeziteye neden olan disbiyotik tablonun tersine çevrilebileceğini yorumları dikkate değerdir. MS tanılı hastalarla yapılan bir çalışmada anlamlı olarak azalmış *Butyricimonas* saptanmıştır. Bir SCFA olan bütirat üretimi ile bu bakteri kolondaki regülatör T lenfositleri uyarır. Kolonik bütirattaki azalma, bariyer fonksiyonunu bozabilir ve inflamasyona neden olabilir (Jangi et al.

2016). Söz konusu bu bakterilerin rosacea hastalarında azalmış olması önemli bir veri olup, hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan bir unsur olabileceği söylenebilir.

Kontrol grubundaki 1-2 kişide hasta gruba göre yüksek oranda bulunan bakteriler; *Succinivibrio*, *Oscillospira*, *Prevotellaceae*, *Prevotella*, *Alistipes*, *Mollicutes*, *Erysipelotrichaceae*, *Desulfovibrio* ve *Selenomonadales* şeklindedir. Obez hastalarla yapılan bir çalışmada *Succinivibrio* ve *Oscillospira* bakterileri kontrol grubuna oranla daha düşük saptanmıştır. Bu bakterilerin SCFA'lardan üretilen enerjinin düzenlenmesinde ve SCFA üretimindeki dengede rolü olabileceği öne sürülmüştür (Murugesan et al. 2015). Alkolik olmayan karaciğer hastalığı olan bireyler ile yapılan bir çalışmada *Alistipes* ve *Prevotella* sağlıklı kontrollerde çok daha yüksek oranda saptanmıştır. Yüksek oranda SCFA üretebilen *Prevotella* azalmasının disbiyozisi tetikleyebileceği ve bu iki bakteri türünün hastalığın gelişimine karşı koruyucu etki gösterebileceği öne sürülmüştür (Jiang et al. 2015). Rosacea hastalarında yapılan bir çalışmada *Desulfovibrio* türleri kontrol grubuna göre bizim çalışmamızda da olduğu gibi daha düşük oranda saptanmıştır (Nam et al.) Bununla birlikte IBS hastalarında azalmış *Desulfovibrio* türleri tespit edilen çalışmalar rosacea / IBS ve mikrobiyal kolonizasyon arasındaki ilişkiyi açıklamada kullanılabileceğini öne sürmüştür (Malinen et al. 2005).

Ayrıca sekans analiz sonuçlarına göre enterotiplendirme yapıldığında rosacea hastalarının ve sağlıklı gönüllülerde aynı oranlarda enterotipler saptanmıştır. Bu sonuç rosacea kliniği ile enterotip ilişki potansiyelini yorumlamamızı kısıtlamaktadır.

Nam ve ark. (2017) yaptıkları 16S rRNA sekans analizleri sonuçlarına göre sağlıklı kontrol grubuna göre rosacea tanılı hastalarda alfa çeşitlilikte azalma, beta çeşitlilikte de farklılıklar tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da alfa çeşitlilikte PD analizleri sonucunda rosacea tanılı hastalarda sağlıklı gönüllülere oranla azalmış mikrobiyom çeşitliliği saptandı. Beta çeşitlilikte de Bray-Curtis analizleri sonucunda iki gruptaki tespit edilen tür içeriğinin birbirlerinden farklılaştığı saptandı. Tüm bu sonuçların disbiyozis gelişimi ve rosacea kliniğine rol açabilecek potansiyel faktörler olabileceği düşünüldü. Prebiyotik ve probiyotiklerin tedavi için alternatif olarak denenebileceği düşünüldü.

Sekans analizlerinde, V1-V3 ve V3-V5 gen bölgelerini hedefleyen primerlerin birlikte kullanılması, daha fazla bakteri yakalayabilmek ve daha derinlemesine sonuç eldesi için önerilmektedir (Thomas and Dore 2015). Bizim çalışmamızda V3-V4 bölgelerini hedeflediğimiz için elde ettiğimiz sonuçlar bazı yorumlarımızı kısıtlamış olabilir. Ayrıca birtakım biyo belirteçlerin bakılmamış olması, kantitasyon yapılamamış olması, hasta ve kontrol grubu sayısının az olması, PERMANOVA analizinin yapılamamış olması gibi kısıtlayıcı unsurlar mevcuttur.

Sonuç ve öneriler;

- Rosacea tanılı hastaların, kontrol grubu olan sağlıklı gönüllülere göre gaita pH ortalamaları ve Bristol skorları daha yüksek bulundu. Bu azalmış kolonik transit zamanı ve yükselmiş pH disbiyozis oluşumu için potansiyel faktör olarak değerlendirildi.
- 16S rRNA sekans analizleri sonuçlarına göre hem kontrol grubu sağlıklı gönüllülere göre azalmış filogenetik çeşitlilik hem de gruplar arasında oluşmuş tür farklılıkları tespit edildi. Tespit edilen çeşitliliği azalmış ve farklılaşmış mikrobiyom rosacea gelişimi için bir faktör olarak değerlendirildi.
- Metagenomik DNA analizleri sonuçlarına göre rosacea hastalarında sağlıklı gönüllülere göre; *Lachnospira*, *Lachnoclostridium*, *Roseburia* ve *Roseburia intestinalis* istatistiki olarak daha yüksek saptanırken *Coriobacteriaceae*, *Ruminoococcaeae*, *Butyricimonas virosa* ve *Clostridiales* bakterileri ise düşük oranda oranda saptandı. Bu farklılıkların rosacea kliniği ile dolaylı disbiyotik yollar ile ilişkili olabileceği düşünüldü.
- Tespit edilen azalmış ve artmış bakteriyel topluluklar sonucunda; rosacea hastalığı ile bağırsak disbiyozisi arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Prebiyotik ve probiyotikler tedavi için alternatif olarak denenebilir.
- Literatürde rosacea ve bağırsak mikrobiyomu ilişkisini inceleyen bir çalışmaya ulaşılabildiğinden öne çıkan mikroorganizmaların anlamlandırılabilmesi için daha çok sayıda ve daha fazla örnekleme sahip çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abram K, Silm H, Maaros HI, Oona M. (2010). Risk factors associated with rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 24:565-571.
- Addor FA. (2016). Skin barrier in rosacea. *An Bras Dermatol*, 91:59-63.
- Ahmad OF, Akbar,A. (2016). Microbiome, antibiotics and irritable bowel syndrome. *Br Med Bull*, 120: 91-99.
- Akpek EK, Merchant A, Pinar V, Foster CS. (1997). Ocular rosacea: patient characteristics and follow-up. *Ophthalmology*, 104:1863-1867.
- Akyol İ, Yıldız MA, Tutar E. (2017). Yeni nesil nükleotid dizileme metotlarının biyokimyasal temelleri, *KSÜ Doğa Bil Derg*, 20(1): 1-15.
- Arck PC, Slominski A, Theoharides TC, Peters EM, Paus R. (2006). Neuroimmunology of stress: skin takes center stage. *J Invest Dermatol*, 126:1697-1704.
- Balmer ML, Slack E, de Gottardi A, Lawson MA, Hapfelmeier S, Miele L, Grieco A3, Van Vlierberghe H, Fahrner R, Patuto N, Bernsmeier C, Ronchi F, Wyss M, Stroka D, Dickgreber N, Heim MH, McCoy KD, Macpherson AJ. (2015). The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its commensal microbiota. *Sci Transl Med*, 6:237.
- Barco D, Alamor A. (2008). Rosacea. *Actas Dermosifiliogr*, 99:244-256.

- Barko PC, McMichael MA, Swanson KS, Williams DA. (2018). The gastrointestinal microbiome: a review. *J. Vet. Intern. Med*, 32:9–25.
- Bengi G, Yalçın M, Akpınar H. (2014). Kronik konstipasyona güncel yaklaşım. *GG*, 18(1):72-88.
- Berg M, Liden S. (1989). An epidemiological study of rosacea. *Acta Dermatol Venereol*, 69:419–423.
- Björkstén B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. (2001). Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*, 108: 516-520.
- Blake MR, Raker JM, Whelan K. (2016). Validity and reliability of the Bristol stool form scale in healthy adults and patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*, 44: 693-703.
- Blount BW, Pelletier AL. (2002). Rosacea: a common yet, commonly overlooked, condition. *Am Fam Physician*, 66:435-440.
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120.
- Bonnar E, Eustace P, Powell FC. (1993). The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol*, 28(3):443–448.
- Bowe WP, Logan AC. (2011). Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis - back to the future? *Gut Pathog*, 3: 1.
- Bull MJ, Plummer NT. (2014). Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integr Med (Encinitas)*, 13: 17-22.
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK. et al. Fierer N, Gonzalez Peña A, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA,

- Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knigh R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 7:335-336.
- Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. (2015). Intestinal microbiota and celiac disease: cause, consequence or co-evolution? *Nutrients*, 7:6900-6923.
- Chauhan N, Ellis DAF. (2013). Rosacea pathophysiology and management principles. *Facial Plast Surg Clin N Am*,21:127–136.
- Clarridge JE. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*, 17: 840-862.
- Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*,148:1258-1270.
- Coburn B, Wang PW, Diaz Caballero J, Clark ST, Brahma V, Donaldson S, Zhang Y, Surendra A, Gong Y, Tullis DE, Yau YC, Waters VJ, Hwang DM, Guttman DS. (2015). Lung microbiota across age and disease stage in cystic fibrosis. *Sci Rep*, 5: 10241.
- Codoner FM, Ramirez-Bosca A, Climent E, Carrion-Gutierrez M, Guerrero M, Perez-Orquin JM, Horga de la Parte J, Genoves S, Ramon D, Navarro-Lopez V, Chenoll E. (2018). Gut microbial composition in patients with psoriasis. *Sci Rep* ,8(1): 3812.
- Cohen AF, Tiemstra JD. (2002). Diagnosis and treatment of rosacea. *J Am Board Fam Pract*, 15(3):214–217.
- Cohen AF, Tiemstra JD. (2002). Diagnosis and treatment of rosacea. *J Am Board Fam Pract*, 15(3):214–217.
- Cole JR, Chai B, Farris RJ, Q. Wang, Kulam-Syed-Mohideen AS, McGarrell DM, Bandela AM, Cardenas E, Garrity GM, Tiedje JM. (2007). The ribosomal

- database project (RDP-II): introducing myRDP space and quality controlled public data. *Nucleic Acids Res*, 35: 169-172.
- Collins SM, Surette M, Bercik P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol*, 10(11):735-742.
- Crawford GH, Pelle MT, James WD. (2004). Rosacea: I. Etiology, pathogenesis and subtype classification. *J Am Acad Dermatol*, 51(3);327–341.
- Culp B, Scheinfeld N. (2009). Rosacea: A review. *P T*, 34:38–45.
- D'Argenio V, Salvatore F. (2015). The role of the gut microbiome in the healthy adult status. *Clin Chim Acta*, 451: 97-102.
- Dawson LF, Donahue EH, Cartman ST, Barton RH, Bundy J, McNerney R, Minton NP, Wren BW. (2011). The analysis of para-cresol production and tolerance in *Clostridium difficile* 027 and 012 strains. *BMC Microbiol*, 11:86.
- de Moraes JG, Motta ME, Beltrao MF, Salviano TL, de Silva GA. (2016). Fecal microbiota and diet of children with chronic constipation. *Int J Pediat*, 2016:6787269.
- de Theije CG, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol J, Garssen J, Kraneveld AD, Oozeer R. (2014). Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*, 37:197-206.
- Del Rosso JQ, Gallo RL, Tangheiti E, Webster G, Thiboutot D. (2013). An evaluation of potential correlations between pathophysiologic mechanisms, clinical manifestations, and management of rosacea. *Cutis*, 91:1-8.
- DeLong EF, Pace NR. (2001). Environmental diversity of bacteria and archaea. *Syst Biol*, 50:470-478.
- Dinan TG, Stilling RM, Stanton C, Cryan JF. (2015). Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *J Psychaitric Res*, 63:1-9.

- Ding T, Schloss PD. (2014). Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature*, 509:357-60.
- Dönmez D, Şimşek Ö, Aka Kaçar Y. (2015). Yeni nesil DNA dizileme teknolojileri ve bitkilerde kullanımı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(1): 30-37.
- Edgar RC, Haas, BJ, Clemente JC, Quince C, Knight, R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27: 2194-2200.
- Egeberg A, Weinstock LB, Thyssen EP, Gislason GH, Thyssen JH. (2017). Rosacea and gastroin-testinal disorders: a population-based cohort study. *Br J Dermatol*, 176: 100–106.
- Elewski BE, Draelos Z, Dreno B, Jansen T, Layton A, Picardo M. (2011). Rosacea-global diversity and optimized outcome: proposed international consensus from the Rosacea International Expert Group. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 25:188-200.
- Erbağcı Z. (2005). Rozasea: sınıflama ve etyopatogeneizde son görüşler. *Türkiye Klinikleri J Dermatol*, 15:105-116.
- Erdem T, Metin N. (2012). Rosacea. *Dermatose*, 3:19-26.
- Fimmel S, Abdel-Naser MB, Kutzner H, Kligman AM, Zouboulis CC. (2008). New aspects of the pathogenesis of rosacea. *Drug Discov Today Dis Mech*, 5:103-111.
- Forbes JD, Van Domselaar G, Bernstein CN. (2015). The gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases. *Front Microbiol*, 7:1081.
- Foster JA, McVey Neufeld KA. (2013). Gut-brain axis: how the microbiota influences anxiety and depression. *Trends Neuroscience*, 36:305-312.
- Fowler J, Jarratt M, Moore A, Meadows K, Pollack A, Steinhoff M, Liu Y, Leoni M (2012). Brimonidine Phase II Study Group. Once-daily topical brimonidine tartrate gel 0.5% is a novel treatment for moderate to severe facial erythema

- of rosacea: results of two multicentre, randomized and vehicle-controlled studies. *Br J Dermatol*, 166:633-641.
- Gallo RL, Nakatsuji T. (2011). Microbial symbiosis with the innate immune defense system of the skin. *J Invest Dermatol*, 131: 1974-1980.
- Geng J, Fan H, Tang X, Zhai H, Zhang Z. (2013). Diversified pattern of the human colorectal cancer microbiome. *Gut Pathog*, 5:2.
- Groeger D, O'Mahony L, Murphy EF, Bourke JF, Dinan TG, Kiely B, Shanahan F, Quigley EMM. (2013). *Bifidobacterium infantis* 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut. *Gut Microbes*, 4:325–339.
- Guéniche A, Philippe D, Bastien P, Reuteler G, Blum S, Castiel-Higounenc I, Breton L, Benyacoub J. (2013). Randomised double-blind placebo-controlled study of the effect of *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 on skin reactivity, *Benef Microbes*, 5: 137-145.
- Halder RM, Brooks HL, Callendar VD. (2003). Acne in ethnic skin. *Dermatol Clin*, 21(4).
- Hoag S, Raspa RF. (2007). Help for the patient with rosacea. *Patient Care Dermatology*, 9-12.
- Holmes AD, Steinhoff M. (2017). Integrative concepts of rosacea pathophysiology, clinical presentation and new therapeutics. *Exp Dermatol*, 26:659-667.
- Horii Y, Kaneda H, Fujisaki Y, Fuyuki R, Nakakita Y, Shigyo T, Nagai K. (2014). Effect of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 on cutaneous arterial sympathetic nerve activity, cutaneous blood flow and transepidermal water loss in rats. *J Appl Microbiol*, 116: 1274-1281.
- Ipci K, Altıntoprak N, Muluk NB, Senturk M, Cingi C. (2017). The possible mechanisms of the human microbiome in allergic diseases. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*, 274:1–10.

- Jangi S, Gandhi R, Cox LM, Li N, von Glehn F, Yan R, Patel B, Mazzola MA, Liu S, Glanz BL, Cook S, Tankou S, Stuart F, Melo K, Nejad P, Smith K, Topçulu BD, Holden J, Kiviask P, Chitnis T, De Jager PL, Quintana FJ, Gerber GK, Bry L, Weiner HL (2016). Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun*, **7**: 12015.
- Jiang W, Wu N, Wang X, Chi Y, Zhang Y, Qiu X, Hu Y, Li J, Liu Y. (2015). Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease, *Sci Rep*, **5**: 8096.
- Jones DA. (2009). Rosacea, reactive oxygen species, and azelaic acid. *J Clin Aesthet Dermatol*, **2**(1):26–30.
- Jones RM. (2016). The Influence of the Gut Microbiota on Host Physiology: In Pursuit of Mechanisms. *Yale J Biol Med*, **89**: 285-297.
- Kameyama K, Itoh K. (2014). Intestinal colonization by a Lachnospiraceae bacterium contributes to the development of diabetes in obese mice. *Microbes Environ*, **29**: 427-430.
- Kang C, Wang B, Kaliannan K, Wang X, Lang H, Hui S, Huang L, Zhang Y, Zhou M, Chen M, Mi M. (2017). Gut microbiota mediates the protective effects of dietary capsaicin against chronic low-grade inflammation and associated obesity induced by high-fat diet. *Mbio*, **8**(3): e00900-17.
- Kawana S, Ochiai H, Tachihara R. (2007). Objective evaluation of the effect of intense pulsed light on rosacea and solar lentigines by spectrophotometric analysis of skin color. *Dermatol Surg*, **33**:449–454.
- Kosiewicz MM, Dryden GW, Chhabra A, Alard P. (2104). Relationship between gut microbiota and development of T cell associated disease. *FEBS Lett*, **588**: 4195-4206.
- Kozich JJ, Westcott SL, Baxter NT, Highlander SK, Schloss, PD. (2013). Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for

analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Appl Environ Microbiol*, 79: 5112-5120.

Köroğlu M. (2017). Mikrobiyota çalışmalarında örnek alımı ve DNA izolasyonu. *J Biotechnol and Strategic Health Res*, 1(Special issue):50-55.

Kroshinsky D, Glick SA. (2006). Pediatric rosacea. *Dermatol Ther*, 19(4):196–201.

Kumar R, Eipers P, Little RB, Crowley M, K. Crossman DK, Lefkowitz EJ, Morrow CD. (2014). Getting started with microbiome analysis: sample acquisition to bioinformatics. *Curr Protoc Hum Genet*, 82:1-41.

Larson AA, Goldman MP. (2007). Recalcitrant rosacea successfully treated with multiplexed pulsed dye laser. *J Drugs Dermatol*, 6:843–845.

Lazaridou E, Giannopoulou C, Fotiadou C, Vakirlis E, Trigoni A, Ioannides D. (2011). The potential role of microorganisms in the development of rosacea. *J Dtsch Dermatol Ges*, 9(1):21–25.

Lee SY, Lee E, Park YM, Hong SJ. (2018). Microbiome in the Gut-Skin axis in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res*, 10: 354-362.

Levkovich T, Poutahidis T, Smillie C, Varian BJ, Ibrahim YM, Lakritz JR, Alm EJ, Erdman SE. (2013). Probiotic bacteria induce a ‘glow of health’. *Plos One* 28(1): e53867.

Lewis SJ, Heaton KW. (1997). Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol*, 32: 920–924.

Liu H, Zhang H, Wang X, Yu X, Hu C, Zhang X. (2018). The family Coriobacteriaceae is a potential contributor to the beneficial effects of Roux-en-Y gastric bypass on type 2 diabetes. *Surg Obes Relat Dis*, 14(5):584-593.

Loser K, Beissert S. (2012). Regulatory T cells: banned cells for decades. *J Invest Dermatol*, 132:864–871.

Lyte M. (2014). Microbial endocrinology and the microbiota-gut-brain axis. *Adv Exp Med Biol*, 817: 3-24.

- Malinen E, Rinttilä T, Kajander K, Mättö J, Kassinen A, Krogius L, Saarela M, Korpela R, Palva A (2005). Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR. *Am J Gastroenterol*, 100: 373–382.
- Mayer EA, Knight R, Mazmanian SK, Cryan JF, Tillisch K. (2014). Gut microbes and brain: paradigm shift in neuroscience. *J Neurosci*, 34(46):15490-15496.
- Meijer K, de Vos P, Priebe MG. (2010). Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health? *Curr Opin Clin Nutr. Metab Care* 13:715–721.
- Mell B, Jala VR, Mathew AV, Byun J, Waghulde H, Zhang Y, Haribabu B, Vijay-Kumar M, Pennathur S, Joe B. (2015). Evidence for a link between gut microbiota and hypertension in the Dahl rat. *Physiol Genomics*, 47:187-197.
- Meylan E, Tschopp J, Karin M. (2006). Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature*, 442:39-44.
- Miyazaki K, Masuoka N, Kano M, Iizuka R. (2014). Bifidobacterium fermented milk and galacto-oligosaccharides lead to improved skin health by decreasing phenols production by gut microbiota. *Benef Microbes*, 5:121–128.
- Modi S, Harting M, Rosen T. (2008). Azithromycin as an alternative rosacea therapy when tetracyclines prove problematic. *J Drugs Dermatol*, 7:898-899.
- Moore-Connors JM, Dunn KA, Bielawski JP, Van Limbergen J. (2016). Novel strategies for applied metagenomics. *Inflamm. Bowel Dis*, 22:709–718.
- Moschen AR, Wieser V, Tilg H. (2012). Dietary Factors: Major Regulators of the Gut's Microbiota. *Gut Liver*, 6: 411-416.
- Murugesan S, Ulloa-Martínez M, Martínez-Rojano H, Galván-Rodríguez FM, Miranda-Brito C, Romano MC, Piña-Escobedo A, Pizano-Zárata ML, Hoyo-Vadillo C, García-Mena J. (2015). Study of the diversity and short-chain fatty

acids production by the bacterial community in overweight and obese Mexican children. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis*, 34: 1337–1346.

Nabizadeh E, Jazani MNH, Bagheri M, Shahabi S. (2017). Association of altered gut microbiota composition with chronic urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 119: 48-53.

Nam JH, Yun Y, Kim HS, Kim HN, Jung HJ, Chang Y, Ryu S, Shin H, Kim HL, Kim, WS. (2018). Rosacea and its association with enteral microbiota in Korean females. *Experimental Dermatology*, 27:37–42.

Napierkowski DB. (2016). Rosacea: Diagnosis and management. *Nurse Pract*, 41(4):8-13.

Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. (2012). Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 336:1262–1267.

Nicholson K, Abramova L, Chren MM, Yeung J, Chon SY, Chen SC. (2007). A pilot quality-of-life instrument for acne rosacea. *J Am Acad Dermatol*, 57:213-221.

Norwood R, Norwood D. (2007). Treating rosacea. *US Pharmacist*, 32(9):45–53.

Ogawa M, Saiki A, Matsui Y, Tsuchimoto N, Nakakita Y, Takata Y, Takata Y, Nakamura T. (2016). Effects of oral intake of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 (SBL88™) on dry skin conditions: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Exp Ther Med*, 12: 3863-3872.

Ohigashi S, Sudo K, Kobayashi D, Takahashi O, Takahashi T, Asahara T, Nomoto K, Onodera H. (2013). Changes of the intestinal microbiota, short chain fatty acids and fecal pH in patients with colorectal cancer. *Digest Dis Sci*, 58: 1717-1726.

O'Neill CA, Monteleone G, McLaughlin JT, Paus R. (2016). The gut-skin axis in health and disease: A paradigm with therapeutic implications. *Bioessays*, 38(11):1167-1176.

- Parodi A, Paolino S, Greco A. (2008). Small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: clinical effectiveness of its eradication. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 6:759–64.
- Peters EM, Ericson ME, Hosoi J, Seiffert K, Hordinsky MK, Ansel JC, Paus R, Scholzen TE. (2006). Neuropeptide control mechanisms in cutaneous biology: physiological and clinical significance. *J Invest Dermatol*, 126:1937-1947.
- Peters EM. (2016). Stressed skin? – a molecular psychosomatic update on stress-causes and effects in dermatologic diseases. *J Dtsch Dermatol Ges*, 14:233-252.
- Powell FC. (2005). Clinical practise, rosacea. *N Eng J Med*, 325(8):793-803.
- Pray WS, Pray JJ. (2004). Differentiating between rosacea and acne. *US Pharmacist*, 29(4).
- Rainer BM, Kang S, Chien AL. (2017). Rosacea: epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Dermatoendocrinol*, 9(1):e1361574.
- Rea K, Dinan TG, Cryan JF. (2016). The microbiome: A key regulator of stress and neuroinflammation. *Neurobiol Stress*, 4: 23-33.
- Rhoads A, Au KF. (2015). PacBio sequencing and its applications. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 278-289.
- Salem I, Ramser A, Isham N, Ghannoum MA. (2018). The gut microbiome as a major regulator of the gut-skin axis. *Front Microbiol*. 9:1459.
- Salzer S, Kresse S, Hirai Y, Koglin S, Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. (2014). Cathelicidin peptide LL-37 increases UVB triggered inflammasome activation: possible implications for rosacea. *J Dermatol Sci*, 76:173-179.
- Samuelson DR, Welsh DA, Shellito JE. (2015). Regulation of lung immunity and host defense by the intestinal microbiota. *Front Microbiol*, 6:1085.

- Sanschagrín S, Yergeau E. (2014). Next-generation Sequencing of 16S ribosomal RNA gene amplicons. *J Vis Exp*, 90:1-6.
- Schauber J, Gallo RL. (2008). Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol*, 122:261-266.
- Scheinfeld N, Berk T. (2010). A review of the diagnosis and treatment of rosacea. *Postgrad Med*, 122(1):139-143.
- Schlesinger TE, Powell CR. (2013). Efficacy and tolerability of low molecular weight hyaluronic acid sodium salt 0.2% cream in rosacea. *J Drugs Dermatol*, 12(6):664-667.
- Schwarz A, Bruhs A, Schwarz T. (2017). The short-chain fatty acid sodium butyrate functions as a regulator of the skin immune system. *J Investig Dermatol*, 1:855–864.
- Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol*, 12(6):R60.
- Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 90:859-904.
- Sherwin E, Rea K, Dinan TG, Cryan JF. (2016). A gut (microbiome) feeling about the brain. *Curr Opin Gastroenterol*, 32:96-102.
- Sirishinha S. (2016). The potential impact of gut microbiota on your health: Current status and future challenges. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 34:249-264.
- Song H, Yoo Y, Hwang J, Na YC, Kim HS. (2016). *Faecalibacterium prausnitzii* subspecies-level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 137(3):852–860.
- Stein L, Kircik L, Fowler J, Tan J, Draelos Z, Fleischer A, Appell M, Steinhoff M, Lynde C, Liu H, Jacovella J. (2014). Efficacy and safety of ivermectin 1% cream in treatment of papulopustular rosacea: results of two randomized,

- double-blind, vehicle-controlled pivotal studies. *J Drugs Dermatol*, 13:316-323.
- Steinhoff M, Bergstresser PR. (2011). Pathophysiology of rosacea: introduction. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 15:1.
- Steinhoff M, Schaubert J, Leyden JJ. (2013). New insights into rosacea pathophysiology: a review of recent findings. *J Am Acad Dermatol*, 69:15–26.
- Tamanai-Shacoori Z, Smida I, Bousarghin L, Loreal O, Meuric V, Fong SB, Bonnaure-Mallet M, Jolivet-Gougeon A. (2017). *Roseburia* spp.: a marker of health? *Future Microbiol*, 12:157–170.
- Tan J, Schofer H, Araviiskaia E, Audibert F, Kerrouche N, Berg M. (2016). Prevalence of rosacea in the general population of Germany and Russia – The RISE study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 30:428-434.
- Taneja V. (2014). Arthritis susceptibility and the gut microbiome. *FEBS Lett*, 588: 4244-4249.
- Thakur AK, Shakya A, Husain GM, Emerald M, Kumar V. (2014). Gut-microbiota and mental health: current and future perspectives. *J Pharmacol Clin Toxicol*, 2(1):1-15.
- The Human Microbiome Project Consortium. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486:207-214.
- Thiboutot D, Thieroff-Ekerdt R, Graupe K. (2003). Efficacy and safety of azelaic acid (15%) gel as a new treatment for papulopustular rosacea: results from two vehicle-controlled, randomized phase III studies. *J Am Acad Dermatol*, 48:836-845.
- Thomas V, Dore J. (2015). Fecal microbiota analysis: an overview of sample collection methods and sequencing strategies. *Future Microbiol*, 10:1485–1504.

- Tüzün Y, Wolf R, Kutlubay Z, Karakuş O, Engin B. (2014). Rosacea and rhinophyma. *Clin Dermatol*, 32:35–46.
- Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. (2015). Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *J Am Acad Dermatol*, 72:749-758.
- van Zuuren EJ, Fedorowicz Z. (2016). Low-dose isotretinoin: An option for difficult-to-treat papulopustular rosacea. *J Invest Dermatol*, 136:1081-1083.
- Voelkerding KV, Dames SA, Durtschi JD. (2009). Next-generation sequencing: from basic research to diagnostics. *Clin Chem*, 55: 641-658.
- Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. (2010). The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia*, 53: 606-613.
- Walker AW, Duncan SH, McWilliam Leitch EC, Child MW, Flint HJ. (2005). pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon. *Appl Environ Microbiol*, 71: 3692 – 3700.
- Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odom R, Powell F. (2002). Standard classification of rosacea: Report of the national rosacea society expert committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol*, 46:584-587.
- Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Liang MH, Odom R, Powell F. (2004). National Rosacea Society Expert Committee. Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol*, 50:907-912.
- Wollina U. (2011). Rosacea in the elderly. *Clin Dermatol*, 29:61-68.
- Wu GD, Lewis JD. (2013). Analysis of the human gut microbiome and association with disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*, 11:774–777.

Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, Murakami M, Ohtake T, Coda A, Dorschner RA, Bonnart C, Descargues P, Hovnanian A, Morhenn VB, Gallo RL. (2007). Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med*,13:975-980.

Yamasaki K, Gallo RL. (2009). The molecular pathology of rosacea. *J Dermatol Sci*, 55:77-81.

Yılmaz K, Altındış M. (2017). Sindirim Sistemi Mikrobiyotası ve Fekal Transplantasyon. *Nobel Med*, 13(1): 9-15.

Young VB, Schmidt TM. (2004). Antibiotic-associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota. *J Clin Microbiol*, 42: 1203-1206.

Zouboulis CC. (2009). The skin as an endocrine organ. *Dermatoendocrinol*, 1:250-252.

EKLER

Ek 1. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı

Doküman Tarih ve Sayısı: 27/06/2018-E.9014



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 16214662/050.01.04/ 45
Konu : Etik kural Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : 04.06.2018 tarihli ve 45 sayılı başvurunuz.

Destekleyicisi olduğunuz "Resaca Hastalarında Bağırsak Mikrobiyomunun Metagenomik DNA Profili" isimli klinik araştırma başvuru dosyanız ile ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği amaç, yöntem ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; etik ve bilimsel açıdan bir sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir ve uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER
Etik Kurulu Başkanı

EK :
20.06.2018 tarih ve 02 sayılı Etik Kurul Kararı (3 sayfa)

Yücel DEMİR
Etik Kurulu Sekr.
Yücel Demir

Güvenli Elektronik
İmzalı Aşılı ile Aynıdır.
27.06.2018

Dokümanı Doğrulamak İçin : <http://193.140.253.232/envision/Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=8E1M405MA>

Fakülte Halk Anaplastik Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Foruzköy Kampüsü, Karamak, Adapazarı/Sakarya
Tel:264 295 6430 Faks:264 295 6629
E-Posta: ttp@sakarya.edu.tr Elektronik İb: www.tip.sakarya.edu.tr



Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

ROSACEA HASTALARINDA BAĞIRSAK MİKROBİYOMUNUN METAGENOMİK DNA PROFİLİ

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Rosacea hastalarında bağırsak mikrobiyomunun metagenomik DNA profili başlıklı bir çalışma yürütmekteyiz. Bu çalışmanın amacı; rosacea hastalığı ile bağırsak mikrobiyomu arasındaki ilişkileri belirleyerek rosacea patogenezinin ışık tutmak yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarına yardımcı olmaktır. Bunu değerlendirirken hastaların invaziv olmayan gaita örneklerinden içerdiği bakteriyel profili saptamak amacıyla sekans analizleri yapılacaktır.

Bu çalışmada sizden sadece gaita örneği vermeniz istenecektir. Çalışmaya katılan kişiye olumsuz etkisi olabilecek herhangi bir müdahalede bulunulmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmak zorunda değilsiniz. Bu çalışmadan elde edilecek bulgular ilerde hastalığın ortaya çıkmasına yönelik mekanizmaların açıklanması ve hastanın gidişatına etkin olabilecek faktörlerin değerlendirilmesinde faydalı olabilir ancak size doğrudan faydası yoktur. Eğer çalışmaya katılmak istemezseniz bu sizin tedavinize en ufak bir etki oluşturamaz, bu durumla ilgili negatif bir etkiye maruz kalmazsınız. Çalışmaya katılmayı kabul etmeniz dahi istediğiniz an bundan rahatlıkla vazgeçebilirsiniz. Bu durumda olumsuz bir etki oluşturmayacaktır.

Bu çalışmadan elde edilen veriler araştırmacılar dışındaki herhangi bir üçüncü kişiye verilmeyecektir. Bu veriler sadece araştırmacıların ulaşmasına izin verilen veriler olacaktır. Çalışmadan elde edilen verilerin sonuçları bilimsel dergilerde yer alabilir ancak burada bireysel herhangi bir bilgi yer almaz. Bu çalışmada sizden alınan veriler şimdi veya daha sonra bilimsel çalışmalar için kullanılacaktır. Eğer çalışmayla ilgili sizi etkileyecek herhangi bir yeni bilgi ortaya çıkarsa bu bilgi sizinle paylaşılacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Araştırma Ekibinde Yer Alan ve Yetkin Bir Araştırmacının Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gönüllünün araştırma sürecinde ulaşabileceği araştırmacının telefonu:

Tanımlanan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Ek 3. Mini Anket Formu

Yaşınız:

Cinsiyetiniz:

Kullandığınız ilaçlar:

Kronik bir hastalığınız var mı?:

Beslenme şekliniz?: Karbonhidrat ağırlıklı / Hayvansal protein ağırlıklı / Karışık

Alkol, sigara kullanımınız:

Son 1 ay içerisinde antibiyotik, proton pompası inhibitörü kullandınız mı?:

Son 1 ay içerisinde prebiyotik/probiyotik ürün kullandınız mı?:

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Kerem YILMAZ

Doğum yeri ve tarihi: Bornova-1985

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Bekar

Askerlik durumu: Yapıldı

İletişim adresi ve telefonu: Serdivan/Sakarya, 05324783417

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2014- Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık eğitimi

2014- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-F. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Doktora eğitimi

2011-2013 Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-F. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans eğitimi

2003-2007 Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

2007-2012 Eczacı

2012-2014 Araştırma Görevlisi

2014- Araştırma Görevlisi

IV- Mesleki Deneyimi

2012-2014 Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-F. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

2014- Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık eğitimi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Viral Hepatitle Savaşım Derneği

Ankara Mikrobiyoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları:

Makaleler

- 1) Demiray T, **Yılmaz K**, Aydemir Ö, Köroğlu M, Özbek A, Halis F, Altındış M. Microbiological Evaluation Of Urinary Tract Infections In Elderly Men With Benign Prostatic Hyperplasia. *Turkish Journal of Geriatrics/Türk Geriatri Dergisi*, 2016;19(3):183-8.
- 2) **Yılmaz K**, Altındış M. Sindirim Sistemi Mikrobiyotası ve Fekal Transplantasyon. *Nobel Medicus Journal*,2017;13(1):9-15.
- 3) Aydemir Ö, Hatipoğlu H, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Kara İ, Demiray T. Mitral and Aortic Valve Endocarditis due to a Rare Microorganism: Abiotrophia defectiva and literature review, *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2017;25(4):650-653.
- 4) Demiray T, Aydemir Ö, Kılıç Ü, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Altındış M. Karbapenem Dirençli Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Karbapenemaz Saptanmasında Karbapenemaz İnaktivasyon Testinin Kullanımı, *Turk Mikrobiyol Cem Derg*, 2017;47(2):78-82.
- 5) **Yılmaz K**, Ermertcan Ş, Taşlı H, Kurutepe S, Demiray T. Pediatrik ve Yetişkin Hastalardan İzole Edilen *E. coli* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıklarının ve Virülans Faktörlerinin İrdelenmesi. *Online Turk Sag Bil Derg*, 2017;2(2):1-11.
- 6) Demiray T, Hafizoğlu T, Köroğlu M, **Yılmaz K**, Altındış M, Bir Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde Geç Başlangıçlı Kan Akımı Enfeksiyonlarına Neden Olan Ajanlar ve Antibakteriyel Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi; Gram Negatifler Baskın, *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 2017;2:45-50.

- 7) Demiray T, Yılmaz K, Koroğlu M, Altındış M. Seroprevalance Rates Of Hepatitis B Surface Antigen, Anti-Hepatitis C Virus And Anti-Human Immunodeficiency Virus ½ Certain Risk Groups. Viral Hepatitis Journal 2016;22(2):65-6.

Posterler

- 1) **Yılmaz K**, Demiray T, Koroğlu M, Kiliç Ü, Karabay O, Şahin K, Altındış M (2016). Germ Tube Test for the Rapid Discrimination of *Candida albicans* from Non-albicans Species by from Positive Blood Culture Bottles, GCCMID Kongresi, Dubai, Mayıs, 2016
- 2) **Yılmaz K**, Demiray T, Simsek A, Koroğlu M, Karabay O, Altındis M. A Case of Meningitis and Brain Abscess Caused by *Streptococcus constellatus*. ECCMID Kongresi, Viyana, Nisan, 2017.
- 3) Kiliç Ü, Demiray T, Koroğlu M, **Yılmaz K**, Özbek A, Altındış M. Detection and clinical implicaitons of biofilm formation among clinical isolates of *Sphingomonas paucimobilis*. ECCMID Kongresi, Viyana, Nisan, 2017.
- 4) Altındış M, Aslan FG, **Yılmaz K**, Demiray T, Koroğlu M, Relationship Between Viral Load and Hecpidin in Hepatitis B Paients, ESVC Kongresi, Stresa, Eylül, 2017.
- 5) Demiray T, Hafızoğlu T, Koroğlu M, **Yılmaz K**, Altındış M, Baseline Evaluation of Causative Agents and Their Susceptibility Patterns of Late-Onset Blood Stream Infections in A NICU, Balkan Kongresi, Sofia, Kasım, 2017.
- 6) **Yılmaz K**, Demiray T, Koroğlu M, Kiliç Ü, Karabay O, Altındış M, Germ tube test for early direction of treatment of Candidiasis by the

rapid discrimination of *Candida albicans* from non-*albicans*, EKMUD Kongresi, Antalya, Mayıs, 2018.

7) Hatipoğlu H, Kılbaş İ, Kılıç Ü, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Altındış M, Çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında kolistin ve sulbaktamın sinerjik etkinliğinin kombine gradient şerit test yöntemi ile araştırılması, EKMUD Kongresi, Antalya, Mayıs, 2018.

8) Aydemir Ö, Hatipoğlu H, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Kara İ, Demiray T, Altındış M, A case of mitral and aortic valve endocarditis due to a rare microorganism: *Abiotrophia defectiva*, EKMUD Kongresi, Antalya, Mayıs, 2018.

9) **Yılmaz K**, Ermertcan Ş, Taşlı H, Kurutepe S. Determination of virulence factors, antimicrobial susceptibility and ESBL production rates of pediatric uropathogenic *E. coli* strains. ECCMID Kongresi, Barselona, Mayıs, 2014.

10) **Yılmaz K**, Demiray T, Şimşek A, Köroğlu M, Karabay O, Altındış M (2016). Nadir Bir Menenjit Etkeni Olarak *Streptococcus Constellatus*. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kasım, 2016

11) **Yılmaz K**, Aydemir Ö, Aydemir Y, Demiray T, Köroğlu M, Altındış M (2016). Bronşektazi Tanısı İle Takip Edilen Bir Hastada Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu Etkeni Olarak *Pasteurella Canis*. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kasım, 2016

12) Demiray T, Köroğlu M, Kılıç Ü, **Yılmaz K**, Özdemir M, Altındış M (2016). Kolistin Dahil Çoklu İlaç Dirençli *K. Pneumoniae* İzolatlarında Seftazidim/Aviabaktam Kombinasyonunun In-Vitro Etkinliği 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kasım, 2016

- 13) Karakeçe E, Köroğlu M, **Yılmaz K**, Aydemir Ö, Terzi H, Aslan F, Altındış M (2016). Anti-Hiv ½ Pozitif Ve Western Blot Test Sonuçlarının İrdelenmesi. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kasım, 2016
- 14) Altındış M, Köroğlu M, **Yılmaz K**, Demiray T, İnci M, Ölmez M (2016). Nargileler Enfeksiyon Riski Taşıyor Mu? 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kasım, 2016
- 15) Aydemir Ö, Hatipoğlu H, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Kara İ, Demiray T, Altındış M, Abiotrophia defectiva'nın Neden Olduğu Enfektif Endokardit Olgusu, Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Kasım, 2017.
- 16) Altındış M, Aslan FG, **Yılmaz K**, Demiray T, Köroğlu M, Hepatit B Hastalarında Hepsidin Viral Yük İlişkisi, BUHASDER Kongresi, Dalaman, Kasım, 2017.
- 17) Öztaş FZ, Demiray T, Aydemir Ö, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Altındış M (2016). Kan Dolaşımını Enfeksiyonu Etkeni Olarak İzole Edilen Staphylococcus aureus İzolatlarının Antibiyotik Direnç Oranları; Sakarya, 6. Türkiye EKMUD Kongresi, Antalya, Mayıs, 2016
- 18) **Yılmaz K**, Demiray T, Aydemir Ö, Kiliç Ü, Köroğlu M, Çakmak G, Özbek A, Altındış M (2016). Streptococcus anginosus'un neden olduğu primer peritonit olgusu, 6. Türkiye EKMUD Kongresi, Antalya, Mayıs, 2016
- 19) Kiliç Ü, Demiray T, **Yılmaz K**, Aydemir Ö, Köroğlu M, Özbek A, Uslu Yuvaci H, Altındış M (2016). Gebelerde HBsAg, Anti-HCV ve Anti- HIV 1/2 seroprevelansı; Sakarya, 6. Türkiye EKMUD Kongresi, Antalya, Mayıs, 2016

- 20)Demiray T, **Yılmaz K**, Aydemir Ö, Köroğlu M, Özbek A, Altındış M (2016). Geriatrik Yaş Grubunda Benign Prostat Hiperplazisi Tanısı Almış Hastalarda İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkenleri, 31. ANKEM Kongresi, Muğla, Mayıs, 2016
- 21)Demiray T, Aydemir Ö, Kiliç Ü, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Özbek A, Altındış M (2016). Karbapenemaz İnaktivasyon Testinin Karbapenem Dirençli Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Tanısal Değerinin İrdelenmesi, 31. ANKEM Kongresi, Muğla, Mayıs, 2016
- 22)Aydemir Ö, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Demiray T, Altındış M (2016). Otomatik Kan Kültür Cihazında Pozitif Sinyal Alınan Şişelerden Gram Boyama Ve Kültür Sonuçlarının Uyumu, 31. ANKEM Kongresi, Muğla, Mayıs, 2016
- 23)Demiray T, Köroğlu M, Hafizoğlu T, **Yılmaz K**, Altındış M (2016). Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde Üç Yıllık Kan Kültürü Sürveyansı; Sakarya, 12. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, İstanbul, Nisan , 2106
- 24)**Yılmaz K**, Demiray T, Terzi HA, Köroğlu M, Özbek A, Altındış M (2016). Gebelerde İdrar Kültürlerinde Streptococcus agalactiae Üreme Oranları; Sakarya. 12. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, İstanbul, Nisan , 2106
- 25)**Yılmaz K**, Demiray T, Köroğlu M, Kiliç Ü, Özbek A, Karabay O, Altındış M (2016). Direkt Kan Kültür Şişesinden Yapılan Germ Tüp Testi ile Candida albicans ve albicans-dışı Candida İzolatlarının Hızlı Tanımlanması, 12. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, İstanbul, Nisan , 2106

- 26) **Yılmaz K**, Özbek A, Köroğlu M, Kılıç Ü, Demiray T, Terzi HA, Altındış M (2016). Pediatrik Yaş Grubunda Hepatit B ve C Virüsü Seroprevalansı; Sakarya, 13. Ulusal Viral Hepatit Kongresi, Antalya, Mart, 2016
- 27) Özbayraktar S, Gün R, Demiray T, Köroğlu M, Özbek A, **Yılmaz K**, Altındış M. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbi Kongresi, Antalya, Aralık, 2015.
- 28) **Yılmaz K**, Ermertcan Ş, Taşlı H, Kurutepe S, Üropatojenik E. coli İzolatlarında Virülans Faktörleri ile GSBL Varlığının ve Antimikrobiyal Duyarlılığının Belirlenmesi, Ulusal, Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara, Haziran 2014

Olgu Sunumu

- 1) **Yılmaz K**, Köroğlu M, Demiray T, Öğütlü A, Karabay O, Altındış M. Afrika Seyahati Sonrası İmporte Bir Sıtma Olgusu. *Online Turk Sag Bil Derg*, 2017;2(1):38-42.
- 2) Aydemir Ö, **Yılmaz K**, Aydemir Y, Demiray T, Köroğlu M, Altındış M. Bronşektazili bir hastada gelişen *Pasteurella canis* pnömonisi, *Balikesir Med J*;1(2):34-7.
- 3) **Yılmaz K**, Demiray T, Ölmez M, Kılıç Ü, Köroğlu M, Altındış M. Nadir Bir Menenjit ve Beyin Absesi Etkeni Olarak *Streptococcus constellatus*, *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*;1(1):31-3.
- 4) Kılıç Ü, Demiray T, Teoman E, **Yılmaz K**, Köroğlu M, Altındış M. Tipik olmayan öykü ile gelen bir paraziter deri enfestasyonu olgusu [A case of parasitic skin infestation presented with non-typical patient

history], Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi, Haziran 2016;1(2)-34-37.

Kitapta Bölüm

- 1) Temel, Klinik ve Tanısal Tıbbi Viroloji-Bölüm 16

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Ödüller

- 1) Dental ve Oral Enfeksiyonlar Kongresi Poster 1.'lik ödülü, 07-09 Eylül 2018, Sakarya

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

- 1) Mikrobiyota, Probiyotikler ve Akılcı Beslenme Sempozyumu, 9 Mayıs 2018, Sakarya, Alkol ve Mikrobiyota, Arş. Gör. Kerem Yılmaz

Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

- 1) Mikrobiyolojide PCR Temelli Yöntemler Kursu 03-07 Ekim 2016, Aydın

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri