



**T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANNE SÜTÜNDE BULUNAN *LACTOBACILLUS* TÜRLERİNİN
PCR YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Aya DAIF
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yasemin ZER**

**Gaziantep
2020**



T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANNE SÜTÜNDE BULUNAN *LACTOBACILLUS* TÜRLERİNİN
PCR YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

Aya DAIF
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yasemin ZER

Gaziantep
2020

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANNE SÜTÜNDE BULUNAN *LACTOBACILLUS* TÜRLERİNİN PCR
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Aya DAIF

Tez Savunma Tarihi: 21.07.2020

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir 'Yüksek Lisans' derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir 'Yüksek Lisans' tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yasemin ZER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir 'Yüksek Lisans' tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ Jürisi:

İmzası

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Prof. Dr. Yasemin ZER

Prof. Dr. Ayşen BAYRAM

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynak listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edecek bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

.....

Aya DAIF

TEŞEKKÜR

Tez alıőması sűresince her tűrlű desteęi ve yardımı esirgemeyen danıőmanım Prof.Dr. Yasemin ZER'e minnet ve teőekkűrlerimi sunarım.

Yűksek lisans eęitimim boyunca deneyimleri ve bilgi birikimleriyle bana destek olan Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL, Prof.Dr. Fahriye EKŐI ve Dr.Őęr.Ūyesi Deniz GAZEL'e teőekkűrlerimi sunarım.

23.06.2020
Aya DAIF

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR ve SİMGELER	iv
TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Anne sütünün Özellikleri ve Yararları	6
2.2. Anne Sütünün Yapısı	7
2.3. Anne Sütünün Bileşenleri	8
2.3.1. Proteinler	8
2.3.2. Karbonhidratlar	9
2.3.3. Yağlar ve Yağ asitleri	9
2.3.4. Mineraller	9
2.3.5. Vitaminler	10
2.3.6. Büyüme Faktörleri	10
2.3.7. Hormonlar	10
2.3.8. Sıvı	11
2.3.9. İmmunoglobulinler	11
2.3.10. Laktoferrin	11
2.3.11. Laktoperoksidaz	12
2.3.12. Lizozim	12
2.3.13. İmmün Hücreler	12
2.3.14. Adezyon Molekülleri	13
2.3.15. Diğer Anti İnfektif Faktörler	13
2.4. Mikrobiyota	14
2.4.1. Bebeklerde İntestinal Mikrobiyotanın Oluşumu ve Gelişimi	15
2.4.2. Mikrobiyota Gelişimi	16
2.4.2.1. Doğum Öncesi Mikrobiyota Gelişimi	18
2.4.3. Anne Sütü Mikrobiyotası	19
2.4.4. Anne Sütü Mikrobiyotasının Kaynağı	21
2.4.5. Anne Sütü Oligosakkaritleri	23
2.5. Beslenmenin Barsak Mikrobiyotası Üzerine Etkileri	23
2.6. Anne Sütünün Barsak Mikrobiyotasına Etkisi	24
2.7. Anne Sütünün Prebiyotikleri ve Probiyotikleri	24
2.7.1. Probiyotik Mikroorganizmalar	24
2.7.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizmaları	27
2.8. Gastrointestinal Hastalıklar	28
2.9. Prebiyotik Mikroorganizmalar	32
2.9.1. Prebiyotiklerin Sağlığımız Üzerindeki Olumlu Etkileri	34
2.10. Sinbiyotikler	34
2.11. Lactobacillus Cinsine Ait Bakterilerin Özellikleri	34
2.11.1. Lactobacillus Türlerinin Ürettikleri Antimikrobiyal Maddeler	36
2.11.1.1. Laktik asit	37
2.11.1.2. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	38

2.11.1.3. Bakteriosin	38
2.12. Probiyotik Farmasötik Preparatlar	38
2.13. Anne Sütü Mikrobiyotası Üzerinde Etkili Olan Faktörler	39
3. MATERYAL VE METOD	41
3.1. Araştırmanın Örnekleme	41
3.2. Veri ve Örnek Toplaması	42
3.3. Real Time PCR'da Tür Tanımlama	42
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	55
6. KAYNAKLAR	58
7. ÖZGEÇMİŞ	72
8. EKLER	73



KISALTMALAR ve SİMGELER

ARA	: Araşidonik Asit
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
G-CSF	: Granulosit Koloni Uyarıcı Faktör
GİS	: Gastrointestinal Sistem
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	: Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA



TABLolar LİSTESİ

Tablo 2. 1. Ticari Olarak Kullanılan Probiyotik Suşları	26
Tablo 2. 2. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	26
Tablo 2. 3. Prebiyotik çeşitleri	33
Tablo 2. 4. Probiyotik suşları içeren bazı ticari ürün örnekleri	39
Tablo 3. 1. RT-PCR aşaması	46
Tablo 4. 1. Çalışma grubu.....	48
Tablo 4. 2. Grup I'de yer alan kadınların demografik özellikleri.....	49
Tablo 4. 3. Grup II'de yer alan kadınların demografik özellikleri.....	50
Tablo 4. 4. Grup I ve II'nin demografik özelliklerinin karşılaştırılması.....	51
Tablo 4. 5. Saptanan PCR sonuçları.....	52
Tablo 4. 6. Grup I'de saptanan PCR sonuçları	53
Tablo 4. 7. Grup II'de saptanan PCR sonuçları	53
Tablo 4. 8. Grup I ve II'de'de saptanan PCR sonuçlarının karşılaştırılması.....	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Preterm ve term sütte protein düzeyi	7
Şekil 2. 2. İntestinal mikrobiyotanın oluşumu	16
Şekil 2. 3. Erken mikrobik teması düzenleyen faktörler ve barsak kolonizasyonu	20
Şekil 2. 4. Bebek ve çocuk bağırsağında mikrobiyal kolonizasyon aşamaları	21
Şekil 2. 5. Anne sütündeki bakterilerin kaynakları	22
Şekil 2. 6. Probiyotiklerin etki mekanizmaları	28
Şekil 3. 1. Araştırmada kullanılan 2xqPCR master mix ve resuspension buffer	43
Şekil 3. 2. Rotor-gene Q Series Software analiz sayfasının görüntüsü.....	47
Şekil 4. 1. Doğum türüne göre süt türünün dağılımı.....	48



ÖZET
ANNE SÜTÜNDE BULUNAN *LACTOBACILLUS* TÜRLERİNİN PCR
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Aya DAIF

Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yasemin ZER

73 sayfa, Haziran 2020

Bu çalışmada anne sütünde bulunan *Lactobacillus* türlerinin PCR yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya yaşları 18-45 arasında olan, tek sağlıklı, tam süreli bir bebek doğurmuş olan, laktasyon periyodu 0-240 gün arasında olan toplam 72 kadın dahil edilmiştir. Normal doğum ve sezaryen doğum yapmış olan toplam 72 anneden alınan süt örnekleri değerlendirildi. Süt örnekleri kolostrum, geçiş ve olgun süt şeklinde üç gruba ayrıldı. Elde edilen verilerin analizi neticesinde sezaryen doğum yapan annelerin çekirdek aile yapısına sahip olma oranı normal doğum yapanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Çalışma kapsamında değerlendirilen tüm süt örneklerinde *Lactobacillus* türü saptanmıştır. PCR testi neticesinde 25 *Lactobacillus* spp, 21 *L.acidophilus*, 36 *L.rhamnosus* tespit edilmiştir. Normal doğum yapan kadınlardan alınan süt örneklerinin 9'unda *Lactobacillus* spp saptanmış olup bunun 8'i (%88.9) kolostrum, 1'i (%11.1) de olgun sütte tespit edilmiştir. 20 süt örneğinde *L.acidophilus* saptanmış olup bunun 4'ü (%20) kolostrum, 12'si (%60) erken süt, 4'ü de (%20) olgun sütte tespit edilmiştir. 21 süt örneğinde *L.rhamnosus* saptanmış olup bunun 4'ü (%19.1) kolostrum, 10'u (%47.6) erken süt, 7'si de (%33.3) olgun sütte tespit edilmiştir. Sezaryen doğum yapan kadınlardan alınan süt örneklerinde 16 *Lactobacillus* spp saptanmış olup bunun 10'u (%62.5) kolostrum, 5'i (%31.2) erken, 1'i de (%6.3) olgun sütte tespit edilmiştir. 1 adet *L.acidophilus* saptanmış olup bu da kolostrum sütte saptanmıştır. 15 adet *L.rhamnosus* saptanmış olup bunun 11'i (%73.3) erken sütte, 4'ü (%26.7) de olgun sütte tespit edilmiştir. Normal doğum yapan kadınlardan alınan süt örneklerindeki *L.acidophilus* tespit edilme oranının sezaryen doğum yapan kadınlardan alınan süt örneklerine göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Anne Sütü, *Lactobacillus*, PCR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF LACTOBACILLUS SPECIES IN BREAST MILK BY PCR METHOD

Aya DAIF

Master Thesis, Gaziantep University Health Sciences Institute

Department of Medical Microbiology

Supervisor: Prof. Dr. Yasemin ZER

73 pages, June 2020

,In this study, it was aimed to investigate Lactobacillus species found in breast milk by PCR method. A total of 72 women, aged between 18-45 years, who had a single healthy full-term baby, with a lactation period between 0-240 days, were included in the study. Milk samples from 72 mothers who had normal delivery and cesarean delivery were evaluated. Milk samples were divided into three groups as colostrum, transition and mature milk. As a result of the analysis of the data obtained, the rate of having a nuclear family structure of mothers who delivered cesarean delivery was found to be significantly higher than that of normal births. Lactobacillus species were determined in all milk samples evaluated within the scope of the study. As a result of the PCR test, 25 Lactobacillus spp, 21 L.acidophilus, 36 L. rhamnosus were detected. Lactobacillus spp was detected in 9 of the milk samples taken from women giving normal birth, 8 of them (88.9%) were found in colostrum and 1 of them (11.1%) in mature milk. L.acidophilus was detected in 20 milk samples, 4 (20%) of which were found in colostrum, 12 (60%) of early milk and 4 (20%) of mature milk. L. rhamnosus was detected in 21 milk samples, 4 (19.1%) of them were found in colostrum, 10 (47.6%) of early milk and 7 (33.3%) of mature milk. 16 Lactobacillus spp were detected in milk samples taken from women giving cesarean delivery, 10 of them (62.5%) were found in colostrum, 5 (31.2%) early, and 1 (6.3%) in mature milk. 1 L.acidophilus was detected, which was detected in colostrum milk. 15 L. rhamnosus were identified, 11 (73.3%) of them were detected in early milk and 4 (26.7%) of them in mature milk. L.acidophilus detection rate in milk samples taken from women giving normal birth was found to be significantly higher than milk samples obtained from women giving cesarean delivery.

Key words: Breast milk, Lactobacillus, PCR

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikroorganizmaların hastalıklarla mücadelede kullanılması bazı araştırmacılar tarafından uzun yıllar önce gündeme getirilmiş olmakle birlikte bu husus bilhassa son 20-25 yıllık dönemde çok daha popöler hale gelmiştir. Yapılan araştırmalar neticesinde insan vücudunda daha önceden steril olduğu düşünölen çoğu sıvı ve alan dahil olmak üzere patojen olmayan yoğu bir mikroorganizma varlığının olduğu görölmüş olup bu mikroorganizmalar hücreler ile komensal ve mutualistik bir ilişkiyle yaşamlarını devam ettirmekte, üstlendikleri görevlerle bir organ gibi işlev görmektedirler (1).

Belli bir ekolojik yer ya da çevrede bulunan mikroorganizmalar topluluğu “mikrobiyota” olarak adlandırılır. İnsan vücudundaki kommensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmalar mikrobiyotayı teşkil eder. Mikrobiyota ile aynı manada kullanılmakta olan “mikrobiyom” kelimesi ise belli bir yerde yaşayan mikrobiyotanın gen havuzunu ve bunların çevreyle olan ilişkisini ifade eder (2,3). Son dönemlerde insan vücudundaki mikrobiyota ve mikrobiyomların belirlenmesi moleköler yöntemlerdeki gelişmelerle son derece hızlı ve kolay hale gelmiştir (4).

Yakın tarihe dek steril olduğu düşünölen anne sütünün içerisinde bakterilerin de olduğu esasen XVII. yüzyıldan beridir bilinen bir gerçektir (5,6). Klasik olarak anne sütünde bakteri varlığı enfeksiyon göstergelerinden birisi olarak değerlendirilmekle beraber anne sütünde patojen olmayan mikroorganizmaların da olduğunun kabul edilmesi ise yaklaşık 15 yıl öncesine dayanmaktadır (7). Anne sütünde bakteri analizi geçmişte genel itibariyle enfeksiyon durumlarında yapıldığı için patojen olmayan bakterilerin varlığı da anlaşılamamıştır. Günümüzde ise bakterilerin tespitinde kullanılan yöntemlerde yaşanan gelişmeler, bilhassa kültürden bağımsız yöntemler ve “-omic” yaklaşımı anne sütünde tahmin edilenden çok daha fazla bir bakteri çeşitliliği olduğunu göstermiştir (5).

İnsan anne sütü, bebekler için karbonhidratlar, esansiyel yağ asitleri, proteinler, vitaminler ve mineraller dahil olmak üzere yüksek miktarda gerekli besin maddelerinden oluşur, bu nedenle bebek beslemenin altın standardı olarak kabul edilmiştir (8-10). Sadece besin kaynağı nedeniyle değil, anne sütünden kaynaklanan mikrofloranın transferinden dolayı bebeklerin hayatta kalmasını ve gelişmesini desteklemede de önemli bir rol oynar (11). Yapılan bazı araştırmalarda anne sütünün

bebekler tarafından sindirilemeyen ancak bebeğin mikroflorasının gelişiminde etkili olan pek çok besin içerdiği bildirilmiştir (12,13). Son yıllarda anne sütünde 200'den fazla farklı tür tanımlanmıştır (14). Anne sütünün stafilokoklar, streptokoklar, bifidobakteriler ve laktik asit bakterileri de dahil olmak üzere bebek bağırsağına sürekli bir ortak, karşılıklı ve ya da probiyotik bakteri kaynağı olduğu gösterilmiştir (11,15-18). Lactobacillus, Pediococcus ve Lactococcus cinsleri laktik asit bakterilerine (LAB) ait olup bu cinslerin suşları sıklıkla pek çok gıdanın üretimi ve korunmasında veya insan ve hayvanlar için probiyotik olarak kullanılmaktadır (19,20). Probiyotik aktiviteye sahip LAB genellikle enterik flora olup insan gastrointestinal sisteminin (GIS) ekosisteminde faydalı bir rol oynadığına inanılmaktadır. Probiyotikler ile ilgili pek çok tanım olmakla beraber en çok kabul gören tanımlama 2002 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından ortaklaşa yapılan tanımlamadır. Buna göre probiyotikler yeterli miktarlarda uygulandıklarında tüketicilerin sağlığına fayda sağlayan canlı mikroorganizmalardır (21). Bu özellikler arasında patojenik olmayan veya toksik etkileri, temas stabilitesi ve safra asidi ve basak mukozasına yapışma da dahil olmak üzere, bu mikroorganizmalardan konakçıya verim, etkinlik ve fayda sağlamak için bazı kalite gereksinimleri belirlenmiştir (8). Probiyotikler, yeni doğanlarda çeşitli hastalıkların önlenmesi için en etkili tedavilerden biri olabilir. Doğumda, bir bebeğin gastrointestinal sistemi sterildir ve gastrointestinal sistemin kolonizasyonu doğumdan hemen sonra enteral beslenmenin başlamasıyla başlar ve yaşamın ilk birkaç günü içinde iyi yerleşir (22). Emzirilen bebeklerde, Bifidobacterium ve Lactobacillus cinsi bakterilerinin baskın olduğu ve diğer enterik organizmaların daha az sıklıkla bulunduğu düşünülmektedir (23,24). Tersine, formül mamayla beslenen bebeklerde koliformların, enterokokların ve bakteroidlerin ağırlıklı olarak barsak sistemini kolonize ettiği bildirilmiştir. Ayrıca erken doğmuş bebekler anormal kolonizasyona özellikle duyarlıdır. Antibiyotik kullanımı, enteral beslenmelerin gecikmeli başlaması ve yenidoğan yoğun bakım ünitesini dolduran alışılmadık mikroorganizmalara maruz kalma, anormal kolonizasyon paternlerine yol açabilir. Gewolb ve ark., (25), son derece düşük doğum ağırlıklı bebeklerin gastrointestinal yolunun, yaşamın onuncu gününde 3'ten az bakteri türü tarafından kolonize edildiğini ve Bifidobacterium ve Lactobacillus türlerinin daha az dışkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir. Oral probiyotik bakteriler ile beslenme bu kolonizasyon paternini değiştirmenin etkili bir yolu olabilir. Öte yandan, erken doğmuş bebeklere probiyotik verilmesinin patojenik organizmaların aşırı çoğalmasını önlemek için faydalı

olabileceği öne sürülmüştür. Preterm bebeklerde enteral beslenmeyi arttırmak ve hastalıkları ve nozokomiyal enfeksiyonları önlemek için probiyotik takviyesi önerilmiştir. Probiyotik uygulamanın önerilen yararlı etkileri, antiinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttıran, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltan, barsak geçirgenliğini azaltan ve enteral beslenmeyi arttıran bağlanma bölgeleri ve substrat için diğer organizmalarla potansiyel olarak rekabet etmekten kaynaklanır (26). Öte yandan, anne sütünde bulunan ve *L. gasseri*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum* ve *L. fermentum* gibi potansiyel olarak probiyotik türler olarak kabul edilen bazı laktik asit bakterilerine artan ilgi vardır (27). Sağlıklı kadınlardan elde edilen anne sütünün bebekler için yaklaşık 10^3 - 10^4 CFU/mL'lik potansiyel bir komensal bakteri kaynağına sahip olduğu (15,21) ve bu biyolojik sıvıdan izole edilen laktik asit bakteri suşlarının, rekabetçi bir dışlama veya bakteriyosinler, organik asitler veya hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal bileşiklerin üretilmesiyle geniş bir patojenik bakteri spektrumunun büyümesini önleme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (15,21).

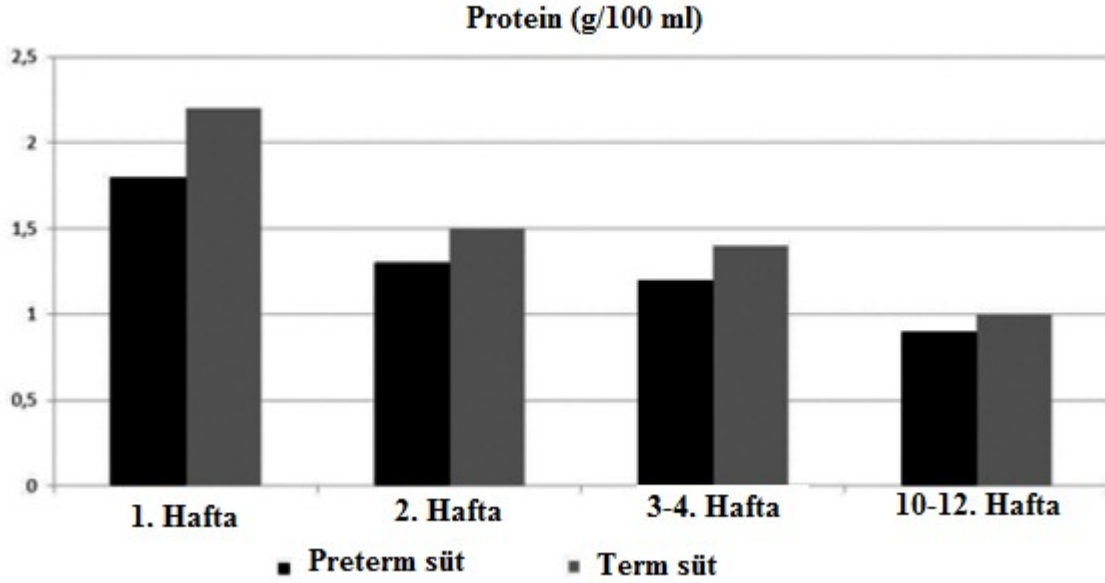
Bu çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Sosyal pediatri polikliniği bölümüne başvuran, laktasyon döneminde ve çalışmaya katılmaya kabul etmiş ve rastgele seçilmiş olan annelerin olgun, geçiş ve kolostrum sütünde bulunan *Lactobacillus* cinslerinin saptanması, aynı zamanda doğum şekli (vajinal veya sezaryen), laktasyon süreleri gibi fizyolojik veya hormonal faktörlerin etkisinin bilerlenmesini amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anne sütünün Özellikleri ve Yararları

Anne sütünü üzerine gerçekleştirilen araştırmalardan elde edilen kapsamlı kanıtlar emzirmenin bebeklerin ve çocukların sağlıklı büyümesi ve gelişmesini sağlamada son derece önemli olduğunu göstermektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bebeklerin ilk altı ay boyunca yalnızca anne sütünle beslenmesini, en az iki yaşına gelene kadar da diyetin önemli bir parçası olmaya devam etmesi gerektiğini önermektedir. Anne sütünü hem beslenme hem de biyoaktif bileşenler açısından bileşiminde aşırı değişkenlikle karakterize, kişiye özgü bir biyolojik sıvıdır. Evrimsel bir bakış açısından, bileşimi zaman içinde gelişerek bebeğe dengeli bir beslenme ve potansiyel bulaşıcı patojenlere karşı koruma sağlarken, yenidoğan bağışıklık sistemi gelişimini tamamlar (28). Kompozisyon farklılıkları üzerindeki etkiler emzirme zamanı, gebelik süresi, anne hastalıkları, genotip ve diyetdir (29). Ortalama protein içeriği, laktasyonun ikinci ila altıncı yedinci ayına kadar yavaş yavaş azalır ve daha sonra stabilize olur (29,30). Dikkat çekici bir şekilde erken laktasyon boyunca preterm sütün içeriği term sütün içeriğine göre daha yüksektir (Şekil 2.1) (30). Laktoz içeriği özellikle laktasyonun dördüncü ve yedinci ayları arasında yüksektir ve daha sonra azalır. Aksine, laktasyon boyunca yağ içeriği artar (31). Protein ve karbonhidrat fraksiyonunun etkilenmediği görülürken, yağ fraksiyonu anne diyetine en duyarlı gibi görünmektedir (32). Anne sütündeki, meme bezinde endojen olarak sentezlenen veya anne plazmasından alınan spesifik yağ asitleri, iki-üç gün içinde anne diyet yağındaki değişiklikleri yansıtır. Maternal vücut kitle indeksi ayrıca insan sütünü yağ asitlerinin miktarını ve türünü değiştirmeye katkıda bulunur; özellikle, doymuş yağ asitlerinin miktarı ve n-6'nın n-3 yağ asitlerine oranı, aşırı kilolu kadınların anne sütününde, anne diyetinden de sonra normal kilolu kadınların anne sütününden daha yüksektir (33).



Şekil 2. 1. Preterm ve term sütte protein düzeyi (30)

2.2. Anne Sütünün Yapısı

İnsan sütü genellikle kolostrum, geçiş ve matür süt şeklinde 3 gruba ayrılır. Bununla birlikte, bu sınıflamanın, spesifik süt sınıflarını göstermek yerine laktasyon aşamasına göre anne sütünde meydana gelen kademeli değişikliklere atıfta bulunduğu dikkate alınmalıdır.

Doğumun ardından salgılanan ilk süt kolostrum olarak adlandırılır. Kolostrumun salgılanması 4 ile 5 gün arasında devam eder. Az miktarda salgılanmasına rağmen içeriğindeki normalden fazla olan protein, aktif immünolojik maddeler ve enerji sayesinde süt miktarı bebek için yeterli seviyeye gelene kadar bebeğin ihtiyaç duyduğu tüm gereksinimlerini karşılar (29,34). İçeriğindeki IgA ve barsak epitelinin direncini artırıcı maddeler sayesinde bebeği enfeksiyonlardan korur (35).

Geçiş sütü doğum sonrası 5-15. gün arasında üretilmekte olan süttür. Geçiş sütünde kalori ve yağ içeriği yüksekken protein miktarı ise düşüktür. Olgun süt olarak adlandırılan ve ilk 2 haftanın ardından salgılanan sütün ise böbrek solüt yükü ve proteini düşüktür. Buna karşın olgun süt retina ve beyin gelişimi açısından önemli olan uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengindir (35).

Matür süt doğumdan sonraki 15. günden sonra salgılanmakta olan süt olup yaklaşık %90'ı su geri kalan kısmı ise büyüme ve enerji açısından gerekli olan protein, yağ ve karbonhidratları içermektedir. Matür süt beyaz renkli olup dansitesi 1031, pH değeri ise 6.97 civarındadır. %7 oranında laktoz, %4.5 oranında yağ, %0.3 oranında tuz ve 650 kalori içermektedir (35). Matür süt ilk 6 ay boyunca bebeğin besin ihtiyacını herhangi bir ek gıdaya ihtiyaç duymadan tek başına karşılar (35).

2.3. Anne Sütünün Bileşenleri

Anne sütü bebeğin doğumdan sonraki ilk 6 aylık dönemde ihtiyaç duyduğu protein, yağ, karbonhidrat, vitamin, mineral ve sudan meydana gelen besinleri içermektedir. Kolay sindirilebilir ve bu nedenle de verimli bir şekilde kullanılabilir özellikteki anne sütü aynı zamanda bebeğin olgunlaşmamış olan immün sistemini destekleyip güçlendiren, dolayısıyla da enfeksiyonlara karşı koruyucu etkiye sahip olan biyoktif faktörlerle birlikte besinlerin sindirilmesini ve emilimini kolaylaştıran diğer faktörleri de içermektedir.

2.3.1. Proteinler

Anne sütündeki toplam protein 1.1 g/dl iken bu oran inek sütünde 3.2 g/dl'dir. İnek sütüyle karşılaştırıldığında nispeten düşük protein oranına sahip olmasına karşın anne sütünün biyolojik değeri oldukça yüksek olup ilk altı ay boyunca bebeğin protein ihtiyacını tek başına karşılamaktadır. İçeriğinde bulunan proteinin %60'ını whey proteini oluşturur. Biyolojik değeri yüksek ve aynı zamanda sindirimi de kolay olan whey proteinlerinin büyük bölümü "alfa-laktalbumin"dir. Sindirimi zor olan kazein bölümünün anne sütündeki oranı inek sütüne kıyasla daha düşüktür. Whey proteinlerinin büyük kısmı enfeksiyonlara karşı bebeği koruyan antiefektif proteinlerdir. Laktoferrin, salgısal immünglobulin A ve diğer immünglobulinler, lizozim, nükleotidler ve büyüme etkenleri bağışıklıkta önemli rol oynamaktadır (36,37).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre ortalama protein gereksinimleri ilk üç ay için 3.3 g/kg, sonraki üç ay için 2.6 g/kg, bunu takip eden üç ay için 2.1 g/kg ve ilk yılın son üç ayı için 1.7 g/kg olarak önerilir.

2.3.2. Karbonhidratlar

Ana karbonhidrat, özel bir süt şekeri laktozu, bir disakarittir. Anne sütü, 100 ml başına yaklaşık 7 gr laktoz içermektedir. Anne sütünde bulunan bir başka karbonhidrat türü, enfeksiyona karşı önemli koruma sağlayan oligosakkaritler veya şeker zincirleridir (38).

Vücutta minerallerin emilimini artıran laktoz beyin gelişiminde de rol alır. Bunu spinal kord ve beyinde galaktolipitlerin yapısına girerek gerçekleştirir. Anne sütü büyük miktarlarda galaktoz ve glikoz gibi basit şekerlerin yanı sıra oligosakkaritler ile diğer bazı kompleks karbonhidratları da bünyesinde barındırır ki bunlar çocuğun enfeksiyonlardan korunmasına yardımcı olur. Anne sütünde protein ve aminoasitlere bağlı bulunan karbonhidratlar (glikopeptidler ve glikoproteinler), *Lactobacillus bifidus*'un büyümesini uyardığından “büyüme faktörü” veya “bifidus faktör” olarak da adlandırılırlar. Bu faktör anne sütü ile beslenen bebeklerin barsaklarındaki bakteriyel florada yoğundur (38).

2.3.3. Yağlar ve Yağ asitleri

Anne sütü, sütte bulunan enerji içeriğinin neredeyse yarısını sağlamaktadır. 100 ml süt yaklaşık olarak 3.5 gram yağ içermektedir. Yağ küçük damlacıklar şeklinde salgılanmakta olup beslenme ilerledikçe miktarı da artmaktadır. Anne sütü yağları diğer sütlerde olmayan uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (dokosaheksaenoik asit, DHA) ve araşidonik asit (ARA) içermektedir. Bu yağ asitleri çocuğun nörolojik gelişiminde son derece önemlidir. Bazı bebek mamalarına DHA ve ARA eklenmesine karşın bunlar anne sütü kadar etkili olmayabilir (39).

2.3.4. Mineraller

Sodyum, potasyum ve kalsiyum gibi maddeler anne sütünde serbest iyonlar şeklinde bulunmaktadır. Bunlar dışındaki mineraller ise kompleks bileşikler olarak bulunurlar. İçeriğindeki potasyum iyonları sodyum iyonlarından fazla olan anne sütü bu özelliği sayesinde intrasellüler sıvılar ile uyumluluk arz eder. Düşük sodyum iyon içeriği bebeğin olgunlaşmamış olan böbrek fonksiyonları için de uyumludur. Anne sütündeki kalsiyum oranı inek sütünün yaklaşık 1/4'ü kadar olmakla beraber anne sütüyle beslenen çocuklarda yağ emiliminin daha yüksek oranda gerçekleşmesi, barsak pH'nın asit nitelik taşıması, fosfor düzeyinin düşük olması gibi unsurlar kalsiyumun emilimini

arttırır. Anne sütünde bulunan kalsiyumun yaklaşık %55'lik kısmı emilmekte olup bu oran inek sütü ya da inek sütüyle hazırlanan mamalarda ise %38 dolayındadır. Anne sütündeki demir oranı düşük olmasına karşın (0.2-0.8 mg/dl) biyoyararlılığı ise oldukça fazladır. Diğer gıdalarda ve inek sütünde demirin yaklaşık %5-10'luk kısmı emilmekte iken anne sütünde ise emilim oranı %50 dolayındadır. Anne sütü ile beslenen çocuklarda bu sebeple ilk 6 ay boyunca demir eksikliği gözlenmez (37,40).

2.3.5. Vitaminler

Anne sütünün vitamin konsantrasyonu annenin vitamin seviyeleri ile ilişkili olup annede vitamin eksikliği olması durumunda bebekte de eksiklikler görülebilir. Bu durum bilhassa tiamin (B1), riboflavin (B2) ve B6, B12, E ve A vitaminleri için geçerlidir. Bu nedenle laktasyon süresince uygun doz vitamin desteği önerilmektedir (41).

2.3.6. Büyüme Faktörleri

Anne sütünde yer alan büyüme faktörleri başta merkezi sinir sistemi, sinir sistemi ve solunum sistemi olmak üzere çoğu sistemin gelişmesine etki eder. Sinir büyüme faktörü, meme kaynaklı büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, fosfoetanolamin, eritropoetin, interferon ve taurin gibi faktörler anne sütünde yer alan ve bu önemli görevleri yerine getiren büyüme faktörleridir (40).

2.3.7. Hormonlar

Anne sütünde yağ sindiriminde rol oynayan lipaz, meme bezlerinde süt lipidlerinin sentezinde rol oynayan lipoprotein lipaz, anti-bakteriyel etkiye sahip olan, laktoz sentezinde görevli olan galaktozil transferaz, tiyosiyanat, hidrojenperoksit gibi çok sayıda aktif enzim vardır.

Lipazın lipidleri hidrolize uğratması neticesinde *Entamoeba histolitica*, *Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia* enfestasyonlarına mani olur (36,42,43). Tüm bunların yanı sıra anne sütü içeriğinde kalsitonin, parathormon, östrojen, prolaktin, progesteron ve kortikosteroidler gibi çok sayıda hormon bulunmaktadır (43,44).

2.3.8. Sıvı

Süt hacminin yaklaşık %85-95'i su olup su alımının artmasının süt üretimini artıracağına yönelik yaygın bir inanç söz konusudur. Ancak bunun laktasyon üzerinde herhangi bir etkisinin bulunmadığı ifade edilmektedir.

2.3.9. İmmunoglobulinler

Anne sütünde 5 ana immunoglobulin ailesi bulunmaktadır. Plasentayı geçebilen tek tip IgG'dir ve bu grup immün sistemi spesifik viral kaynaklı enfeksiyonlara karşı korumaktadır. Aslında doğum esasında IgG düzeyi bebek ve annede hemen hemen aynı oranda bulunur fakat sadece pasif immunitiyi sağlamaktadır. Plasental bariyeri geçemeyen IgA ile IgM fetüs tarafından üretilirler özellikle IgM 2 yaş civarında yetişkinlikteki seviyeye ulaşmaktadır. IgM'nin rölatif olarak düşük seviyede bulunması bebeği enterik enfeksiyonlara karşı daha hassas hale getirmektedir (45).

IgG ve IgM serumdakinden daha düşük oranda bulunurken anne sütünde en fazla bulunan immunoglobulin türü IgA'dır. IgA'nın salgısal bileşeni bu antikorun sindirim enzimleri ve gastrik enzimler tarafından yıkılmasını engellemektedir (46). SlgA bu şekilde gastrointestinal sistemdeki (GİS) proteolitik enzim ve pH değişikliklerine dirençli hale geldiği için yıkılmadan GİS mukozasını enfeksiyonlara karşı oldukça etkili bir şekilde koruyabilmektedir. Anne sütü ile beslenen bir çocuk günde 0,5 gr SlgA almaktadır. Bu değer hipogammaglobulinemili bir hastaya verilen miktarın yaklaşık elli katına denk gelmektedir. Özetle; salgısal IgA; GİS başta olmak üzere solunum yolları ile göz enfeksiyonlarına karşı koruma sağlamaktadır (47).

2.3.10. Laktoferrin

Anne sütü, gözyaşı, tükürük, semen ve lökositlerde yüksek düzeyde bulunan laktoferrin demir bağlayan bir glikoproteindir. İnek sütünde 0.2 gr/lt bulunurken kolostrumda kolostrumda 0,5-1 gr/lt civarında bulunmaktadır (48).

GİS enfeksiyonları üzerinde önemli rol oynayan laktoferrin diğer koruyucu proteinler ile birlikte sinerjik lokal olarak etki edip, antibakteriyal ve antiinflamatuvar aktivite göstermektedir. Demiri bağlayarak dokularda antoksidan özelliği de gösteren laktoferrin bakteriyostatik özelliğe de sahiptir. Çünkü birçok mikroorganizma büyümek ve çoğalmak için demire ihtiyaç duymaktadır. Ancak laktoferrin demiri tuttuğu için

bakterilerin çoğalmasını da baskılamış olmaktadır. Enterik demir emilimini sağladığı içinde E.coli dahil bir çok enteropatojenik enfeksiyon oluşumunu önlemektedir (49).

2.3.11. Laktoperoksidaz

Okisdatif mekanizmalara bağlı olarak bakterileri öldüren peroksidaz enzimleri, peroksidaz aktivitesi şeklinde tükürük, gözyaşı, bronşial sekresyonlar, intestinal sekresyonlar ve süt gibi birçok ekzokrin bez salgısında bulunmaktadır. Anne sütünde bulunan koruyucu proteinlerden biri olan laktoperoksidaz, aslında bir süt peroksidazıdır. Laktoperoksidazların en önemli görevi meme bezinde mikrobiyal invazyon üzerine koruyucu etki göstermesidir (45).

2.3.12. Lizozim

C-lizozim ve g-lizozim olmak üzere iki gruba ayrılan lizozim, anne sütü başta olmak üzere birçok canlının sütünde bulunmaktadır. Ancak her türde farklı lizozim türleri bulunmaktadır. Örneğin anne sütünde sadece c-lizozim var iken inek sütünde her iki grup lizozim bulunmaktadır (50).

Lizozim; bakteri hücre duvarında bulunan peptidoglikanları parçalayarak glikosidik bağın oluşumunu önlemekte ve bu şekilde bakterilerin ölmesini sağlamaktadır (48).

Kolostrumda oldukça yüksek oranda bulunan lizozim; IgA ve laktoferin ile fonksiyonel olarak yakın ilişki içinde bulunmaktadır. Örneğin lizozim ile IgA *E. coli* üzerine birlikte etki etmektedir ya da askorbat ve peroksit ile birlikte lizis etkisi göstermektedir. Son olarak; lizozim antienflamatuvar gibi davranarak nötrofillerin hasar gören dokuya göçünü engellemektedir (45).

2.3.13. İmmün Hücreler

En fazla kolostrumda bulunan lökositlerin büyük çoğunluğunu nötrofiller meydana getirmektedir. Memeyi enfeksiyonlardan koruduğu tahmin edilen nötrofiller ayrıca bebeğin barsaklarında fagosit gibi davranarak immünolojik yanıt meydana getirirler (51).

Nötrofillerden sonra bulunan diğer grup ise makrofajlardır. Kolostrumdaki lökositlerin yaklaşık % 40'nı meydana getiren makrofajlar, nötrofillerden daha aktiftirler (48).

Anne sütündeki lökositlerin % 10'u ise lenfositler meydana getirmektedir. Bu lenfositlerin % 20 ise antikor üreten B lenfositlerdir. Geriye kalanı ise T lenfositlerdir. T lenfositleri, enfekte hücreleri öldürerek güçlü bir bağışıklığın oluşmasını sağlarlar (51).

2.3.14. Adezyon Molekülleri

İntegrinler, selektinler, immunoglobulin süper ailesine dahil adezyon molekülleri ve kaderinler olmak üzere dört grupta incelenen adezyon molekülleri; her hücrenin kendisine özgü olan dokuya yönelmesinde, birbirlerini tanımalarında, hücre büyümesi ve farklılaşması ile inflamasyonda rol almaktadırlar (52).

Yenidoğanı GİS ve solunum yolları hastalıklarına karşı koruyan bu moleküller anne sütünde önemli miktarda bulunurlar ve immünmediator olarak fonksiyon görmektedirler (53).

İmmün reaksiyon riskinin yüksek olduğu ilk zamanlarda yenidoğan için hayati rol oynayan adezyon molekülleri inflamatuvar reaksiyonlar ile çölyak, gibi bazı sitokin ve solubl reseptörlerle kronik inflamasyonun neden olduğu belirgin hastalıkları baskırlar. Bunlara ek olarak büyümeyi hızlandırarak immün sistem matürasyonun tamamlanmasını ve akciğer, barsak gibi iç organların gelişiminde olumlu yönde rol oynarlar (54).

Adezyon moleküllerinden biri olan hücre-hücre adezyon molekülü (CEACAM-1); meme morfonegenenezi için çok önemli bir protein olup yenidoğanın intestinal yapılarından anne sütündeki lipid moleküllerinin emilmesini de sağlarlar (52).

2.3.15. Diğer Anti İnfektif Faktörler

Anne sütündeki kortizol, epidermal büyüme faktörü, sinir büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü ve somatomedin C mukozal faktörü gibi moleküller bir engel oluşturmak suretiyle mikroorganizmaların invaze olmalarını engellerler (55).

İnterferon: Lökositlerce üretilmekte olan en önemli anti-infektif ajan olup güçlü antiviral etkinliğe sahiptir (45).

Bifidus faktör: Barsak flosarında bulunan *Lactobacillus bifidus* ile Gram pozitif basillerin çoğalmasını tetikleyerek patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engellerler.

Fibronektin: Kendine özgü antikoru olmayan mikroorganizmaların fagosite edilmelerini artırmaktadır (48).

Granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF): Lökosit üretimi için gerekli olan en önemli moleküllerden biridir. Term ve Preterm bebeklerin anne sütünde doğumdan 6 hafta sonraya kadar G-CSF saptanabilir. Formüle edilmiş mamalara eklenen G-CSF'nin sadece %5'i barsaklarda kalırken anne sütü ile alınan G-CSF'nin yaklaşık %85'i barsaklardan emilmektedir (49).

Oligosakkaritler ve bunların glisinli bileşimleri: Reseptör analogu olarak görev yapan oligosakkarit ve türevleri zararlı bakterilerin GIS ve solunum yolları mukozasına bağlanmalarını ve kolonileşmelerini engelleyerek infeksiyonlardan korurlar (56).

2.4. Mikrobiyota

İnsanoğlu 3.8 milyon yıldır mikroorganizmaların olduğu bir biyosferde yaşamakta, 10 bin yıldır da biyosferi etkilemektedir. Bu zaman diliminde insanoğlu aynı zamanda iç biyosferini, yani mikrobiyotasını meydana getiren organizmaları da etkilemektedir (57). Son dönemlerde mikrobiyom ve mikrobiyota kavramlarının yaygın olarak kullanılan kavramlar olduğu görülmektedir (58). Mikrobiyota insanlar ile beraber yaşamını sürdüren özel türlerin tamamını ifade etmekte iken mikrobiyom ise insanlar ile kommensal olarak yaşamını sürdüren mikroorganizmaların taşıdıkları genleri ifade eder (58).

Mikroorganizmalar arasındaki ve mikroorganizma-konak arasındaki ilişkiler mikrobiyom çalışmalarıyla incelenebilir (59-61). 2007 yılında 300 katılımcıyla başlatılan insan mikrobiyom projesiyle vücuttaki bütün mikroorganizmaların belirlenmesi, mikrobiyomdaki değişikliklerin hastalıklar ile ilişkili olup olmayacağının araştırılması amaçlanmıştır (62).

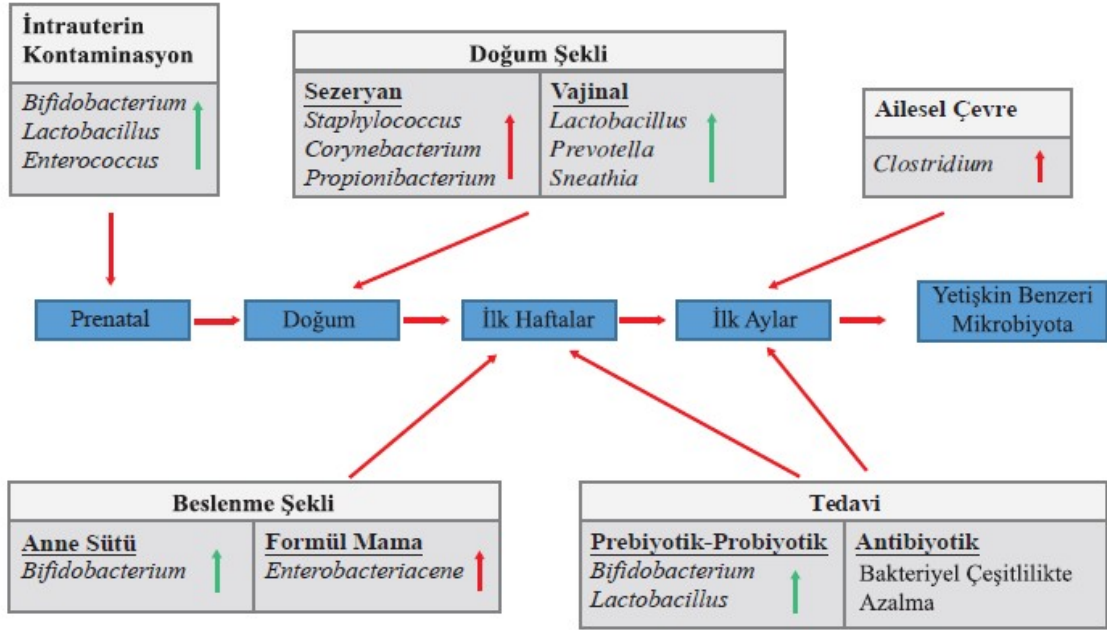
İnsan mikrobiyotasında bakteriler başta olmak üzere virüsler, mantarlar ve çok sayıda ökaryotik mikroorganizma bulunur (62). İnsan vücudunun bakteri genomu insan genomuna kıyasla 150 kat fazladır (59,61). İnsan ve mikrobiyal genom birlikteliği

“hologenom” olarak adlandırılır (63). Genom üstünlüklerinin yanı sıra insan vücudunda bulunan mikroorganizma sayısı insan vücudundaki hücre sayısından 10 kat daha fazladır (64). Diğer bir ifadeyle ortalama bir insan %10 insan ve %90 mikrobiyal hücrelerin birleşiminden meydana gelen bir süperorganizmadır (holobiont) (63).

İnsanlarda mikrobiyotanın sağlık ve hastalık durumlarında önemli rolü söz konusudur. Bu bağlamda mikrobiyota bir organ olarak nitelendirilebilir. Başta barsak mikrobiyotası olmak üzere insan vücudundaki mikrobiyota immün hücrelerin olgunlaşmasını ve immün sistemin fonksiyonlarının normal gelişimlerini teşvik etmek için gereken sinyalleri sağlayarak, sindirilmemiş karbonhidratları absorblayarak, fermentasyon yaparak ve pek çok kompleks mekanizmalar ile düzenler (65). İnsan mikrobiyotasının önemli bir bölümü sindirim sistemi başta olmak üzere deri, solunum sistemi ve genitoüriner sistemde kolonizedir. Sindirim sistemi oldukça geniş yüzey alanı ve mikroorganizmalar açısından oldukça zengin ve çeşitli besin öğelerine sahip olduğundan mikrobiyota kolonizasyonu açısından en ideal ortamdır. Bu sebepten ötürü de kolon insan vücudundaki mikroorganizmaların %70’ten fazlasını barındırır (64).

2.4.1. Bebeklerde İntestinal Mikrobiyotanın Oluşumu ve Gelişimi

İnsanlarda sindirim sistemi mikrobiyotası doğumun hemen ardından oluşmaya başlar (66). İntestinal sistem fetal dönemde steril olarak kabul edilir (67). Bununla birlikte son dönemlerde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda intrauterin ortamda da bakterilerin varlığı gösterilmiş olup bu kolonizasyonun mekonyum kolonizasyonu olabileceği düşünülmektedir. Mekonyumdaki vakteri varlığı anneden bebeğe annenin barsak mikrobiyotasından geçişe bağlanmaktadır. Bu da doğumdan önce infant mikrobiyotasının şekillenmesinde etkilidir (68).



Şekil 2. 2. İntestinal mikrobiyotanın oluşumu (68)

Bebeklerde barsak mikrobiyotasının şekillenmesinde doğum şeklinin oldukça etkili olduğu bildirilmektedir. Normal doğum (vajinal doğum) ile dünyaya gelen bebeklerde yenidoğan vajinal kanalda bulunan pek çok mikroorganizmayla karşılaşmakta olup bu şekilde barsak mikrobiyotası oluşurken sezaryen doğum ile dünyaya gelen bebeğin barsak mikrobiyota kompozisyonunun ise deri mikroorganizmaları ile benzer biçimde olduğu görülmüştür (66). Barsak mikrobiyotasında kolonize olan ilk türler *Escherichia coli* ve *Streptococcus* sp gibi fakültatif anaeroblar olup daha sonra ise barsakta oksijen oranındaki düşüğe bağlı olarak zorunlu anaeroblar kolonize olmaya başlamaktadır (69). Mikrobiyotanın doğum sonrası erken kolonizasyon döneminde şekillenmesinde diyet (anne sütü, formül mama), infantil dönemde antibiyotik kullanımı ve hijyenik çevre şartlarının etkili olduğu bildirilmektedir (67).

2.4.2. Mikrobiyota Gelişimi

Hastalıkların gelişiminde mikroorganizmaların nedensel role sahip olduğunun anlaşılması tıp ve insanlık tarihi açısından önemli dönüm noktalarından birisi olarak nitelendirilebilir. Fakat bu durum araştırmacılarca mikroorganizmaların hastalıklara karşı korunmadaki etkisinin incelenmesini uzun bir süre geri planda bırakmıştır. Mikroorganizmaların hastalıklara karşı koruyucu etkiye sahip olduğu uzun zaman önce çeşitli araştırmacılarca gündeme getirilmiş olsa da bu konu özellikle son 20 yıllık

dönemde daha popüler hale gelmeye başlamıştır. Bu durum neticesinde de daha önce insan vücudunda steril olduğu düşünülen çoğu sıvı ve alan da dahil olmak üzere yoğun bir patojenik olmayan mikroorganizma varlığının olduğu görülmüştür. Bu mikroorganizmalar vücut hücreleriyel komensal ve mutualistik bir ilişki dahilinde yaşamlarını devam ettirmekte olup yerine getirmiş oldukları görevler göz önünde bulundurulduğunda bir organ gibi işlev görmektedirler.

Mikrobiyota belirgin bir ekolojik yer ya da çevredeki mikroorganizmalar topluluğudur. Mikrobiyotayı insan vücudundaki komensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmalar oluşturur. Çoğunlukla mikrobiyota kelimesinin yerine kullanılan mikrobiyom kelimesi ise belli bir yerde yaşamakta olan mikrobiyotanın gen havuzunu ve bunların çevreyle olan ilişkisini ifade eder (70,71). Son dönemlerde mikrobiyota ve mikrobiyomların tespit edilmesi bilhassa moleküler yöntemlerde yaşanan gelişmeler sonucunda son derece kolay hale gelmiştir (72).

Yetişkinlerin kişiye özgü fakat sabit bir intestinal mikrobiyotası vardır. Genellikle Bacteroides ve Firmicutes'lerin olduğu anaerob bakterilerden meydana gelen barsak mikrobiyotası başta beslenme olmak üzere metabolik, fizyolojik, immünolojik ve nöral fonksiyonlarda rol oynar (70,73). Dolayısıyla da mikrobiyota içeriğinde meydana gelen değişiklikler insan sağlığı üzerinde ciddi etkiye sahiptir. Günümüzde tip II Diabetes mellitus, obezite, astım, alerji ve atopik hastalıklar, inflamatuvar barsak hastalığı, nekrotizan enterokolit ve ateroskleroz gibi bulaşıcı olmayan çoğu hastalığın barsak mikrobiyotasıyla sıkı ilişki içerisinde olduğu gösterilmiştir (70,72,74-78).

Bilhassa bebeklik dönemi mikrobiyotası gastrointestinal sistem mukozasının gelişmesi ve olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadır (79). Aynı zamanda anne sütüne atfedilmekte olan çoğu yararın bilhassa başta bifidobakteriler olmak üzere içerdiği mikrobiyotadan ileri geldiği görülmüştür (80). Yakın zamana dek steril olduğu düşünülen anne sütünün esasen içerisinde bakterilerin de olduğu 17. yüzyıldan beridir bilinmektedir (81,82). Genel olarak anne sütünde bakteri varlığı enfeksiyon göstergesi olarak değerlendirilmekle beraber anne sütünde patojenik olmayan mikroorganizmaların olduğunun kabul edilmesinin üzerinden çok fazla zaman geçmemiştir (83). Geçmiş yıllarda anne sütünde yapılan bakteri analizleri çoğunlukla bir enfeksiyon durumunda yapıldığı için patojen olmayan bakterilerin varlığı anlaşılamamış iken günümüze ise bakterilerin tespitinde kullanılan yöntemlerde yaşanan gelişmeler, bilhassa da kültürden

bağımsız yöntemler ve “-omic” yaklaşımı anne sütünde tahmin edilenden çok daha fazla bakteri çeşitliliği olduğunu göstermiştir (81).

Her ne kadar mikrobiyota oluşumu doğum öncesinde başlasa da esas itibariyle yaşamın ilk 3 yıllık döneminde şekillenmekte ve beslenme şekli bebeğin sağlıklı mikrobiyotaya sahip olmasında önemli rol oynamaktadır (72). Daha sonraki süreçte önemli oranda sabit kalan mikrobiyota, yaşlılıkla birlikte bir miktar değişmektedir (73). Doğumda basit bir mikroorganizma topluluğu şeklinde gelişen insan mikrobiyotası yetişkinlikte oldukça büyük bir mikroorganizma ekosistemi haline gelmektedir (84). Mikroorganizmalar ile yaşamın ilk dönemlerinde temasın önemi bilhassa son 20 yıllık dönemde ciddi şekilde araştırılmış olup yapılan bu araştırmalar sonucunda mikrobiyota gelişiminin gelecekteki sağlık durumunun önemli belirleyicilerinden birisi olduğu bildirilmiştir (70,85,86)

2.4.2.1. Doğum Öncesi Mikrobiyota Gelişimi

Anne sütünde olduğu gibi geçmişte amniyos sıvısı ile anne karnındaki ortamın ve fetüsün de steril olduğu, ilk bakteriyel kolonizasyonun bebeğin doğum kanalına geçişi sırasında meydana geldiği düşünülmekte idi (70,79). Fakat amniyos sıvısında, göbek kordonu ve mekonyumda çeşitli bakterilerin izole edilmesiyle bu yaklaşım değişmiştir. Yapılan çalışmalarda annenin gastrointestinal mikrobiyotasıyla karşılaşmasının ve kolonizasyonun fetal dönemde başladığı, mikroorganizmaların plasental olarak transfer edilip barsak mikrobiyotasının gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir (72,77,79).

Gebelikte birlikte anne vücudunda yaşanan bazı değişiklikler ile beraber mikrobiyota da farklılaşır. Bilhassa intestinal ve sütbezlerinde bulunan mikrobiyotanın değiştiği, gebelin son dönemlerindeki anne sütünde çeşitli bakterilerin bulunduğu bildirilmiştir. Konu üzerine gerçekleştirilen bazı araştırmalarda gebelik ve laktasyon dönemlerinde annenin intestinal mikrobiyotasındaki bakterilerin intestinal immün hücrelerle ilişkili bir mekanizmayla süt bezlerine ulaştığı belirtilmektedir (82,87). Anne mikrobiyotasının bebeğe geçişine ilişkin bilgiler sınırlı olmakla beraber anne intestinal mikrobiyotasında bulunan bakterilerin dendritik hücreler aracılığı ile meme dokusuna taşındığı ileri sürülmektedir (83).

Gastrointestinal, vajinal ve anne sütü mikrobiyotasında annenin diyeti etkilidir (79). Gebelik döneminde antibiyotik ve probiyotik kullanımı annenin, dolayısıyla da bebeğin

mikrobiyotasını etkilemektedir (75). Aynı zamanda elektif sezaryenle doğum, fizyolojik stres ve çeşitli hormonların bulunmamasından ötürü anne sütüne mikrobiyota geçişini negatif olarak etkilediği ifade edilmektedir (88). Aynı zamanda sezaryen doğumun normal doğumda doğum kanalından geçerken maruz kalınan vajinal ve intestinal bakterilerle teması etmemesine bağlı olarak mikrobiyota gelişimini negatif yönde etkilediği bildirilmiştir (80). Bu durum dikkate alındığında bebeğe sadece annenin cilt mikrobiyotasının aktarıldığı söylenebilir. Sezaryen doğumla dünyaya gelen bebeklerde astım ve alerji gelişiminin daha fazla oluşu da bu durumla izah edilebilir.

2.4.3. Anne Sütü Mikrobiyotası

Anne sütü bebeğin büyüme ve gelişmesi için gerekli protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineraller ile su içermektedir. Bunun yanı sıra bebek sağlığı açısından gerekli olan bazı biyoaktif bileşenlere de sahiptir (87). Çok sayıda farklı mikroorganizmayı barındıran anne sütü mikrobiyotası en önemli biyoaktif bileşenlerden birisidir (76,82). Son dönemlerde konu üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda anne sütünde 200'ün üzerinde bakteri filotipi olduğu gösterilmiştir (87,89-92). Coğrafi yerleşim ve kullanılan analiz yönteminden bağımsız olarak anne sütünde en fazla Stafilokok ve Streptokoklar olduğu bildirilmiştir. Anne sütünün asıl mikrobiyotası olarak adlandırılacak olan sınırlı türdeki mikroorganizma bütün mikrobiyotanın %50'sini oluşturmakta iken geriye kalan %50'si ise anneye özgü olup çevre koşullarına göre değişmektedir (87).

Annenin sağlık durumu, yaşanan çevre, diyet, obezite, immünolojik durum, gestasyonel yaş, doğum şekli, antibiyotik kullanımı ve laktasyon aşaması gibi faktörler anne sütü mikrobiyotasının etkileyen başlıca faktörlerdir (94-96).



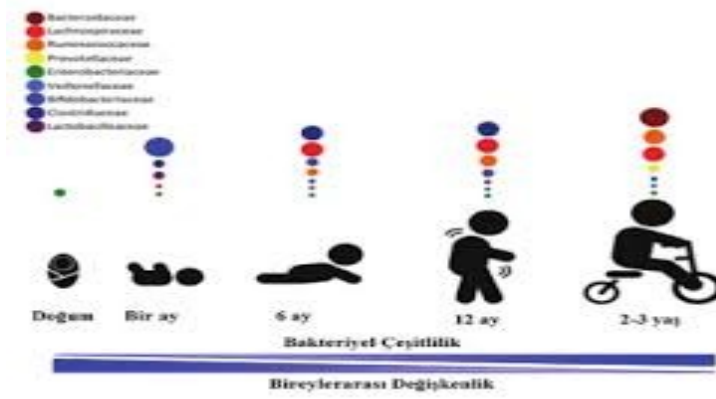
Şekil 2. 3. Erken mikrobik teması düzenleyen faktörler ve barsak kolonizasyonu (70)

Bebeklerde sağlıklı mikrobiyota gelişimi anne mikrobiyotasının sağlıklı olmasıyla ilişkilidir (78). Konuyla ilgili çalışmalarda anne sütündeki mikroorganizmaların bebeğin mikrobiyotasının gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir (97,98).

Martin ve ark. (99) tarafından anne sütünün ve vajinanın yenidoğanın barsak kolonizasyonu üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile beş anne sütü, vajinal sürüntüleri ve bebeklerin feçeslerinde bulunan Laktobasil gruplarını karşılaştırılmıştır. Çalışma neticesinde vajinal örneklerde saptanan bakteri türlerinin hiç biri anne sütü örneklerden saptanmamış iken feçesteki birkaç tür ise anne sütünde tespit edilmiştir. Murphy ve ark. (92) yapmış oldukları çalışmada ilk üç ay ve 10. ayda anne sütüyle bebek feçeslerini karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda her ikisinde de ortak bakteri türlerinin bulunduğu görülmüştür. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar anneden bebeğe emzirme vasıtasıyla dikey bakteri geçişi olduğunu, bunun da bebeğin barsak mikrobiyotasının gelişimini etkilediği söylenebilir.

Anne sütü mikrobiyotasının bebeğe geçişi son derece karmaşık ve gelişmiş süreçler sonucu gerçekleşmektedir (96). Bilhassa ilk 3-4 aylık dönem mikrobiyota gelişimi açısından son derece önemlidir (80). Annenin vajinal, fekal ve cilt mikrobiyotasından geçen bakterilerle yenidoğan barsağında kolonize olan ilk mikroorganizmalardır (72,75). Normal doğumla dünyaya gelen bebeğin mikrobiyotası ilk olarak doğum kanalından geçiş esnasında bebeğe aktarılan Stafilokok, Streptokok ve *E.coli* gibi fakültatif anaerob bakterilerden oluşur. Bu bakteriler çoğalarak birkaç gün sonra anaerob ortam oluşturmaktadır ki bu ortam anne sütünden bebeğe geçen ve sadece anaerob ortamda üreyebilen *Bacteroides* ve bifidobakterilerin kolonizasyonu ve dominant hale gelmesine imkan tanır (78,83,86). Yapılan çalışmalarda anne sütü almayan yenidoğanların barsaklarındaki bakteri çeşitliliğinin daha fazla, bifidobakterilerin miktarının ise daha az olduğu bildirilmiştir (80,100).

Anne sütünün kesilmesi ve/veya ek gıdaya başlanması bebek barsağındaki bakteri kolonizasyonunda ciddi bir değişikliğe sebep olur. Bifidobakteri ve *Enterobacteriaceae*'de azalma gerçekleşirken *Bacteroides*, *Clostridium* ve *Ruminococcus* bakterilerinde ise artış gerçekleşir. 12-30 ay arasında ise gittikçe yetişkin barsak kolonizasyonuna benzer bir mikrobiyotaya sahip olunur. Üç yaş dolayında barsak mikrobiyotası hemen hemen yetişkin ile aynı hale gelir (72,86) (Şekil 2.4).



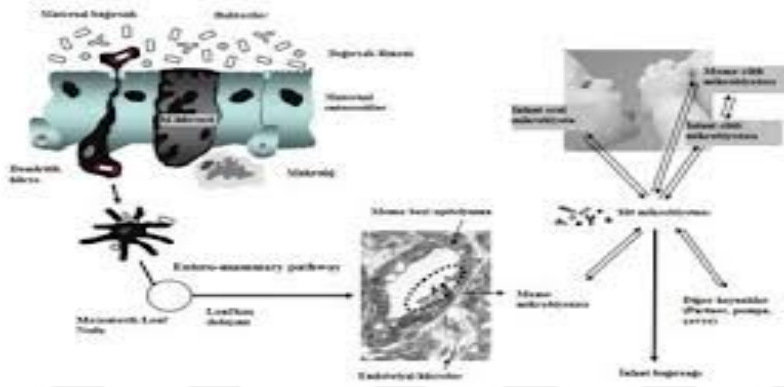
Şekil 2. 4. Bebek ve çocuk barsağında mikrobiyal kolonizasyon aşamaları (72)

Anne sütünde mikroorganizmaların olması ve bunların bebekler açısından faydalı özelliklere sahip olması “anne sütü probiyotik midir” sorusunu akıllara getirmektedir. Bode ve ark. (87) bu sorunun cevabının evet olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar çıkış noktası olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Gıda ve Tarım Örgütü’nün (FAO) 2001’de ortaklaşa yapmış oldukları “yeterli düzeyde verilmesi halinde konakçıya sağlık açısından yararlı olan canlı mikroorganizma” şeklindeki probiyotik tanımından ziyade Nobel ödüllü bilim insanı Dr. Ilya Mechnikov’un bundan yaklaşık 100 yıl önce probiyotik gıdalar kullanarak gastrointestinal mikrobik toplulukların manipüle edilmesi ile sağlığın geliştirilebileceği ve yaşam süresinin uzatılabileceğine ilişkin savını baz almışlardır.

2.4.4. Anne Sütü Mikrobiyotasının Kaynağı

Anne sütünde bakteri varlığının anlaşılmasının ardından bu bakterilerin nereden geldiği sorusu akıllara gelmiştir. Bu konuyla ilgili yapılan ilk çalışmalarda meme cildinde yer alan mikroorganizmaların emme esnasında süte geçişinden kaynaklı olduğu ileri sürülmüş iken bazı araştırmacılar da bebek oral mukozasında yer alan bakterilerin süte geçtiğini ileri sürmüşlerdir (97). İlk dönemlerde bebeğin oral mukozasında bulunan bu mikropların doğum kanalından geçiş esnasında bebeğe geçtiği ileri sürülmekte idi. Emme sırasında bir miktar süten süt kanallarına geri döndüğünün bilinmesi bu görüşün kabul edilmesine katkı sağlamıştır (80,81,96). Bununla beraber anne sütünde çoğunlukla barsak ortamı ile ilgili olan ve aerobik bölgelerde yaşayamayan anaerobik bakteri hücrelerinin ya da DNA’sının tespit edilmesi sütle ilişki bakterilerin orijinine ilişkin farklı görüşlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Zira anaerob özellikte olan

bifidobakterilerin oksijen stresine karşın bebeğin ağzından annenin meme cildine transferi pek mümkün görülmemektedir (81). Bu yeni görüşe göre bakteriler “enteromammary-pathway” olarak adlandırılan endojen bir yolla ane barsağından meme dokusuna ulaşır (101) (Şekil 2.5).



Şekil 2. 5. Anne sütündeki bakterilerin kaynakları (101)

Yukarıda belirtilen görüşün çıkış noktasını Martin ve arkadaşlarının (102) yapmış olduğu çalışma oluşturmuştur. Araştırmacılar ilgili çalışmada anne sütündeki bakterilerin meme cildinde bulunan bakteriler ile değil anne ve bebeğin fekal mikrobiyotasıyla aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yapmış oldukları bu çalışmada anne sütüyle beslenen sekiz bebeğin ağız sürüntüleri ve feçesleriyleannelerinin sütünden, meme areolasından ve cildinden almış oldukları örnekleri incelemişlerdir. Yapılan inceleme sonucunda bütün örneklerde laktik asit bakterisi izole edildiğini bildirmişlerdir. Fakat meme cildinde bulunan laktik asit bakterilerinin RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) profilinin diğer örneklerle göre farklı olduğu tespit edilmiştir. Bunun neticesinde anne sütünde laktik asit varlığının sütün meme cildi çevresiyle kontamine olmasından kaynaklı olamayabileceği, endojen bir kökene sahip olabileceği ileri sürülmüştür. Enteromammary Pathway olarak adlandırılmakta olan mekanizmada dendritik hücrelerin önemli işlevlere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Bu görüşe göre dendritik hücreler örnek bakteri numunesi almak için doğrudan lümeninden barsak epiteline yayılabilmektedir. Bunun yanı sıra barsak epitelyum hücreleri arasında sıkı bağlantı noktalarını açabilmekte, epitelyum ötesine denritler aracılığı ile uzanıp epitelyum bütünlüğü bozulmaksızın direkt olarak bakteri örnekleyebilmektedir. Bakteriler dendritik hücrelere bağlandıktan sonra mukoza ile

ilişkili lenfosit sistem içerisindeki monosit dolaşımı yolu ile süt bezleri de dahil başka bölgelere gidebilmektedir (87).

2.4.5. Anne Sütü Oligosakkaritleri

Anne sütü bebek mikrobiyotasına bakteri sağlamanın yanı sıra intestinal mikrobiyotasının gelişimi için de bakterilere besin sağlamaktadır. Anne sütünde en fazla bulunan üçüncü molekül grubu oligosakkaritlerdir. Bu moleküller bebeğin sindirim sisteminde bulunan bakterilerin çoğalmasına katkı sağlar. Bebeklerde süt glikanının sindirimi için gerekli enzimler bulunmadığından bu karbonhidratlar barsakların alt kısmında sindirilemezler. Burada bebeğin barsak mikrobiyotasının bazı üyelerince tüketilebilirler. Bazı bifidobakterilerin anne sütü oligosakkaritlerini etkin olarak kullanabilme becerisi söz konusu olup bu durum anne tarafından süt oligosakkaritlerinin üretilmesinin bebeğin barsağında bu bakteri grubunun varlığını garantilemek adına bir strateji olabileceğini düşündürmektedir (80,100,103).

De Loez ve ark. (104) yapmış oldukları çalışmada anne sütündeki oligosakkaritlerin prebiyotik etkiye sahip olduğu ve infant mikrobiyotasının şekillenmesinde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Anne sütü alan iki yenidoğanın fekal örnek serilerinin incelendiği bu çalışmada fekal bakteri popülasyonunun yaşamın ilk haftasında başlangıçta anne sütü oligosakkaritlerini tüketmeyen Enterobacteriaceae ve Staphylococcaceae'den oluştuğunu, daha sonraki günlerde ise anne sütü oligosakkaritlerinin tüketen Bacteroidaceae ve Bifidobacteriaceae grubu bakterilerin yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte fekal örneklerdeki anne sütü oligosakkaritlerin miktarının başlangıçta artma eğiliminde, daha sonra ise azalma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Coppa ve ark. (105) da benzer şekilde bir aylık laktasyon süresinden sonra analiz ettikleri infant feçerlerinde bulunan bifidobakteri sayısının anne sütünün oligosakkarit içeriği ile pozitif korelasyona sahip olduğunu bildirmişlerdir. Anne sütünün belirtilen bu özellikten ötürü ilk ve en önemli prebiyotik olduğu ifade edilmektedir (106,107).

2.5. Beslenmenin Barsak Mikrobiyotası Üzerine Etkileri

Barsak mikrobiyotasıyla besin alımı arasında karşılıklı ve kuvvetli etkileşim olduğu kabul edilmektedir. Barsaktaki mikroorganizmaların bazı vitaminlerin sentezini, bazı besin bileşenlerinin degradasyonunu etkileyebildiği, diğer bir ifadeyle mikrobiyotanın

beslenme üzerindeki etkileri oldukça uzun zamandır bilinmektedir. Fakat insan mikrobiyom projesinin barsak mikrobiyotasıyla ilgili sağlamış olduğu bilgilerle mikrobiyotayı etkilen faktörlere yoğunlaşmış ve bu bağlamda beslenmenin mikrobiyota üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalara hız verilmiştir (108).

2.6. Anne Sütünün Barsak Mikrobiyotasına Etkisi

Mikrobiyota üzerinde etkili olan diyetel ilk faktör anne sütü alma durumudur. Çünkü bebeklerin barsak mikrobiyotasının oluşumunu etkileyen en önemli unsurların bağında anne sütünün olduğu kabul edilmektedir. Anne sütü, prebiyotikleri (anne sütü oligosakkaritleri) ve probiyotikleri (Lactobacillus, Bifidobacterium) bir arada içeren sinbiyotik bir besindir (105). Anne sütündeki oligosakkaritlerin, lizozomlar, antikorlar, laktoferrin ve sitokinlerin barsak Bifidobacterium sayısında artışa neden olduğu bilinmektedir (34). Yalnızca ann sütüyle beslenen bebeklerin barsaklarındaki Lactococcus düzeyinin formül mamayla beslenenlere kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra hem anne sütü hem de formül mamayla beslenen bebeklerin ise yalnızca formül mamayla beslenen bebeklerle benzer mikrobiyota içeriğine sahip olduğu görülmüştür (109).

Anne sütünün ardından ek besinlere geçiş döneminde seçilen besinler ile beslenme modeli mikrobiyotanın şekillenmesindeki diğer önemli faktörlerdir. Belirtilen bu dönemde ayına göre uygun ve doğru besinlerin bebeklere verilmesiyle barsak bakteri çeşitliliğinde artış, bakteri kompozisyonunda da değişim başlar. Barsak mikrobiyotasının 2-3 yaşlarında yetişkin mikrobiyota kompozisyonu ile aynı olduğu kabul edilir (110).

2.7. Anne Sütünün Prebiyotikleri ve Probiyotikleri

2.7.1. Probiyotik Mikroorganizmalar

Probiyotik kelimesi “Pro” ve “biota” olmak üzere iki kısımdan meydana gelmekte olup “yaşam için” anlamına gelir. Antibiyotik teriminin anlam olarak karşıtıdır (111). Probiyotikler sağlık açısından yararlı, canlı bakteri içeren yiyeceklerdir (112). Probiyotik özellikteki mikroorganizmaların insan sağlığına olumlu etkileri ilk kez Rus araştırmacı Elie Metchnikoff tarafından 1908’de ortaya atılmıştır. Metchnikoff, Bulgar köylülerinin daha uzun yaşam ömrüne sahip olduklarını gözlemlemiş olup bu durumun

neden kaynaklı olduğunu araştırdığında ise yoğurt tüketme oranlarının oldukça yüksek olduğunu görmüştür. Yoğurt üzerine incelemeler yaptığında da canlı bakteriler ile karşılaşmış olup bu bakterileri *Lactobacillus bulgaricus* olarak adlandırmıştır (114). Laktobasiller günümüzde en yaygın kullanılan probiyotikler olup (115) formül mamalarda, probiyotik ilaveli sütlerde ve bazı farmasötik preparatlarda bulunmaktadır (116).

Vücudumuzun yaklaşık 2m^2 'si deri, 300m^2 'si mukozal yüzeyle kaplıdır (117). Bu yüzey vücudu yaklaşık 10^{14} mikroorganizmadan ayırır (111). Gastrointestinal sistemin mukozal yüzeyi akciğer yüzeyine göre küçük olmasına karşılık fonksiyonu ise karmaşıktır (115). Floranın temel kaynağı doğum esnasında yutulan annenin vajinal ve fekal florasıdır (118). Prebiyotik tedavisinin barsak savunma bariyerini mikrobiyal ekoloji ile teşvik ettiği düşünülmektedir (119).

Probiyotik mikroorganizmalar patojen ve toksik olmama, insan kaynaklı olma, mide asidi ve safraya karşı dirençli olma, barsa hücre epiteline tutunabilme, gastrointestinal sistemde geçici koloni oluşturabilme, doğal flora ile uyum sağlayabilme, antimikrobiyal salgı üretebilme ve konakçı sağlığına olumlu katkı sağlayabilme özelliklerine sahip olmalıdır (120).

Probiyotikler patojenik mikroorganizmaları inhibe etme ya da ortadan kaldırma işini pek çok mekanizmayla gerçekleştirir. Bunlar; laktik asit sentezleyerek lümen pH'sını düşürmek, antimikrobiyal mikrosin, hidrojen peroksit ve serbest radikaller sentezleme, reseptörlere tutunarak ve besin kaynakları için rekabet etmek, koruyucu münin oluşumunu teşvik etmek, sekretuar IgA yapımını uyarmak şeklinde sıralanabilir (121).

Probiyotiklerin büyük bölümü non-patojenik mikroorganizmalardır. Laktobasiller, bifidobakteriler ve Enterkoklar gibi sindirim sisteminde doğal olarak bulunurlar. Bununla birlikte son dönemlerdeki çalışmalar sonucunda *L.rhamnosus* ve *L.paracasei* gibi probiyotik mikroorganizmaların olası potansiyel patojeniteleri olduğu saptanmış olup ürün uygulamalarında kullanılacak olan probiyotik mikroorganizmaların (Tablo 2.1) bu nedenle dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmiştir (115).

Tablo 2. 1. Ticari Olarak Kullanılan Probiyotik Suşları (111)

Lactobacillus suşları	Bifidobacterium suşları
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. johnsonii</i> <i>L. lactis</i> <i>L. paracasei</i>	Mayalar
<i>L. plantarum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i> Streptococcus suşları <i>S. thermophilus</i>	

Tablo 2. 2. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (122-126)

Cins	Tür
<i>Akkermansia</i>	<i>Akkermansia muciniphila</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus clausii</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus laterosporus</i> , <i>Bacillus lenis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus</i> <i>polyfermenticus</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacterioides</i>	<i>Bacterioides amylophilus</i> , <i>Bacterioides capillus</i> , <i>Bacterioides suis</i> , <i>Bacterioides uniformis</i> <i>Bacterioides ruminicola</i> ,
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium catenulatum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium thermophilum</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus cellobiosus</i> , <i>Lactobacillus crispatus</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus cerevisiae</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>Propionibacterium jensenii</i> , <i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus intermedius</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus oralis</i>
Küfler	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>Candida torulopsis</i>

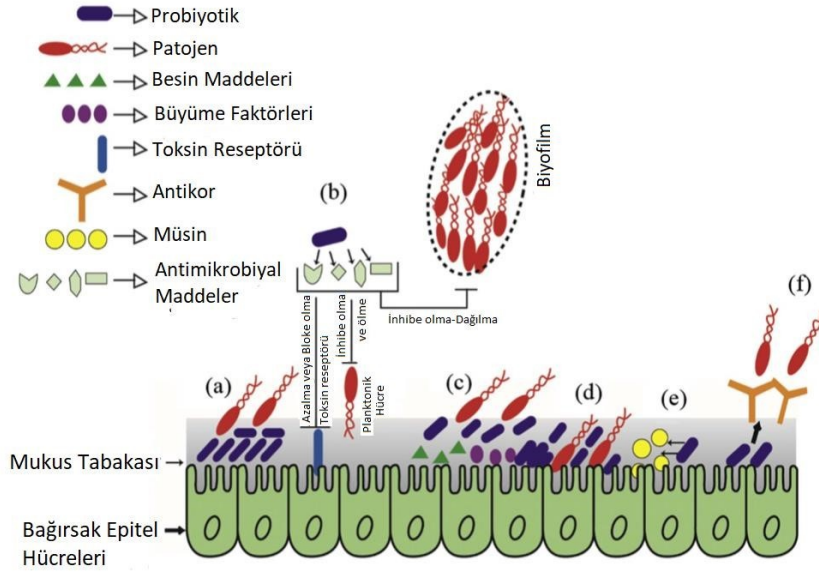
Probiyotik mikroorganizmanın tipi (tür, cins, suş), canlı veya ölü oluşu, ürettiği metabolitler, gıdada bulunduğu miktar ve yaşayabilirliği; konakçının genotipik

özellikleri, barsak mikroflorası ve fizyokimyasal özellikleri probiyotiklerin yararlı etkilerini göstermede önemli faktörlerdir. Ayrıca suşun adaptasyonu ve probiyotik olma potansiyeli de önemli faktörler arasında yer almaktadır (127).

Probiyotikler çoğunlukla yoğurt, kefir, kıyma, peynir gibi fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Probiyotik yoğurt ürünlerinin satışı ilk olarak 1980'lerde Avrupa'da görülmüştür (128).

2.7.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizmaları

Probiyotikler, barsak yüzeylerine tutunup kendilerine ekolojik bir yaşam alanı oluşturarak besin maddelerini kullanır ve böylece rekabet ortamı oluşturarak patojenlerin gelişmelerini sınırlandırır. Ayrıca, asetik asit ile laktik asit gibi çeşitli organik asitler üretilir pH'yı düşürerek ve belirli koşullar altında hidrojen peroksit ile bakteriyosinler üretilerek de diğer bakterilerin gelişmesini engeller. Probiyotiklerin olumlu etkisi yalnızca gastrointestinal yolla sınırlı olmayıp, çeşitli besleyici ve terapötik etkiler sağladıkları da bilinmektedir. Bu bakterilerin katılımıyla birlikte meydana gelen enzimatik hidroliz ile lipidlerin ve proteinlerin biyolojik olarak kullanılabilirliklerini artırmakta ve gıda maddelerinin alerjenikliğini düşürmektedirler. Örneğin, laktozu sindirebilmekte ve fermente süt ürünlerinde laktoz seviyesini düşürerek laktoz intoleransı semptomlarını azaltmaktadırlar. Bunlara ilaveten, probiyotikler serum kolesterol seviyesini düşürmede, diyarenin tedavisinde ve engellenmesinde, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun ve enflamatuar barsak hastalığının kontrolünde etkili olup, çeşitli antikarsinogenik ve antimutajenik etkiler de göstermektedirler. Elde edilen bulgulara göre, probiyotiklerin yaraların iyileşme sürecinde olumlu etkileri olduğu, bebeklerde yapılan deneylerde probiyotik kullanımının ishali, kolik ağrısını, alerjik hastalıkları ve solunum ile ilgili rahatsızlıkları azalttığı ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmektedir (123,129-131). Probiyotiklerin etki mekanizmaları Şekil 2.6'da görülmektedir.



Şekil 2. 6. Probiyotiklerin etki mekanizmaları (132)

(a) Patojen mikroorganizmalarla rekabet ederek yüzeye tutunum, (b) Antimikrobiyal maddelerin üretimi, (c) Besin maddeleri ve büyüme faktörleri için rekabet, (d) İntestinal epitel hücreye tutunumun artması, (e) Epitel bariyer fonksiyonunun artması, (f) İmmün sistemin uyarılması (Ig A üretiminin artması) /Figure 2. Mechanisms of action the probiotics (a) Adherence to surface by compete with pathogenic microorganisms, (b) Production of antimicrobial agents, (c) Competition for nutrients and growth factors, (d) Increased adherence to intestinal epithelial cell, (e) Increased epithelial barrier function, (f) Stimulation of the immune system (increased Ig A production)

Probiyotik bakterilerin insan sağlığı ve beslenmesi üzerinde önemli terapötik ve diyetetik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir.

2.8. Gastrointestinal Hastalıklar

Daha önce de ifade edildiği gibi yapılan çalışmalar sonucunda probiyotik mikroorganizmaların sağlık açısından pek çok faydalı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (133). Probiyotikler gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının tedavisi ve önlenmesi amacıyla insan normal barsak florasının yeniden oluşturulması için her gün daha da fazla kabul görmektedir (121).

Laktoz Sindirime katkısı: Laktoz sindirim bozukluğu erişkin popülasyonun yaklaşık %75'ini etkileyen bir durumdur (134). Saviano ve arkadaşları tarafından 1984 yılında yapılan bir çalışmada laktör intoleransı olanlarda laktozun yoğurttan süte oranla daha kolay absorbe edilebildiği tespit edilmiş olup bu durumun olası nedeninin ise yoğurt bakterilerince laktozun intralüminal sindirimi olduğu bildirilmiştir (135). Zubillaga ve ark. (136) tarafından yapılan çalışmada probiyotik olarak Laktobasil içeren ürün

tüketilmesinin beta-glukoronidaz, nitroredüktaz ve azonitroredüktaz gibi fekal bakteri enzimlerinin aktivitesini azalttığı bildirilmiştir. Bu duruma bağlı olarak barsak mikroflorasının hızlı bir biçimde adapte olarak ince barsakta sindirilemeyen laktozun önemli bir kısmını metabolize edebileceği ifade edilmiştir.

Zubillaga ve ark. (136) probiyotik olarak Lactobasil içeren ürünlerin tüketiminin beta-glukoronidaz, nitroredüktaz ve azonitroredüktaz gibi fekal bakteri enzimlerinin aktivitesini azalttığını rapor etmişlerdir. Buna bağlı olarak da kolon mikroflorasının hızlı bir şekilde adapte olarak ince barsakta sindirilemeyen laktozun büyük bir bölümünü metabolize edebileceği belirtilmektedir.

İshal: Gelişmekte olan ülkelerde 5 yaş altındaki çocuklarda en önemli sağlık sorunlarından ve ölüm nedenlerinden birisidir (137). Çoğunlukla dışkıının normal şeklinin kaybolması, miktar ya da dışkılama sıklığının artması şeklinde tanımlanmaktadır (138). Bilhassa enfeksiyöz ishaller gelişmekte olan ülkelerde önemli halk sağlığı sorunlarından birisi olup çocuk ölüm nedenleri arasında da ilk sıralarda yer almaktadır (139). İnanç ve ark. (118) gelişmekte olan ülkelerde önemli mortalite nedenleri arasında yer alan ishalin tedavisinde probiyotik kullanımının faydalı olabileceğini ifade etmiştir. Guandalini ve ark. (140) tarafından 10 Avrupa ülkesindeki 13 merkezde gerçekleştirilen çalışmada 1-36 aylık olan 140'ı plasebo grubu, 147'si *L.rhamnosus* GG (LGG) grubu olmak üzere toplam 287 çocukta akut ishal vakalarında LGG kullanımının ishal üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışma neticesinde LGG verilen rotavirus diyareli çocukların defekasyon sürelerinin 76.6 saatten 56.2 saate düştüğü, sulu dışkılama sayısında ciddi azalma olduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra plasebo grubunda yer alan çocukların %10.7'sinde, LGG grubundaki çocukların ise %2.7'sinde yedi günden uzun süren diyare olduğu bildirilmiştir. Erdev ve ark. (141) tarafından 466 hasta üzerinde gerçekleştirilen araştırmada yalnızca antibiyotik kullanan hastaların %18.9'unda antibiyotiğe ilaveten probiyotik kullananların ise %5.7'sinde ishal geliştiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada *C.difficile* Toksin-A pozitifliği saptanan bütün olguların sulbaktam-ampisilin kullanan vakalar olduğu saptanmıştır. Yalnızca sulbaktam-ampisilin kullananlarda ishal gelişme oranının %25.6, sulbaktam-ampisilin yanı sıra probiyotik (*Saccharomyces cerevisiae*) kullananlarda ise bu oranın %5.9 olduğu tespit edilmiştir. Başka bir ifadeyle probiyotik kullanımına bağlı olarak ishal gelişme riskinin yaklaşık 4 kat düştüğü görülmüştür.

Nekrotizan Enterokolit: Neonatal nekrotizan enterokolit (NEK), yenidoğan dönemde nedeni bilinmeyen ciddi gastrointestinal sistem hastalıklarından birisidir (142). Ülkelere ve hastaneye göre insidansı farklılık arz etmektedir (143). Lin ve ark. (144) tarafından 180 çalışma, 187 kontrol grubu olmak üzere toplam 367 kişi üzerinde gerçekleştirilen araştırmada yalnızca anne sütüyle beslenen gruba kıyasla anne sütünün yanı sıra *L.acidophilus* ve *Bifidobacterium infantis* içeren formül mamayla beslenen bebeklerde nekrotizan enterokolit sıklığında %63'lük bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Kolombiya'da gerçekleştirilen başka bir araştırmada da benzer şekilde *L.acidophilus* ve *B.infantis* kullanımının nekrotizan enterkolitte %60 oranında bir düşüş sağladığı tespit edilmiş olmakla beraber konuya ilişkin net bir yorumda bulunabilmek adına daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır (145).

İnflamatuvar Barsak Hastalıkları: Kronik inflamatuvar (iltihabi) barsak hastalıkları ülseratif kolit ve Crohn hastalığı şeklinde iki gruba ayrılmaktadır (146).

1. Ülseratif kolit: Kolonda mukozaya sınırlı ülserasyonlar ile karakterize bir hastalıktır (147). Guslandi ve ark (148) tarafından gerçekleştirilen kontrolsüz araştırmada sterodi ilaç kullanımı açısından uygun olmayan 25 ülseratif kolit hastasına mesalazinin ile beraber dört hafta boyunca *S.boulardii* mayası verilmiştir. Çalışmayı tamamlayan 24 hastanın 17'sinde hastalık aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Ishikawa ve ark. (149) yapmış oldukları çalışmada Bifidobacterium ile fermente edilmiş süt alan remisyondaki ülseratif kolit hastalarında relaps oranında Bifidobacterium ile fermente edilmiş süt almayanlara göre relaps oranının anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir (150)

2. Crohn Hastalığı: Gastrointestinal sistemi ağızdan anüse kadar etkileyen, nedeni tam olarak bilinmeyen iltihabi kronik bir hastalıktır (151). Crohn tanısıyla takip edilen remisyondaki 32 hastada mesalemin ve *S.boulardii* alan grupta yineleme oranlarının düşük olduğu tespit edilmiştir (152).

Konstipasyon: Dışkının sert, kuru, normalden geç ve az dışarı atılması durumudur (115). Kabızlık şikayeti olanların fekal florasında Bacteroides, Bifidobakteriler ve Clostridia'ların azaldığı bildirilmiştir (111). Konu üzerine gerçekleştirilene çalışmalar sonucunda *L.acidophilus* NFCB 1748 (Yoğurt içinde), *L.casei* Shirota ve *L.rhamnosus*

GG (Fermente peynir altı suyu içinde) kullanılması halinde konstipasyon tedavisinde ve semptomlarının hafifletilmesinde etkili olduğu saptanmıştır (115).

***Helicobacter pylori* Enfeksiyonu:** *H.pylori* enfeksiyonu dünya genelinde en yaygın enfeksiyondur. Dünya nüfusunun %50'den fazlası bu bakteriyle enfektedir (147). Oh ve ark. (153) yapmış oldukları çalışmada ABD'de üretilip tüketilen geleneksel yoğurdun 24 saat boyunca aynı ortamda inkü ettikleri 10 farklı *H.pylori* suşunun hepsini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada yoğurttan *L.kefiri*, *L.crispatus*, *L.ferentoshensis*, *Klyveromyces lactis* ve *Issatchenkia orientalis* izole edilmiş olup bunların laktik asit ve diğer organik asitlerin üretimi, fenol üretimi ve bakteriosin üretimi gibi farklı mekanizmalar ile *H.pylori* gelişimini inhibe ettikleri saptanmıştır. Felley ve Michetti (154) yapmış oldukları çalışma sonucunda probiyotiklerin *H.pylori*'nin epitele adezyonunu önlediğini, aynı zamanda insanda gastriti hafiflettiğini tespit etmişlerdir. Probiyotiklerin hem *H.pylori* eradikasyonunu artırabileceği hem de yan etkilerini azaltabileceğini ifade etmişlerdir. Mukai ve ark. (155) yapmış oldukları çalışmada *L.reuteri*'nin glikolipid bağlayıcı protein salgılamak suretiyle *H.pylori*'nin glikolipid reseptörlerine bağlanmasını inhibe ettiğini bulmuşlardır.

Ürogenital Sistem Sağlığı: Üriner sistem kendine özgü bir floraya sahip olup bu floranın dengesinde meydana gelen bozulma üriner sistem enfeksiyonlarının ortaya çıkmasına yol açar. Bilhassa hidrojen peroksit üretebilen mikroorganizmalar üriner sistem enfeksiyon riskinin azaltılmasında etkilidir (111). Reid ve ark. (156) yapmış oldukları çalışmada *L.fermentum* B-54 ve RC-14 ile *L.rhamnosus* GR-1'in kombine edilerek kullanılmasının üriner sistem enfeksiyonları üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda belirtilen mikroorganizmaların ürogenital sistemde kolonize olabildikleri görülmüştür. Yoğun yoğurt tüketilmesinin Candida'ya bağlı vajinitisi iyileştirdiği bildirilmiştir. Vajinada laktobasiller ile beraber maya bulunması durumunda bazı laktobasil suşları onun çoğalmasını engelleyebilir (147). Spanhaak ve ark. (157) tarafından 20 sağlıklı erkek üzerinde gerçekleştirilen plasebo kontrollü araştırmada *L.casei* Shirota'nın immün sistem üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışma grubuna sekiz hafta süresince kontrollü diyet uygulanmıştır. 3-6. haftalarda 10 erkeğe 100 ml fermente süt (litrede 1×10^{12} koloni oluşturan birim (CFU) *Lactobacillus casei*) verilmiş olup diğerlerine ise verilmemiştir. Uygulanan tedavinin

doğal öldürücü hücre aktivitesi, fagositoz ya da sitokin üretimine etkisinin olmadığı görüldü.

Gönüllü bireylerde lökositlerce *E.coli* fagositozunun araştırıldığı bir başka çalışmada ise *B.lactis* Bb12 içeren fermente süt ürünüyle üç hafta boyunca beslenenlerde fagositozun arttığı tespit edilmiştir (115).

Alerji: Yoğurt ve laktik asit bakterilerinin alerjik reaksiyonlar üzerindeki etkisi önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. Bilhassa atopik hastalıklara etkileri uzun süredir araştırılmaktadır (111). Probiyotikler lokal ya da sistemik alerjik inflamasyonda intestinal geçirgenliğin regülasyonunda ve barsak mikroekolojisinin tesisinde, barsak immünolojik bariyer fonksiyonunun regülasyonunda etkili olup intestinal inflamatuvar yanıtı azaltan proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunu azaltmaktadırlar (158). Lodinova ve ark. (159) yapmış oldukları çalışmada gebelere ve yenidoğan bebeklerine *L.rhamnosus* GG verildiğinde plasebo verilenlere oranla atopik egzemada %50'lik bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Kolon Kanseri: ABD'de kadın ve erkeklerde konulan kanser tanıları arasında kolon kanseri ikinci sıradadır (147) Hayvanlar üzerinde ve in-vitro çalışmalarda probiyotik bakterilerin olası mutajenik ve genotoksik etkileri önledikleri için kanser riskinde azalma sağladığı bildirilmiştir (115).

Güvenilirlik: Teorik açıdan immünitesi zayıflamış insanlarda enfeksiyona yol açma riski olsa da barsaklarda bulunan probiyotiklerin kullanımının güvenilir olduğu ifade edilmektedir. Kullanılan probiyotik preparat içerisindeki mikroorganizmaların güvenilirliği kanıtlanmış suşlar olup olmadığı dikkatli bir şekilde gözden geçirilmelidir (111).

2.9. Prebiyotik Mikroorganizmalar

Prebiyotik mikroorganizmalar kolondaki bir ya da daha fazla bakterinin üremesini ve/veya aktivitesini teşvik etmek suretiyle konakçıya yararlı olan, sindirilemeyen gıda içerikleridir (160). Prebiyotikler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi kolondaki faydalı mikroflora tarafından seçici olarak kullanılmakta iken toksin üretmekte olan *Clostridium*'lar, prebiyotik *Bacteroides*'ler ve toksijenik *E.coli* gibi mikroorganizmaların çoğalmasını engeller (121). Şu ana kadar tespit edilmiş olan

prebiyotikler sindirilemeyen karbonhidratlar olup aralarında inülin, laktuloz ve bir dizi oligosakkaritler bulunmaktadır. Bazı nişastalar da ince barsaklardan geçiş esnasında tam sindirimden kalın barsağa kaçıp barsak bakterileri tarafından kullanılabilir fermente edilebilir karbonhidrat kaynakları şeklinde ulaşabilirler (161).

Bir besin bileşiğinin prebiyotik özelliğe sahip olabilmesi için sindirime karşı dirençli olması, kolon mikroflora bakterilerince hidrolize edilmesi, bir ya da kısıtlı sayıda olmak üzere daha fazla bakterinin çoğalmasını ıyarması, konakçı sağlığını olumlu yönde etkilemesi gibi özelliklere sahip olması gerekir (111). Formül mamalarda anne sütündeki oligosakkaritlere benzeyen, laktobasil ve bifidobakterilerin üremesini uyaran spesifik galaktooligosakkaritlerin (GOS) ve fruktooligosakkaritlerin (FOS) prebiyotik karışımlar tanımlanmıştır. Bazı araştırmalar formül mamaların bu spesifik FOS ve GOS karışımları ile tanımlanması durumunda bifidobakteri ve laktobasil toplam sayısında artış olduğunu, patojen sayılarında azalma olduğunu ve emzirilen bebeklerdeki ile benzer bir profilde kısa zincirli yağ asidi profilinin teşvik edildiğini göstermiştir. (160).

Prebiyotik karışımlar aynı zamanda ağızdan beslenmeye karşı barsak toleransının artırılmasında da kullanılabilirler. Prematüre bebek mamalarına FOS ve GOS eklenmesi bifidobakterilerin çoğalmasını uyarmakta, yumuşak ve sık dışkılama sağlamaktadır (162). *Cichorium intybus* (Hindiba) ve enginar prebiyotik açısından zengin olan bitkilerdir. *C.intybus* %15-20 oranında inülin, %5-10 oranında oligofruktoz içerir. Besinlerin büyük kısmında inülin *C.intybus* kaynaklıdır veya sukrozdan sentezlenir. Oligofruktoz ise inülinin kısmen hidrolize edilmiş halidir (111).

Tablo 2. 3. Prebiyotik çeşitleri (161)

Sınıflama	Kaynağı/üretim şekli
<i>Disakkaritler</i>	
Laktuloz	Laktoz/sentetik
Laktitol	Laktoz/sentetik
<i>Oligosakkaritler</i>	
Fruktooligosakkaritler (FOS)	Baklagiller, sebzeler, tahıllar/ekstraksiyon, hidroliz
Soya oligosakkaritleri	Soya/ekstraksiyon, hidroliz
Galaktooligosakkaritler	Laktoz/sentetik
<i>Polisakkaritler</i>	
İnülin	Baklagiller, sebzeler, tahıllar/Ekstraksiyon
Dirençli nişasta	Baklagiller, sebzeler, tahıllar/Ekstraksiyon

2.9.1. Prebiyotiklerin Sağlığımız Üzerindeki Olumlu Etkileri

Deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen sonuçlar inülin, glukooligosakkarit, galaktaoligosakkarit ve oligofruktozun bilhassa kalsiyum ve magnezyum emilimini artırdığını göstermektedir. Oligofruktoz alımıyla beraber femur ve tibiada kemik yoğunluğunda artış gerçekleşir. Belirtilen bu sonuçlar insanlar için genellenirken dikkatli olmak gerekir. İnsanlarda prebiyotiklerik kalsiyum emiliminde yararlı olduğu gösterilmiş olmakla beraber demir, çinko ve magnezyum emilimindeki etkilerine ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiş olup bu durumun ortaya çıkmasında farklı türden, farklı doz ve sürelerde prebiyotik kullanımı ile farklı miktarlarda kalsiyum tüketilmesinin etkili olduğu ifade edilmektedir (111). İnülin ve oligofruktoz yüzyıllardır herhangi bir yan etki göstermeden besin bileşeni olarak kullanılmaktadır. Kalorileri düşük olup çocuklarda günlük en az 5 gram alınması önerilmektedir (111).

2.10. Sinbiyotikler

Barsak mikroflorasının yönetimindeki diğer bir yaklaşım da probiyotik ve prebiyotiklerin birlikte kullanıldığı sinbiyotiklerin kullanılmasıdır. Sinbiyotik kavramı probiyotiklerin in vitro ve in vivo deneylerde canlı kalabilme özelliklerinin geliştirilmesi ve hayvan modellerindeki mikrobiyal popülasyonların modüle edilmesi için ciddi şekilde incelenmiştir (163). Halihazırda sinerjistik etkiyi destekleyici bilimsel bir kanıt bulunmamakla beraber başlangıç aşamadaki çalışmalardan umut verici sonuçlar elde edilmiştir (137).

2.11. Lactobacillus Cinsine Ait Bakterilerin Özellikleri

Lactobacillus cinsine ait olan bakteriler Lactobacillaceae familyası üyeleri olup Laktik Asit Bakterileri (LAB) grubunda yer alırlar. Lactobacillus cinsine ait türler gram (+), katalaz (-), spor oluşturmayan, genellikle hareketsiz, fakültatif anaerob ya da mikroaerofilik mikroorganizmalardır. Büyük kısmı basil olup bazı türleri ise koko basildir (164-166).

Lactobacillus türleri gelişebilmek için aminoasit, peptid, nükleik asit türevi vitamin, tuz, yağ asidi ya da yağ asidi esterleriyle fermente edebilecek besinlere ihtiyaç duymaktadır (167). Aynı zamanda gelişebildikleri optimal sıcaklık 30-40°C'dir. Lactobacillus türleri

fermentasyon sonucunda laktik asit ürettiklerinden ortam pH'sını 3.2-3.5'e kadar düşürdükleri için aside karşı dayanıklıdırlar (168). Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde Lactobacillus türlerinin hücre duvarı, sitoplazmik membran, ribozomlar ve nükleer (kromozomlar ve plazmidler) elementler olmak üzere beş ana kısımdan oluştukları görülmüştür (169).

Hücre duvarı: Lactobacillus cinsine ait bakterilerde 20-40 nm kalınlığında, mineral maddeler, su ve metabolitleri geçirebilen peptidoglikan (mürein) bir tabaka bulunmaktadır. Peptidoglikan N-asetilglukozamin ve N-asetilmurminik asit monomerlerinden meydana gelir. Bu monomerlerin yanı sıra hücre duvarında teikoik asit, proteinler, şekerler ve nötr polisakkaritler de bulunmaktadır. Ribitol fosfat ya da gliserol fosfat polimerlerinden oluşan teikoik asit hücre duvarının negatif yükünden ve antijenik özelliğinden sorumludur. Bakteri hücre duvarı üreme ve azotlu maddelerin parçalanmasında görevli proteaz enzimlere sahiptirler (169). Probiyotiklerin en önemli özelliklerinden biri barsak adezyon yeteneğine sahip olmalarıdır ki bu yeteneğin hücre duvarındaki teikoik asit ve lektin benzer maddelerden kaynaklı olduğu belirtilmiştir (169).

Sitoplazmik membran: Laktobacillus cinsine ait bakterilerin proteinleri kullanabilecekleri büyüklüğe getirebilmeleri için gerekli enzimler sitoplazmik membranda bulunur. Bu reaksiyon ayrıca sitoplazmik membranda gerçekleştirilmektedir. Sitoplazmik membranda aynı zamanda fosfotransferaz enzimleri ile aktif taşıma da yapılır. Peptidoglikanların ekstrasellüler polimerizasyonu için gerekli olan enzimler de yine sitoplazmik membranda bulunur (169).

Ribozomlar: Laktik asit bakterileri 70S ribozoma sahiptirler. 70S ribozom büyük (50S) ve küçük (30S) olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır. 50S'lik büyük altbirim 5S rRNA ve 23S rRNA ile yaklaşık 35 protein, 30S'lik küçük alt birim de 16S rRNA ve 23S rRNA ile yaklaşık 21 protein içermektedir. Laktik asit bakterilerinin ayırımında 16S rRNA'nın özelliklerinden faydalanılmakta olup 16S rRNA'nın değişen ve değişmeyen kısımları bulunmaktadır. Değişen kısımlar yakın akrabalıkları, değişmeyen kısımlar da uzak akrabalıkları tespit etmede kullanılır (169).

Plazmid: LAB'ın büyük bölümünde en az bir tane plazmid bulunur. Plazmidler ekzopolisakkarit ve antimikrobiyal madde sentezi gibi koruma işlevi görmektedir (169).

LAB, glikozu laktik asit ya da bunun yanı sıra diğer ürünlere fermente etme özelliklerine göre homofermentatif ve heterofermentatif LAB şeklinde iki gruba ayrılır. Bu ayırım şekerlerin temel yıkım yollarındaki farklılıktan kaynaklıdır. Homofermentatif LAB, glukozu fruktoz difosfat (FDP) yoluyla parçalayıp fermentasyon sonucunda %99 oranında laktik asit, %1 oranında da diğer bileşikleri meydana getirirler (170-172).

Homofermantatif yol:



Heterofermentatif LAB, glikozu heksoz monofosfat (HMF) yoluyla parçalamak suretiyle %70 laktik asit, %30 oranında ise asetik asit, etil alkol ve karbondioksit gibi diğer bileşikleri oluştururlar (170-172).

Heterofermantatif yol:



Lactobacillus cinsine ait bakterilerce fermentasyon neticesinde üretilen laktik asitin fermente ürünleri koruyucu etki gösterdiğinden bu bakteriler gıda endüstrisinde oldukça uzun süredir kullanılmaktadır. Aynı zamanda bakteriosin ve diğer antimikrobiyal madde üretimleri ve genellikle güvenli olarak tanınan statüsünde yer aldıklarından doğal ve teknolojik uygulamalar ile üretilen ve bu bakterileri içeren gıda maddelerinin insan sağlığı üzerinde herhangi bir negative etkileri bulunmamaktadır (165).

2.11.1. Lactobacillus Türlerinin Ürettikleri Antimikrobiyal Maddeler

Daha önce de ifade edildiği üzere LAB insan sağlığı açısından yararlı olmaları ve fermentasyon yapabildikleri için uzun süredir gıdalarda güvenli şekilde kullanılmaktadır. Bu sebepten ötürü de gıda sanayinde oldukça önemlidirler. Bu bakteriler aynı zamanda gıdaların biyokontrolünde de önemlidirler. Patojenik bakterilerin büyük bölümü LAB tarafından son ürün olarak üretilmekte olan bazı maddelere karşı duyarlıdır. LAB'nin antagonistik etki mekanizmaları içinde son dönemlerde üzerinde en fazla durulan maddeler laktik asit, hidrojen peroksit ve bakteriosindir (173, 174).

2.11.1.1. Laktik asit

Laktik asit, LAB tarafından laktozun yıkılması neticesinde oluşan maddelerden birisidir. Kokusuz ve ekşi bir organik asittir. LAB'nin inhibisyon etkisinin genellikle laktik asitten kaynaklı olduğ söylenebilir (173).

Laktik asit, iki aşamalı reaksiyon neticesinde oluşmaktadır. İlk olarak laktoz LAB tarafından oluşturulan laktaz enzimi etkisiyle glikoz ve galaktoza parçalanır. Daha sonra ise glikoz laktik aside dönüşür (174).

Laktaz (β -Galaktosidaz)

Laktoz + H₂O Glikoz + Galaktoz

2C₆H₁₂O₆ 4CH₃CHOHCOOH

Laktik asit

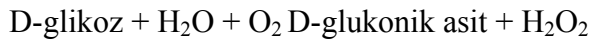
Bu değişim homofermentatif LAB'nin Embden-Meyerhof Parnas (EMP) tarafından belirtilen fruktoz 1,6 difosfat yolunu izleyerek glikoz molekülünü üç karbonlu pirüvata, daha sonra da laktik aside dönüştürmesi ile gerçekleşmektedir. Buna karşın ortamda heterofermentatif LAB var ise bu bakteriler glikoz yıkımını EMP yolu yerine fosfoketolaz glikotuk yolu kullanılmaktadır. Sonuç olarak laktik asit ile birlikte asetik asit, etil alkol ve karbondioksit gibi maddeler de açığa çıkmaktadır (174).

Laktozun fermentasyonu neticesinde D (-) ve L (+) laktik asit şeklinde iki laktik asit izomeri oluşur. L (+) laktik asit insanda daha hızlı ve kalıntı kalmayacak biçimde metabolize olurken D (-) laktik asit ise oldukça yavaş yıkıma uğramaktadır. Bu sebepten ötürü vücuda fazla miktarda D (-) laktik asit alınması istenen bir durum değildir. DSÖ ve FAO, günlük D (-) laktik asit alımının 60 mg/kg ile sınırlı olması gerektiğini bildirmişlerdir (174).

Laktik asit doğada son derece yaygın olan asitlerden birisi olup yaygın bir şekilde gıda koruyucusu olarak kullanılır. İnsanlar tarafından peynir, tereyağı, ekmek hamuru, bira, süt tozu içeren besinler, koyun, sığır ve kanatlı karkaslarında koruyucu madde olarak kullanılır (175).

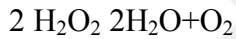
2.11.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Bazı laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal etkileri H₂O₂ üretimlerine dayandırılmaktadır. H₂O₂, LAB gibi katalaz (-) mikroorganizmalarca aerobic koşullarda üretilir. Ksantin oksidaz, glukoz oksidaz, askorbik asit, sülfidril oksidaz, pirüvat oksidaz, NADH oksidaz ve alfa gliserofosfat oksidaz ya da laktat oksidaz gibi enzimlerin varlığında meydana gelen reaksiyonlarda atmosferik oksijenin direkt olarak indirgenmesiyle meydana gelir (175, 176).



Hidrojen peroksit üretimi 5°C ve 7°C sıcaklıklarda en yüksek düzeye ulaşır. Bu durum laktik asit üretimiyle zıtlık gösterir (177). H₂O₂ termodinamik olarak kararsız bir bileşik olup katalaz varlığında ortama su ve oksijen verir.

Katalaz



2.11.1.3. Bakteriosin

Bazı laktik asit bakterilerince üretilen, protein ya da peptid yapıda, duyarlı hücrelerdeki reseptörlere bağlanabilme yeteneğine sahip antimikrobiyal maddelerdir. Üretimleri önemli ölçüde plazmid DANN tarafından kodlanmaktadır. LAB'nin bütün türlerinde bu metabolit üretimi son derece yaygındır (175).

2.12. Probiyotik Farmasötik Preparatlar

Günümüzde dondurarak kurutma yöntemi ile tablet ve kapsül gibi farmasötik preparatlar şeklinde de piyasada yer almaktadırlar (178). Buzdolabında muhafaza edilen probiyotik gıdaların raf ömrü 3-6 hafta arasında değişmektedir. Bu ürünler buzdolabında muhafaza edilmeyenlere göre daha stabildir. Kurutulmuş farmasötik preparatların raf ömrü 12 hafta olsa da, probiyotik mikroorganizma miktarı katılan bakteri düzeyine göre değişmekle birlikte, genellikle 12 ay içinde önemli oranda azalmaktadır (179). Bakterilerin ürettiği hidrojen peroksit ve asit, ürünün oksijen içeriği, paketin oksijen geçirgenliği, sıcaklık, pH gibi pek çok etken de fermente ürünlerde kullanılan probiyotik bakterilerin canlılığı üzerine etki etmektedir. Ortamın olumsuz

etkilerini azaltmak için probiyotiklerin çevresinde fiziksel bir bariyer yani mikroenkapsülasyon tekniği uygulanabilmekte ve böylece mikroorganizma olumsuz çevre şartlarından korunabilmektedir (180-182).

Tablo 2. 4. Probiyotik suşları içeren bazı ticari ürün örnekleri (122,183)

Suş	Marka adı	Üretici	Gıda ürünü
<i>Bifidobacterium lactis</i> DN 173 010	Activia	Danone/Dannon	Yoğurt
<i>Bifidobacterium breve</i> Yakult	Bifiene	Yakult	Probiyotik süt içeceği
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Yakult	Yakult	Probiyotik süt içeceği
<i>Enterococcus</i> LAB SF 68	Bioflorin	Cerbios-Pharma	Farmasötik preparat
<i>Lactobacillus casei</i> F19	Cultura	Arla Foods	Yoğurt
<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1, <i>Streptococcus thermophilus</i>	LC1	Nestlé	Probiyotik süt içeceği
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299 V	GoodBelly, ProViva	NextFoods Probi	Probiyotik meyve suyu içeceği
<i>Lactococcus lactis</i> L1A	Verum	Normejerier	Probiyotik süt içeceği
<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	Mutaflor	Ardeypharm	Farmasötik preparat
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (boulardii) Iyo	DiarSafe, Ultralevure ve diğerleri	Wren Laboratories, Biocodex	Farmasötik preparat
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14	FemDophilus	Chr. Hansen	Farmasötik preparat
<i>Streptococcus thermophilus</i> (1 tane), <i>Lactobacillus</i> spp. (4 tane) & <i>Bifidobacterium</i> spp. (3 tane)	VSL#3	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.	Farmasötik preparat
<i>Bacillus clausii</i> suşları O/C, NR, SIN, ve T	Enterogermina	Sanofi-Aventis	Farmasötik preparat

2.13. Anne Sütü Mikrobiyotası Üzerinde Etkili Olan Faktörler

Mikrobiyota transferi doğumdan sonra devam etmekte olup emzirme ve diğer beslenme rejimleriyle değiştirilir. Anne sütü doğumdan sonra mikrobiyota transferi için oldukça önemlidir. Anne sütünün steril olmadığı ve yenidoğanın immün sistemi gelişimi üzerinde etkili olduğuna yönelik kanıtlar söz konusudur (184). Yenidoğan gelişimindeki önemi tartışmasız olan anne sütüyle yenidoğan antikorlar, oligosakkaritler ve besleyicilerin yanı sıra mikrobiyotasının gelişimini etkileyecek mikroorganizmaları da almaktadır (185).

Anne sütüyle beslenme doğumdan sonra immatür olan barsak mukozal immün sisteminin gelişmesine, gıdalar ile alınan antijenlere ve bakteri kolonizasyonuna uygun yanıt oluşmasına katkıda bulunarak konak savunmasını geliştirebilir (186). Underwood ve ark. (187) tarafından yapılan çalışmada anne sütünün barsak mikrobiyotası açısından oligosakkaritler gibi yararlı faktörleri içerdiği, bu özelliğiyle de probiyotik olarak

Bifidobacterium ve Lactobacillus cinsine ait tütlerin çoğalmasını teşvik etmek suretiyle bebek barsak mikrobiyal kompozisyonunu seçici olarak değiştirdiği tespit edilmiştir. Buna karşılık formül mamayla beslenmenin mikrobiyota bakımından yüksek mikrobik çeşitlilik (188), fazla miktarda *C.difficile* (189) ile daha düşük düzeyde Bifidobakteriler ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (190).

Yapılan çalışmalarda aynı zamanda süt mikrobiyomunun da doğum şeklinden etkilenebildiği gösterilmiştir (191). Aynı zamanda emzirmekte olan anne sağlığı da süt mikrobiyomunu etkileyebilir. Obezite ve alerji gibi sorunları bulunan annelerin sütündeki Bifidobacterium düzeyinin sağlıklı annelere kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir (192). Annenin beslenme durumu, süt içindeki mikroorganizmaları ve immünomodülatör faktörleri (TGF-β2, sCD14 ve sitokinler) etkilemektedir (193).

Sezaryen ile doğum, hayatın ilk saatinde emzirmenin geç başlamasına ve hayatın ilk yılında da emzirmenin sürdürülmesinde azalmaya neden olabilir (194). Sezaryen doğum ile dünyaya gelen bebeklerin fizyolojik barsak mikrobiyotasının fizyolojik stimülatörü olan anne sütündeki Lactobacilli ve Bifidobacteria gibi bakterilerin erken alınamaması bebeğin barsak florasında daha düşük kolonizasyon düzeyine yol açabilir (195,196).

3. MATERYAL VE METOD

Ağustos 2019-Mart 2020 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Sosyal pediatri polikliniğine bölümüne başvuran, laktasyon döneminde, 18-45 yaş arası, tek, sağlıklı, tam süreli bir bebek doğurmuş olan, laktasyon periyodu 0-240 gün arasında olan ve çalışmaya katılmaya kabul etmiş ve rastgele seçilmiş olan kadınlar dahil edilmiştir.

Çalışma öncesinde Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik kurulundan 19.06.2020 tarih ve 2019/240 karar numarası ile etik kurul izni alınmış ve çalışma Helsinki Deklarasyonu'ndaki yönergelere göre yapılmıştır.

3.1. Araştırmanın Örneklemi

Sezeryan ve normal doğum yapan annelerin çocuklarında laktobasil görülme sıklıklarının ve türlerinin saptanması amacı ile yapılan prevelans çalışmasında %3'lük beklenen prevelansın %5 kesinlik ve %95 güven aralığında tahmin etmek için her grupta gerekli rastgele seçilen anne minimum sayısı 36 olarak belirlenmiştir.

Dışlanma Kriterleri

1. 15 gün'den önce herhangi bir nedenle antibiyotik almış kadınlar
2. Gebelik diyabeti, hipertansiyon, kalp hastalıkları, akut bulaşıcı hastalıklar ve doğum sonrası depresyonu olan kadınlar
3. Ayrıca meme başı veya lakeal bez hastalıkları olan kadınlar
4. Çalışmaya başlamadan önceki üç ay boyunca hormonal tedavi alan ya da çalışma anketlerini anlamada yetersiz becerisi olan emziren kadınlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmada sezeryan ve normal doğum yapan anneler olmak üzere iki grup oluşturuldu. Bu gruplara da laktasyon dönemine göre 3 farklı alt gruptan süt örneği alınmıştır.

I. Grup sezeryan ile doğum yapan kadınlar

1. Kolostrum; doğumdan sonraki 0-5. gün,
2. Erken süt; doğumdan sonraki 6-15. gün

3. Olgun süt: doğumdan sonraki >15-240. gün

II. Grup normal vajinal yolla doğum yapan kadınlar

1. Kolostrum; doğumdan sonraki 0-5. gün,

2. Erken süt; doğumdan sonraki 6-15. gün

3. Olgun süt: doğumdan sonraki >15-240. gün

3.2. Veri ve Örnek Toplaması

Numune alınmadan önce annelere standart numune alımı için sözlü talimatlar verilmiştir.

Demografik özelliklerin belirlenmesi

Annenin eğitim düzeyi, çalışma durumu, aile tipi, sigara/alkol kullanımı, çocuk sayısı, doğum şekli, doğumda alınan kilo, gebelikte emzirme eğitimi alıp, almadığı, mesleği, ailenin yaşadığı yer, aylık geliri, bebeğin cinsiyeti, doğum kilosu, doğum boyu, örnek alımı sırasında kilosu ve boyu, uyku düzeni, gastrointestinal şikayetleri (kolik, kusma), dışkılama sayısı düzenlenmiş olan bir anket formu ile sorgulanmıştır.

Meme başı ve çevresi steril serum fizyolojik ile ıslatılmış steril spançla silindikten ve kadının el aseptisi sağlandıktan sonra, ilk birkaç damla (0.5-1 mL) atılmış manuel olarak steril bir kaba 2-3 mL süt sağması istenmiştir.

Normal doğum yapan anne sütü numunesi seti (36 anneden toplanan 12 örnek/laktasyon aşaması), sezeryan doğum yapan anne sütü numunesi seti (36 anneden toplanan 12 örnek / laktasyon aşaması), aseptik protokolle toplanmıştır.

Tüm numuneler laboratuvarında -20°C 'de çalışma yapılana dek donmuş olarak tutulmuştur.

3.3. Real Time PCR`da Tür Tanımlama

1. Sarf Kontrolü

Kitin Teste Hazırlanması

Oasing Lyophilised or Precision PLUS 2X qPCR MastermiX

- Oasing Lyophilised or Precision PLUS 2X MastermiXin içerisine Oasing resuspension buffer dan 550 µl ilave edildi.
- Vortex ve spin yapıldı



Şekil 3. 1. Araştırmada kullanılan 2xqPCR master mix ve resuspension buffer

Hedef specific primer/probe mix

- Prob kitin içerisinde bulunan beyaz kapaklı RNase/DNase free water ile turuncu kapaklı primers/probe miXe 165 µl oranında RNase/DNase free water ilave edildi.
- Vortex ve spin yapıldı.

İnternal EXtraction Control Primer /probe mix

- Prob kitin içerisinde bulunan beyaz kapaklı RNase/DNase free water ile turuncu kapaklı İnternal eXtraction control primer/probe miXe 165 µl oranında su ilave edildi.
- Vortex ve spin yapıldı.

Pozitif Kontrol

- Pembe kapaklı (alışılan bakterilerin isimlerini yazmamız gerekiyor.)pozitif kontrolü sarı kapaklı Template preparation buffer ile 500 µl oranında likid hale getirildi.
- Vortex ve spin yapıldı.

2. Tarama Çalışması

1. DNA İzolasyonu

Real Time PCR'da sütten DNA elde edilir iken Qiagen Stool Fast Kit (Qiagen,Hilden) protokolü kullanılarak, DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Buna göre aşağıdaki protokol uygulandı.

1. 600 µL süt alındı ve 2 mL mikrosantrifüj tüpüne konuldu.
2. Üzerine 1 mL InhibitEX Buffer eklendi. İyice karıştırıldı. 70 °C'de 5 dakika inkübe edildi.
3. 10.000×g'de 1 dakika santrifüj yapıldı (üst faz çıkarılır ve tortular, steril bir pamuklu çubukla alınır). Üstteki fazdan 600 µL yeni bir 2 mL'lik tüpe alındı.
4. 50 µL proteinase K ve 10 µL internal kontrol 2 mL'lik tüpe eklendi.
5. 600 µL Buffer AL eklendi ve 15 sn vortekslendi.
6. 70 °C for 10 dakika inkübe edildi.
7. Herbir örneğin üzerine 600 µl %99.6 lık etanol eklendi. İyice homojenize edildi
8. QIAamp spin kolona 600 µl lizattan yüklendi. 10.000×g'de 1 dakika santrifüjlendi. Santrifuj sonrası alttaki kolon değiştirildi. Bu işlem lizat bitene kadar devam edildi.
9. 500 µL Buffer AW1 kolona eklendi ve 10.000×g'de 1 dakika santrifüjlendi. Santrifuj sonrası alttaki kolon değiştirildi.
10. 500 µL Buffer AW2 kolona eklendi ve 10.000×g'de 3 dakika santrifüjlendi. Santrifuj sonrası alttaki kolon değiştirildi.
11. Tüpler 10.000×g'de 3 dakika içlerinde herhangi bir solüsyon olmaksızın santrifüj yapıldı.
12. QIAamp spin kolonlar 1.5 mL'lik ependorf tüplere alındı. Tüpler örnek numarasına göre isimlendirildi. Kolonlara 50 µL Buffer ATE eklendi. 10.000×g'de 1 dakika santrifüjlendi.

13. 1.5 mL'lik tüplerde kalan elusyon içerisinde DNA izolasyonu tamamlandı.

DNA Konsantrasyon Ölçümü

DNA konsantrasyonu NanoDrop cihaz ı(Thermo, USA) ile ölçüldü. Herbir örnekten 2 µL alarak ölçüm yapıldı. Sonuçlar kaydedildi.

2. Realtime PCR

Amplifikasyonda kullanılan primer dizileri ();

Primer dizileri

Hedef bakteri	Primer Sequence (50 to 30)a	Hedef bölge	Ürün (bp)c
Tüm Lactobacillus 1198 –	IDL03R	CCACCTTCCTCCGGTTTGTC	1178–
Tüm Lactobacillus 1522 –	IDL04F	AGGGTGAAGTCGTAACAAGTAGCC	1499–
L. casei-groupd 727	IDL11F	TGGTCGGCAGAGTAACTGTTGTCG	472–495
L. acidophilus 2104 606	IDL22R	AACTATCGCTTACGCTACCACTTTGC	2079–
L. delbrueckii 1039 184	IDL31F	CTGTGCTACACCTAGAGATAGGTGG	1015–
L. gasseri 1770 272	IDL42R	ATTTCAAGTTGAGTCTCTCTCTC	1748–
L. reuteri 1105	IDL52F	ACCTGATTGACGATGGATCACCAGT	94–118
L. plantarum 1926 428	IDL62R	CTAGTGGTAACAGTTGATTAATAACTGC	1900–
L. rhamnosus 1946 448	IDL73Re	GCCAACAAGCTATGTGTTTCGCTTGC	1922–

Hedef Reaksiyon Hazırlama

- Herbir örnek için planlanan sayı kadar alttaki reaksiyonu Primer Design Genesig (UK) marka tür tanımla kitlerine göre; All *Lactobacillus*, *L. acidophilus*, *L.rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. gasseri*, *L. delbrueckii*, *L. casei* primer probe setlerine göre farklı master mikslere hazırlandı.
 - Oasing Lyophilised or Precision PLUS 2X qPCR Mastermix 10 µL
 - Hedef Specific primer/probe miX 1 µL
 - RNase/DNase free water 4 µL
- Kullanılacak DNA sayısı kadar hazırlanmış olan reaksiyonlara 5'er µL alttaki şekilde eklendi;

- Numune sayısı kadar numune DNA'sı,
 - Pozitif Kontrol,
 - PCR reaksiyonunun negatif kontrolü olması için RNase/DNase free water.
- Her parametre için reaksiyon yukarıdaki şekilde tekrar hazırlandı.

RT-PCR Aşamaları

Aşağıdaki protokole göre reaksiyon başlatıldı.

Tablo 3. 1. RT-PCR aşamaları

	Adım	Zaman °C	Sıcaklık
	Enzim aktivasyonu	2 dakika	95 °C
40 Döngü	Denatürasyon	5 saniye	95 °C
	Veri Toplama *	60 saniye	60 °C

* Süt DNA'sı için florojenik veriler FAM ve VIC kanalları boyunca bu aşamada toplanmalıdır.

- Real time PCR cihazı çalıştırıldı.
- Stant numarası ile karosel numaralarının aynı olmasına dikkat edildi.
- Hazırlanmış olan PCR ürünlerini cihaza yerleştirildi.
- Rotor gene (Qiagen, Germany) software açıldı.
- Software açıldıktan sonra karşımıza ilk olarak new run klasörü çıkar. Daha önceden programı yüklenmiş olan kite özgü uygun amplifikasyon protokolünü seçildi.
- Optimizasyona uygun olarak kurulan karoseli seçildi,
- Operatörün ismi yazıldı.
- Çalışmayı tarih ile birlikte masa üzerine kaydedildi.
- Cihazı çalışır konuma getirildi (Start Run butonuna basılır).
- PCR sıra numaralarını yazıldı, finish yazısına tıklandı.

Sonuçların Alınması

- Rotor-gene Q Series Software analiz sayfasını açıldı.
- Green kanalını seçildi.
- Threshold kısmına 0.03 değeri yazıldı.

- Green kanalında numunelerin çalışıp çalışmadığı kontrol edildi.
- Yellow kanalında ise internal kontrol DNA'nın prob/primerin çalışıp çalışmadığına bakıldı.
- Veriler Real Time PCR sonuç ekeline kaydedildi.



Şekil 3. 2. Rotor-gene Q Series Software analiz sayfasının görüntüsü

İstatistiksel yöntemler

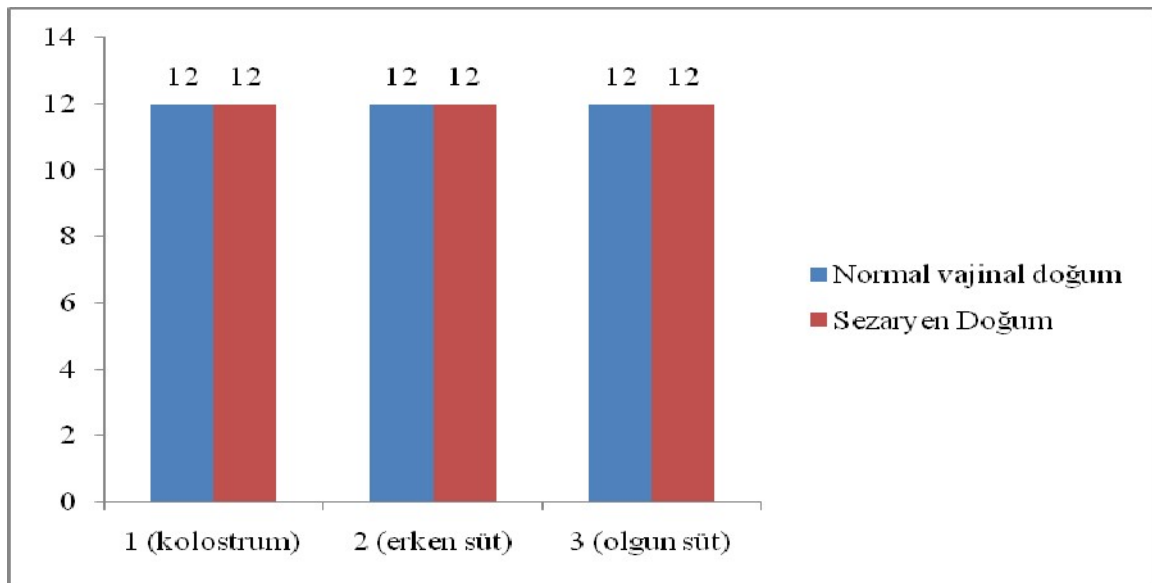
Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edilecektir. 2 bağımsız grupta sayısal verilerin karşılaştırılmasında Student t veya Mann Whitney u testleri kullanıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkilerin korelasyon analizi ile, kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler ise Ki-kare ile testi edilecektir. Analizlerde SPSS 22 windows versiyonu kullanılmış olup, P değerinin 0,05 den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmada oluşturulan 2 ana gruptan toplamda 72 hastadan örnek alınmıştır (Tablo 4.1)

Tablo 4. 1. Çalışma grubu

Alt gruplar	I. Grup (normal vajinal doğum)	II. Grup (sezeryan doğum)	Toplam
1 (kolostrum)	12	12	24
2 (erken süt)	12	12	24
3 (olgun süt)	12	12	24
Toplam	36	36	72



Şekil 4. 1. Doğum türüne göre süt türünün dağılımı

Çalışmaya dahi edilen kadınların demografik özellikleri Tablo 4.2 ve 4.3’de gösterilmiştir. Normal doğum yapan grupta yer alan ve kolostrum süte sahip olan kadınların yaş ortalaması 30.50 ± 2.23 , erken süte sahip kadınların yaş ortalaması 29.91 ± 3.62 , olgun süte sahip kadınların yaş ortalaması da 30.02 ± 3.60 olarak hesaplanmıştır. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip kadınların %83.3’ünün, erken süte sahip olanların %75’inin, olgun süte sahip olanların %66.7’sinin 2 ve daha fazla çocuğu vardı. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip olan kadınların %25’i, erken süte sahip olanların hiçbiri (%0), olgun süte sahip olanların %16.7’si sigara/alkol kullanıyordu. Normal doğum yapan kadınların tamamı ev hanımıydı. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip olan kadınların %41.7’si, erken süte sahip olanların %41.7’si, olgun süte sahip olanların %66.7’si geniş aile tipine sahipti. Normal doğum

yapıp kolostrum süte sahip olan kadınların %16.7'si, erken süte sahip olanların %33.3'ü, olgun süte sahip olanların da %16.7'si gebelikte emzirme eğitimi aldığını ifade etmiştir. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip olan kadınların %16.7'si, erken süte sahip kadınların %16.7'si, olgun süte sahip kadınların da %58.3'ü hamilelik döneminde 10 kg'dan daha az kilo aldığını ifade etmiştir. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip kadınların %58.3'ünün, erken süte sahip olanların %41.7'sinin, olgun süte sahip olanların %66.7'sinin bebeği kızdı. Normal doğum yapıp kolostrum ve erken süte sahip kadınların tamamının bebeğinin doğum kilosu normal iken olgun süte sahip olan kadınların %58.3'ünün bebeğinin doğum kilosu normal, %25'inin yüksek, %16.7'sinin ise düşüktü. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip kadınların %91.7'sinin, erken ve olgun süte sahip olan kadınların da %75'inin bebeğinin doğum boyu normaldi. Normal doğum yapıp kolostrum süte sahip kadınların %41.7'sinin, erken ve olgun süte sahip olanların ise %50'sinin bebeğinde kolik şikayeti vardı (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2. Grup I'de yer alan kadınların demografik özellikleri

	Kolostrum Süt	Erken Süt	Olgun Süt	Toplam
Yaş (Ort. ± ss)	30.50 ± 2.23	29.91 ± 3.62	29.66 ± 3.77	30.02 ± 3.60
Çocuk sayısı n(%)				
1 çocuk	2 (16.7)	3 (25.0)	4 (33.3)	9 (25.0)
2 ve daha fazla çocuk	10 (83.3)	9 (75.0)	8 (66.7)	27 (75.0)
Sigara veya alkol kullanımı n (%)				
Evet	3 (25.0)	0 (0.0)	2 (16.7)	5 (13.9)
Hayır	9 (75.0)	12 (100.0)	10 (83.3)	31 (86.1)
Annenin Çalışma Durumu n (%)				
Ev kadını	12 (100.0)	12 (100.0)	12 (100.0)	36 (100.0)
Çalışıyor	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Aile Tipi n (%)				
Geniş aile	5 (41.7)	5 (41.7)	8 (66.7)	18 (50.0)
Çekirdek aile	7 (58.3)	7 (58.3)	4 (33.3)	18 (50.0)
Gebelikte Emzirme Eğitimi n (%)				
Evet	2 (16.7)	4 (33.3)	2 (16.7)	8 (22.2)
Hayır	10 (83.3)	8 (66.7)	10 (83.3)	28 (77.8)
Hamilelikte Kilo Alımı n (%)				
<10 kg	2 (16.7)	2 (16.7)	7 (58.3)	11 (30.6)
10-15 kg	6 (50.0)	7 (58.3)	3 (25.0)	16 (44.4)
>15 kg	4 (33.3)	3 (25.0)	2 (16.7)	9 (25.0)
Bebeğin cinsiyeti n (%)				
Kız	7 (58.3)	5 (41.7)	8 (66.7)	20 (55.6)
Erkek	5 (41.7)	7 (58.3)	4 (33.3)	16 (44.4)
Bebeğin Doğum Kilosu n (%)				
Düşük	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (16.7)	2 (5.6)
Normal	12 (100.0)	12 (100.0)	7 (58.3)	31 (86.1)
Yüksek	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (25.0)	3 (8.3)
Bebeğin Doğum Boyu n (%)				
Düşük	0 (0.0)	3 (25.0)	2 (16.7)	5 (13.9)

Normal	11 (91.7)	9 (75.0)	9 (75.0)	29 (80.6)
Yüksek	1 (8.3)	0 (0.0)	1 (8.3)	2 (5.6)
Kolik Şikayeti n (%)				
Var	5 (41.7)	6 (50.0)	6 (50.0)	17 (47.2)
Yok	7 (58.3)	6 (50.0)	6 (50.0)	19 (52.8)
Toplam	12	12	12	36

Sezaryen doğum yapmış kolostrum süte sahip kadınların yaş ortalaması 31.00 ± 2.45 iken erken süte sahip olanların 31.16 ± 5.16 , olgun süte sahip olanların ise 30.75 ± 2.45 idi. Kolostrum sütüne sahip olanların kadınların %75'i, erken süte ve olgun süte sahip olanların %83.3'ü 2 ve daha fazla çocuğa sahipti. Kolostrum ve erken süte sahip olan annelerin hiçbiri sigara/alkol kullanmadığını, olgun süte sahip olan annelerden ise yalnızca 2'si (%5.6) sigara/alkol kullandığını ifade etmiştir. Kolostrum ve olgun süte sahip annelerin tamamı (%100) ev kadını iken erken süte sahip olanların 2'si (%16.7) bir işte çalıştığını ifade etmiştir. Kolostrum süte sahip olan annelerin %16.7'si, erken süte sahip olanların %50'si, olgun süte sahip olanların da %8.3'ü geniş aile tipine sahiptir. Kolostrum ve olgun süte sahip olan annelerin %16.7'si, erken süte sahip olanların %33.3'ü gebelikte emzirme eğitimi aldığını ifade etmiştir. Kolostrum süte sahip olan annelerin %16.7'si, erken süte sahip olanların %50'si, olgun süte sahip olanların %8.3'ü hamilelik döneminde 15 kg'dan fazla kilo almıştır. Kolostrum ve olgun süte sahip olan annelerin %50'sinin, erken süte sahip olanların %58.3'ünün kızdı. Kolostrum süte sahip annelerin %58.3'ünün, erken ve olgun süte sahip olanların %41.7'sinin bebeğinin doğum kilosu düşüktü. Kolostrum, erken ve olgun süte sahip olan annelerin %8.3'ünün bebeğinin doğum boyu düşüktü. Kolostrum süte sahip olan annelerin %41.7'sinin, erken süte sahip olanların %66.7'sinin, olgun süte sahip olanların da %83.3'ünün bebeğinde kolik şikayeti vardı (Tablo 4.3).

Tablo 4. 3. Grup II'de yer alan kadınların demografik özellikleri

	Kolostrum Süt	Erken Süt	Olgun Süt	Toplam
Yaş (Ort. \pm ss)	31.00 \pm 2.45	31.16 \pm 5.16	30.75 \pm 2.45	30.97 \pm 4.10
Çocuk sayısı n(%)				
1 çocuk	3 (25.0)	2 (16.7)	2 (16.7)	7 (19.4)
2 ve daha fazla çocuk	9 (75.0)	10 (83.3)	10 (83.3)	29 (80.6)
Sigara veya alkol kullanımı n (%)				
Evet	0	0	2 (16.7)	2 (5.6)
Hayır	12 (100.0)	12 (100.0)	10 (83.3)	34 (94.4)
Annenin Çalışma Durumu n (%)				
Ev kadını	12 (100.0)	10 (83.3)	12 (100.0)	34 (94.4)
Çalışıyor	0 (0.0)	2 (16.7)	0 (0.0)	2 (5.6)
Aile Tipi n (%)				
Geniş aile	2 (16.7)	6 (50.0)	1 (8.3)	9 (25.0)
Çekirdek aile	10 (83.3)	6 (50.0)	11 (91.7)	27 (75.0)
Gebelikte Emzirme Eğitimi n (%)				

Evet	2 (16.7)	4 (33.3)	2 (16.7)	8 (22.2)
Hayır	10 (83.3)	8 (66.7)	10 (83.3)	28 (77.8)
Hamilelikte Kilo Alımı n (%)				
<10 kg	3 (25.0)	2 (16.7)	6 (50.0)	11 (30.6)
10-15 kg	7 (58.3)	4 (33.3)	5 (41.7)	16 (44.4)
>15 kg	2 (16.7)	6 (50.0)	1 (8.3)	9 (25.0)
Bebeğin cinsiyeti n (%)				
Kız	6 (50.0)	7 (58.3)	6 (50.0)	19 (52.8)
Erkek	6 (50.0)	5 (41.7)	6 (50.0)	17 (47.2)
Bebeğin Doğum Kilosu n (%)				
Düşük	7 (58.3)	5 (41.7)	5 (41.7)	17 (47.2)
Normal	5 (41.7)	7 (58.3)	7 (58.3)	19 (52.8)
Yüksek	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Bebeğin Doğum Boyu n (%)				
Düşük	1 (8.3)	1 (8.3)	1 (8.3)	3 (8.3)
Normal	11 (91.7)	11 (91.7)	9 (75.0)	31 (86.1)
Yüksek	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (16.7)	2 (5.6)
Kolik Şikayeti n (%)				
Var	5 (41.7)	8 (66.7)	10 (83.3)	23 (63.9)
Yok	7 (58.3)	4 (33.3)	2 (16.7)	13 (36.1)
Toplam	12	12	12	36

Grup I ve II’de yer alan kadınların demografik özelliklerinin istatistiksel değerlendirilmesi Tablo 4.4’de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda yalnızca aile tipine göre Grup I ve Grup II arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (p = 0.028). Sezaryen doğum yapan annelerin çekirdek aile yapısına sahip olma oranı normal doğum yapanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.4).

Tablo 4. 4. Grup I ve II’nin demografik özelliklerinin karşılaştırılması

	Grup I	Grup II	p
Yaş (Ort. ± ss)	30.02 ± 3.60	30.97 ± 4.10	0.303
Çocuk sayısı n(%)			
1 çocuk	9 (25.0)	7 (19.4)	0.571
2 ve daha fazla çocuk	27 (75.0)	29 (80.6)	
Sigara veya alkol kullanımı n (%)			
Evet	5 (13.9)	2 (5.6)	0.233
Hayır	31 (86.1)	34 (84.4)	
Annenin Çalışma Durumu n (%)			
Ev kadını	36 (100.0)	34 (84.4)	0.151
Çalışıyor	0 (0.0)	2 (5.6)	
Aile Tipi n (%)			
Geniş aile	18 (50.0)	9 (25.0)	0.028*
Çekirdek aile	18 (50.0)	27 (75.0)	
Gebelikte Emzirme Eğitimi n (%)			
Evet	8 (22.2)	8 (22.2)	1.000
Hayır	28 (77.8)	28 (77.8)	
Hamilelikte Kilo Alımı n (%)			
<10 kg	11 (30.6)	11 (30.6)	1.000
10-15 kg	16 (44.4)	16 (44.4)	
>15 kg	9 (25.0)	9 (25.0)	
Bebeğin cinsiyeti n (%)			
Kız	20 (55.6)	19 (52.8)	0.813
Erkek	16 (44.4)	17 (47.2)	
Bebeğin Doğum Kilosu n (%)			
Düşük	2 (5.6)	0 (0.0)	0.068

Normal	31 (86.1)	36 (100.0)	
Yüksek	3 (8.3)	0 (0.0)	
Bebeğin Doğum Boyu n (%)			
Düşük	5 (13.9)	3 (8.3)	
Normal	29 (80.6)	31 (86.1)	0.753
Yüksek	2 (5.6)	3 (8.3)	
Kolik Şikayeti n (%)			
Var	17 (47.2)	23 (63.9)	
Yok	19 (52.8)	13 (36.1)	0.155

PCR'testi sonuçları Tablo 4.5'de gösterilmiştir. Çalışma kapsamında değerlendirilen tüm süt örneklerinde *Lactobacillus* türü saptanmıştır. PCR testi neticesinde 25 *Lactobacillus* spp, 21 *L.acidophilus*, 36 *L.rhamnosus* tespit edilmiştir.

Tablo 4. 5. Saptanan PCR sonuçları

Sonuç	Sayı (%)
<i>Lactobacillus</i> spp.	25 (30.5)
<i>L. casei-group</i>	0 (0.0)
<i>L. acidophilus</i>	21 (25.6)
<i>L. delbrueckii</i>	0 (0.0)
<i>L. gasseri</i>	0 (0.0)
<i>L. reuteri</i>	0 (0.0)
<i>L. plantarum</i>	0 (0.0)
<i>L. rhamnosus</i>	36 (43.9)
Toplam	82 (100.0)

Grup I ve II'de PCR saptanan sonuçları Tablo 6 ve 7'da verilmiştir.

Normal doğum yapan (Grup 1) kadınlardan alınan süt örneklerine ilişkin PCR sonuçları Tablo 4.6'da görülmektedir. Buna göre normal doğum yapan kadınlardan alınan süt örneklerinin 9'unda *Lactobacillus* spp saptanmış olup bunun 8'i (%88.9) kolostrum, 1'i (%11.1) de olgun sütte tespit edilmiştir. 20 süt örneğinde *L.acidophilus* saptanmış olup bunun 4'ü (%20) kolostrum, 12'si (%60) erken süt, 4'ü de (%20) olgun sütte tespit edilmiştir. 21 süt örneğinde *L.rhamnosus* saptanmış olup bunun 4'ü (%19.1) kolostrum, 10'u (%47.6) erken süt, 7'si de (%33.3) olgun sütte tespit edilmiştir.

Tablo 4. 6. Grup I’de saptanan PCR sonuçları

Sonuç	1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)	Toplam n (%)
<i>Lactobacillus</i> spp.	8 (88.9)	0 (0.0)	1 (11.1)	9 (100.0)
<i>L. casei-groupd</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. acidophilus</i>	4 (20.0)	12 (60.0)	4 (20.0)	20 (100.0)
<i>L. delbrueckii</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. gasseri</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. reuteri</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. plantarum</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. rhamnosus</i>	4 (19.1)	10 (47.6)	7 (33.3)	21 (100.0)
Toplam	16 (32.0)	22 (44.0)	12 (24.0)	50 (100.0)

Sezaryen doğum yapan (Grup II) kadınlardan alınan süt örneklerine ilişkin PCR sonuçları Tablo 4.7’de görülmektedir. Buna göre 16 *Lactobacillus* spp saptanmış olup bunun 10’u (%62.5) kolostrum, 5’i (%31.2) erken, 1’i de (%6.3) olgun sütte tespit edilmiştir. 1 adet *L.acidophilus* saptanmış olup bu da kolostrum sütte saptanmıştır. 15 adet *L.rhamnosus* saptanmış olup bunun 11’i (%73.3) erken sütte, 4’ü (%26.7) de olgun sütte tespit edilmiştir.

Tablo 4. 7. Grup II’de saptanan PCR sonuçları

Sonuç	1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)	Toplam n (%)
<i>Lactobacillus</i> spp.	10 (62.5)	1 (6.3)	5 (31.2)	16 (100.0)
<i>L. casei-groupd</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. acidophilus</i>	1(100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
<i>L. delbrueckii</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. gasseri</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. reuteri</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. plantarum</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>L. rhamnosus</i>	0 (0.0)	11 (73.3)	4 (26.7)	15 (100.0)
Toplam	11 (34.4)	12 (37.5)	9 (28.1)	32 (100.0)

Normal (Grup I) ve sezaryen (Grup II) doğum yapan kadınların PCR sonuçları arasında farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan istatistiksel analiz neticesinde Grup I’de *L.acidophilus* saptanma oranını Grup II’ye göre anlamlı şekilde yüksek olduğu ($p<.000$), diğer bakteri türleri açısından anlamlı fark olmadığı ($p>0.05$) görülmüştür (Tablo 4.8).

Tablo 4. 8. Grup I ve II’de’de saptanan PCR sonuçlarının karşılaştırılması

Sonuç	Grup I n (%)	Grup II n (%)	p
<i>Lactobacillus</i> spp.	9 (36.0)	16 (64.0)	0.083
<i>L. casei</i> -groupd	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
<i>L. acidophilus</i>	20 (95.3)	1 (4.7)	0.000
<i>L. delbrueckii</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
<i>L. gasseri</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
<i>L. reuteri</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
<i>L. plantarum</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000
<i>L. rhamnosus</i>	21 (58.3)	15 (41.7)	0.157

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda kültür-bağımlı yöntemler anne sütünün yenidoğan barsağındaki il kolonizasyonu etkileyerek kommensal, mutualistik ve probiyotik bakterilerin kaynağı olduğunu göstermektedir. Anne sütü özel yapıda, sindirimi kolay ve enfeksiyonlara karşı koruyu özellikle bir protein içeriğine sahiptir. Canlı ve biyolojik bir karışım olduğu bilinen anne sütü üzerinde son dönemlerde yapılan çalışmalar sonucunda mikrobiyal içeriğinin bireyler arasında hem tür hem de sayı açısından değişkenlik arz ettiğini göstermektedir. Anne sütü mikrobiyotasında çok sayıda farklı mikroorganizma bulunmaktadır (76,82). Bu mikroorganizma gruplarından birisi de *Lactobacillus* türleridir. Normal ve sezaryen doğum yapan annelerin olgun, geçiş ve kolostrum sütündeki *Lactobacillus* türlerinin tespit edilmesi amacıyla yapmış olduğumuz çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamında değerlendirilen tüm süt örneklerinde *Lactobacillus* türü saptanmıştır. PCR testi neticesinde 25 *Lactobacillus* spp, 21 *L.acidophilus*, 36 *L.rhamnosus* tespit edilmiştir.

Sezaryen doğum yapan (Grup II) kadınlardan alınan süt örneklerine ilişkin PCR sonuçları incelendiğinde 16 *Lactobacillus* spp saptanmış olup bunun 10'u (%62.5) kolostrum, 5'i (%31.2) erken, 1'i de (%6.3) olgun sütte tespit edilmiştir. 1 adet *L.acidophilus* saptanmış olup bu da kolostrum sütte saptanmıştır. 15 adet *L.rhamnosus* saptanmış olup bunun 11'i (%73.3) erken sütte, 4'ü (%26.7) de olgun sütte tespit edilmiştir. Normal doğum yapan kadınların 9'unun süt örneğinde *Lactobacillus* spp saptanmış olup bunun 8'i (%88.9) kolostrum, 1'i (%11.1) de olgun sütte tespit edilmiştir. 20 süt örneğinde *L.acidophilus* saptanmış olup bunun 4'ü (%20) kolostrum, 12'si (%60) erken süt, 4'ü de (%20) olgun sütte tespit edilmiştir. 21 süt örneğinde *L.rhamnosus* saptanmış olup bunun 4'ü (%19.1) kolostrum, 10'u (%47.6) erken süt, 7'si de (%33.3) olgun sütte tespit edilmiştir. Normal (Grup I) ve sezaryen (Grup II) doğum yapan kadınların PCR sonuçları arasında farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan istatistiksel analiz neticesinde Grup I'de *L.acidophilus* saptanma oranını Grup II'ye göre anlamlı şekilde yüksek olduğu ($p<.000$), diğer bakteri türleri açısından anlamlı fark olmadığı ($p>0.05$) görülmüştür. Konuyla ilgili yapılan çalışmalar

incelendiğinde benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Soto ve ark. (198) tarafından sağlıklı kadınların anne sütündeki laktobasil ve bifidobakteri popülasyonunun incelenmesi ve çeşitli faktörlerin (hamilelik ve emzirme döneminde antibiyoterapi, ülke ve doğum tarihi, doğum şekli veya bebek yaşı) etkilerini araştırmak amacıyla Almanya ve Avusturya'dan 160 sağlıklı kadın dahil edilerek yapılan çalışmada anne sütünde en sık bulunan üç *Lactobacillus* türünün sırasıyla *L.salivarius* (%35), *L.fermentum* (%25) ve *L.gasseri* (%21.88) olduğunu, bunun yanı sıra süt örneklerinin %11.88'inde *L.reuteri*, %10.63'ünde *L.plantarum*, %8.13'ünde *L.ramnosus* ve %4.38'inde de *L.casei* saptanmıştır. Çalışmada aynı zamanda *Lactobacillus* cinsine ait bakterilerin, ilk hafta boyunca, ikinci ila dördüncü haftadan veya emzirmenin ilk ayından sonra alınan numuneler arasında ilgili türlerine dağılımı konusunda fark bulunmadı. Sezaryen doğum yapan kadınların anne sütünde de laktobasil daha az tespit edildi, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (χ^2 testi, $P = 0.059$). Gebelik veya emzirme döneminde antibiyoterapi alan kadınlarda laktobasil pozitif örnek sayısı önemli ölçüde düşük bulundu. Collado ve arkadaşları (197), moleküler mikrobiyoloji tekniğiyle (quantitative real-time PCR) 50 anne sütü üzerinde yapmış oldukları çalışmada bütün örneklerde infant barsak mikrobiyotası için önemli bir kaynak teşkil eden Stafilocok, Streptokok, bifidobakteri ve Laktobasil DNA'larını saptamışlardır. Bu çalışmada örneklerin büyük bölümünde *Clostridium XIVa-XIVb* ve enterokokların olduğu da tespit edilmiştir. Urbaniak ve ark. (93) tarafından 33 anne sütü örneğiyle yapılan çalışmada *Pseudomonas*, Stafilocok, Streptokok, *Enterobacteriaceae* ve Laktobasil türlerinin anne sütünde en fazla rastlanan bakteriler olduğu, bakteri profilinin preterm ya da term doğumlarda sezaryen ve vajinal doğumlarda veya bebeğin cinsiyetine göre anlamlı şekilde değişmediği bildirilmiştir. Boix-Amoros ve ark. (94) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada laktasyon döneminde bulunan 21 anneden doğumdan sonraki ilk bir ay içerisinde elde edilen süt örnekleri incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda *Pseudomonas*, Stafilocok, Streptokok ve *Acinetobacter* türlerinin anne sütü mikrobiyotasının büyük bölümünü oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışmada aynı zamanda bakteri kompozisyonu ve sayısı bakımından anneler arasında büyük çeşitlilik olduğu, bazı durumlarda annenin farklı zamanlardaki sütünde değişiklikler olduğu saptanmıştır. Khodayar-Pardo ve ark. (95) yapmış oldukları çalışmada 96 süt örneğini kantitatif PCR tekniğiyle incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda bütün süt örneklerinde Streptokok, Laktobasil ve Enterokokların dominant gruplar olduğu görülmüştür. Aynı zamanda laktasyon süresince Enterokok,

bifidobakteri ve total bakteri miktarında artış olduğu tespit edilmiştir. Term bebek anne sütü örneklerinde bifidobakteri konsantrasyonunun laktasyonunun bütün aşamalarında prematüre bebeklerinkine oranlar yüksek olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada bifidobakteri düzeyinin vajinal doğumlarda sezaryen doğumlara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. LaTuga ve ark. (96) yapmış oldukları metaanaliz çalışmasında anne sütünde en yaygın olan bakteri gruplarının Stafilokok, Streptokok, Veillonelle, Gemella, Enterokok Clostridia, Bifido bakteri, Laktobasil, Propioni bakteri, Actinomyces, Corynebacterium, Pseudomonas, Sphingomonas, Serratia, Escherichia, Enterobakter, Ralstonia, Bradyrhizobium ve Prevotella olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları, laktobasillerin hamilelik veya emzirme döneminde antibiyotik almayan kadınların insan sütü mikrobiyotasının ortak üyeleri olduğunu doğrulamaktadır. Bu nedenle, bu tür bakterilerin varlığı, antibiyotiksiz sağlıklı bir insan sütü mikrobiyotasının bir belirteci olabilir ve anne sütü için bir kriter standardı tanımlanırken bu dikkate alınmalıdır. Sonuç olarak, seçilen insan sütü laktobasillerinin antibiyotik alan hamile veya emziren kadınlara veya bebeklerine uygulanması, anne sütünde bulunan doğal bakteri ekosistemini geri kazanmak için çekici bir yaklaşım oluşturabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Güney R ve Çınar N. Anne sütü ve mikrobiyota gelişimi. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 2017;1, 17-24.
2. Rautava S. Early microbial contact, the breast milk microbiome and child health. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 2016;7(1):5-14.
3. Aslan NN, Yardımcı H. Anne Sütü ve Mikrobiyota. *Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics*. 2017;3(2): 95-100.
4. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Frontiers in Immunology*. 2014;5.
5. Jeurink PV, Van Bergenhenegouwen J, Jimenez E, Knippels LMJ, Fernández L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*. 2012;4(1):17-30.
6. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*. 2013;69(1), 1-10.
7. Bergmann H, Rodríguez JM, Salminen S, Szajewska H. Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. *British Journal of Nutrition*. 2014;112(7),1119-1128.
8. Sherman PM, Johnson-Henry KC, Yeong HP, Ngo PSC, Goulet J and Tompkins TA. Probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7- and enteropathogenic *E. coli* O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements, *Infection and Immunity*, 2005;73,5183-5188.
9. Fernández L, Delgado S, Herrero H, Maldonado A and Rodríguez JM. The bacteriocin nisin, an effective agent for the treatment of staphylococcal mastitis during lactation, *Journal of Human Lactation*, 2008;24(3), 311-316.
10. Lim YM, Barnes MB, Gras SL, McSweeney C, Lockett T, Augustin MA and Gooley PR, Esterification of high amylose starch with short chain fatty acids modulates degradation by *Bifidobacterium* spp, *Journal of Functional Foods*, 2014;6,137-146.
11. Martin V, Maldonado-Barragan A, Moles L, Rodriguez-Banos M, Campo RD, Fernandez L, Rodriguez JM and Jimenez E. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces, *Journal of Human Lactation*, 2012;28(1),36-44.
12. Jacobi SK and Odle J. Nutritional factors influencing intestinal health of the neonate, *Advances in Nutritional*, 2012;3,687-696.
13. Urbaniak C, Burton JP and Reid G. Breast, milk and microbes: A complex relationship that does not end with lactation, *Womens Health (London, England)*, 2012;8(4), 385-398.

14. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UM, Beck DL, Abdo Z and McGuire MA. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk, *PloS one*, 2011;6(6),e21313. .
15. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, Fernández L and Rodríguez JM. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut, *Journal of Pediatrics*, 2003;143,754-758.
16. Martin R, Jimenez E, Olivares M, Fernández L, Xausb J and Rodríguez JM. *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother–child pair, *International Journal of Food Microbiology*, 2006;112(1),35-43.
17. Solis G, de Los Reyes-Gavilan CG, Fernandez N, Margolles A and Geuimonde M. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut, *Anaerobe*, 2010;16(3),307-310.
18. Arboleya S, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Solis G, Salminen S, De los Reyes Gavilan C. and Gueimonde M. Characterization and in vitro properties of potentially probiotic Bifidobacterium strains isolated from breast-milk, *International Journal of Food Microbiology*, 2011;149(1),28-36.
19. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Bjorkroth J, Schillinger U and Huis int Veld JH. Overview of gut flora and probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 1998;41(2), 85-100.
20. Osmanagaoglu O, Kiran F and Ataoglu H. Evaluation of in vitro probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* OZF isolated from human breast milk, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2010;2(3),162-174. August 2010.
21. Heikkila MP and Saris PEJ. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk, *Journal of Applied Microbiology*, 2003;95(3),471-478.
22. Guarner F and Malagelada, JR. Gut flora in health and disease, *The Lancet*, 2003;361(9356),512-519.
23. Stark PL and Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula fed infants during the first year of life, *Journal of Medical Microbiology*, 1982;15(2),189-203.
24. Soll RF. Probiotics: Are We Ready for Routine Use?, *Pediatrics*, 2010;125,1071.
25. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS and Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birth weight infants, *Archive of Diseases in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 1988;80(3), F167-F173.
26. Caplan MS and Jilling T. Neonatal necrotizing enterocolitis: possible role of probiotic supplementation, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2000;30(suppl 2),S18-S22.

27. Lara-Villoslada F, Olivares M, Sierra S, Rodríguez JM, Boza J and Xaus J. Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk,” *British Journal of Nutrition*, 2007;98(1),96-100.
28. Sharp JA, Modepalli V, Enjapoori AK, Bisana S, Abud HE, Lefevre C, and Nicholas KR. Bioactive functions of milk proteins: a comparative genomics approach. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2014;19:289-302.
29. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev* 2015;91:629-35
30. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and metaanalysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatr* 2014;14:216
31. Kader, M. A., Bahgat, R., Aziz, M. T., Hefnawi, F., Badraoui, M. H. H., Younis, N., & Hassib, F. Lactation patterns in Egyptian women. II. Chemical composition of milk during the first year of lactation. *J Biosoc Sci* 1972;4:403-9.
32. Bravi, F., Wiens, F., Decarli, A., Dal Pont, A., Agostoni, C., & Ferraroni, M. Impact of maternal nutrition on breast-milk composition: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2016;104:646-62
33. Mäkelä, J., Linderborg, K., Niinikoski, H., Yang, B., & Lagström, H. Breast milk fatty acid composition differs between overweight and normal weight women: the STEPS Study. *Eur J Nutr* 2013;52:727-35.
34. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am* 2013;60:49-74.
35. Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, and Franch À. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J Nutr* 2011;141:1181-7.
36. Gökçay G, Garibağaoğlu M. Sağlıklı çocuğun beslenmesi. Neyzi O, Ertuğrul T (Editörler). *Pediatrici*'de. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002: s.183–203.
37. Yurdakök K. Anne sütü ile beslenme. Yurdakök M, Erdem G (Editörler). *Neonatoloji*'de. Ankara: Alp Ofset; 2004: s.166–74.
38. Kabaran, S. Anne Sütünün İmmün Sistem ve Mikrobiyota Üzerine Etkisi. *Turkiye Klinikleri*, 2016;2(2), 7-11.
39. UNICEF Dünya Emzirme Haftası, Erişim: [http://www.unicef.org/turkey/pc/_mc36.html]
40. Reynolds A. Breastfeeding and brain development. *Pediatr Clin North Am* 2001; 48:159-71
41. Crawford, M. A., Golfetto, I., Ghebremeskel, K., Min, Y., Moodley, T., Poston, L., and Schmidt, W. The potential role for arachidonic and docosahexaenoic acids in protection against some central nervous system injuries in preterm infants. *Lipids*, 2003;38(4), 303-315

42. Schack-Nielsen L, Michaelsen KF. Breast feeding and future health. *Curr Opin Clin NutrMetab Care* 2006; 9:289–96.
43. South-Paul JE, Matheny SC, Lewis EL (Çeviri: A. Kut, İ. Tokalak, M.G. Eminsoy). Current aile hekimliği tanı ve tedavi. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2007:33–40
44. Kumar D, Goel NK, Mittal PC, Mısra P. Influence of infant feeding practices on nutritional status of underfive children. *Indian J Pediatr* 2006; 73:417–21
45. Goldman AS. The immune system of human milk: antimicrobial, antiinflammatory and immunomodulating properties. *Pediatr Infect Dis J.*, 1993;12:664-71
46. Chandra RK. Prospective Studies of The Effect of Breastfeeding and Incidence of Infection and allergy. *Acta Pediatr* 1999; 68: 692
47. Yurdakök M, Erdem G. Annelerde Başarılı Emzirme El Kitabı. Neonatoloji Derneği Yayınları, No 2. Ankara: Öztürk Matbaası, 1992
48. Köksal A. Anne sutu adezyon molekulu duzeylerinin gebelik Haftasına gore karşılaştırılması ve ilk 3 aylık Donemdeki değışimlerinin değerdendirilmesi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakultesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2010
49. Kanyshkova TYG, Babina SE, Semenov DV, Isaeva NY, Vlassov AV, Neustroev KN, and Nevinsky GA. Multiple enzymic activities of human milk lactoferrin. *European Journal of Biochemistry*, 2003;270(16), 3353-3361.
50. Spear HJ. Breastfeeding & support. *AWHONN Lifelines*. 2005; 9:181-3
51. Filteau SM. Role of breast-feeding in managing malnutrition and infectious disease. *Proc Nutr Soc* 2000;59:565-72
52. Frenette P S, Wagner DD. Adhesion molecules-part I. *N Engl J Med* 1996;334:1527-9
53. Holtfreter J. Significance of the cell membrane in embrionic processes. *Ann NY Acad Sci.*, 1948;49: 709-60
54. Malamitsi-Puchner A, Giannaki G, Sarandakou A, Xyni K, and Phocas I. Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) in Breast Milk 155. *Pediatric Research*, 1996; 40(3), 541-541.
55. Kelleher SL, Lonnerdal B. Immunological activities associated with milk. *Adv Nutr Res* 2001;10:39-65
56. Durmuş N. 0-2 yaş Arası Bebeklerin, Annelerinin Gebelik ve Perinatal Dönemlerinin, Sosyodemografik Özelliklerinin İlk Altı Ay Sadece Anne Sütü ile Beslenmeye Etkisi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile hekimliği, İstanbul 2012
57. DeLong EF, Pace NR. Environmental diversity of bacteria and archaea. *Syst Biol* 2001; 50: 470-478.

58. Xu Z, Knight R. Dietary effects on human gut microbiome diversity. *Br J Nutr* 2015; 113: 1–5.
59. Cénit MC, Matzaraki V, Tigchelaar EF, Zhernakova A. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1842: 1981-1992.
60. Kim BS, Jeon YS, Chun J. Current status and future promise of the human microbiome. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2013; 16: 71-79.
61. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* 2013; 69: 75-86.
62. Tuğ A, Hancı İH, Balseven A. İnsan genom projesi: Umut mu, kabus mu?. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi* 2002; 11: 56-57.
63. Yıldırım AE, Altun R. Obezite ve mikrobiyota. *Güncel Gastroenterol Derg* 2014; 18: 106-111.
64. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 6578-6583
65. Chow J, Lee SM, Shen Y, Khosravi A, Mazmanian SK. Host bacterial symbiosis in health and disease. *Adv Immunol* 2010; 107: 243–274.
66. Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota cross multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 11971-11975.
67. Wall, R., Ross, R. P., Ryan, C. A., Hussey, S., Murphy, B., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. Role of gut microbiota in early infant development. *Clin Med Pediatr* 2009; 3: 45–54.
68. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon, F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol* 2013; 21: 167-173.
69. Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, and Heath AC. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486: 222-227.
70. Rautava S. Early microbial contact, the breast milk microbiome and child health. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 2016;7(1):5-14.
71. Aslan NN, Yardımcı H. Anne Sütü ve Mikrobiyota. *Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics*. 2017;3(2): 95-100.
72. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Frontiers in Immunology*. 2014;5.

73. Ottman N, Smidt H, De Vos WM, Belzer C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do?. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012;2.
74. Çelebi GA, Uygun A. İntestinal mikrobiyota ve fekal transplantasyon. *Güncel Gastroenterol Derg*. 2013;17:148-157.
75. Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG. The infant microbiome development: mom matters. *Trends in Molecular Medicine*. 2015; 21(2):109-117
76. Gomez-Gallego C, Garcia-Mantrana I, Salminen S, Collado MC. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2016;21(6):400-405.
77. Patel RM, Denning PW. Intestinal microbiota and its relationship with necrotizing enterocolitis. *Pediatric Research*, 2015;78(3):232.
78. Isolauri E. Development of healthy gut microbiota early in life. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2012; 48(3):1-6.
79. Thum C, Cookson AL, Otter DE, McNabb WC, Hodgkinson AJ, Dyer J, Roy NC. Can nutritional modulation of maternal intestinal microbiota influence the development of the infant gastrointestinal tract?. *The Journal of Nutrition*. 2012;142(11):1921-1928.
80. Goldsmith F, O'Sullivan A, Smilowitz JT, Freeman SL. Lactation and intestinal microbiota: how early diet shapes the infant gut. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2015; 20(3-4):149-158.
81. Jeurink PV, Van Bergenhenegouwen J, Jimenez E, Knippels LMJ., Fernández L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*. 2012;4(1):17-30.
82. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*. 2013;69(1):1-10.
83. Bergmann H, Rodríguez JM, Salminen S, Szajewska H. Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. *British Journal of Nutrition*. 2014;112(7):1119-1128.
84. Rogier EW, Frantz AL, Bruno ME, Wedlund L, Cohen DA, Stromberg AJ, Kaetzel CS. Lessons from mother: long-term impact of antibodies in breast milk on the gut microbiota and intestinal immune system of breastfed offspring. *Gut Microbes*. 2014;5(5):663-668.
85. Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Chassard C. New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates. *PloS One*. 2012;7:e44595.
86. Guaraldi F, Guglielmo S. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2012;2:1-4.

87. Bode L, McGuire M, Rodriguez JM, Geddes DT, Hassiotou F, Hartmann PE, McGuire MK. It's alive: microbes and cells in human milk and their potential benefits to mother and infant. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2014;5(5):571-573.
88. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2012;96(3):544-551
89. Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., & Chassard, C. Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches. *British Journal of Nutrition*. 2013;110(7):1253-1262.
90. Ward TL, Hosid S, Ioshikhes I, Altosaar I. Human milk metagenome: a functional capacity analysis. *BMC Microbiology*. 2013;13(1):116.
91. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UM, Beck DL, Abdo Z, Fox LK., Williams JE, McGuire MK, McGuire MA. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *Plos One*. 2011;6(6):e21313.
92. Murphy K, Curley D, O'Callaghan TF, O'Shea CA, Dempsey EM, O'Toole PW, Ross RP, Ryan CA, Stanton C. The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: a pilot study. *Scientific Reports*. 2017;7:40597.
93. Urbaniak C, Angelini M, Gloor GB, Reid G. Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender. *Microbiome*. 2016;4(1):2-9.
94. Boix-Amorós A, Collado MC, Mira A. Relationship between milk microbiota, bacterial load, macronutrients, and human cells during lactation. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:492.
95. Khodayar-Pardo P, Mira-Pascual L, Collado MC, Martinez-Costa C. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *Journal of Perinatology*. 2014;34(8): 599.
96. LaTuga MS, Stuebe A, Seed PC. A review of the source and function of microbiota in breast milk. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2014;32(01):068-073.
97. Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L, Rodríguez-Baños M, Campo RD, Fernández L, Rodríguez JM, Jiménez E. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *Journal of Human Lactation*. 2012;28(1):36-44.
98. Schanche M, Avershina E, Dotterud C, Øien T, Storrø O, Johnsen R, Rudi K. High-resolution analyses of overlap in the microbiota between mothers and their children. *Current Microbiology*. 2015;71(2):283-290.
99. Martín R, Heilig GHJ, Zoetendal EG, Smidt H, Rodríguez JM. Diversity of the *Lactobacillus* group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *Journal of Applied Microbiology*. 2007;103(6):2638-2644.

100. Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T, Gabrielli O. Prebiotics in human milk: a review. *Digestive and Liver Disease*. 2006;38:291-294
101. Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation?. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2014;5(6):779-784
102. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, Fernández L, Rodríguez JM. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *The Journal of Pediatrics*, 2003;143(6):754-758.
103. Marcobal A, Sonnenburg JL. Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18(4):12-15.
104. De Leoz MLA, Kalanetra KM, Bokulich NA, Strum JS, Underwood MA, German JB, Mills DA, Lebrilla CB. Human milk glycomics and gut microbial genomics in infant feces show a correlation between human milk oligosaccharides and gut microbiota: a proof of concept study. *Journal of Proteome Research*. 2014;14(1):491-502.
105. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first prebiotics in humans: human milk oligosaccharides. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2004;38:80-83.
106. Castanys-Muñoz E, Martin MJ, Vazquez E. Building a beneficial microbiome from birth. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2016;7(2):323-330.
107. Kabaran, S. Anne Sütünün İmmün Sistem ve Mikrobiyota Üzerine Etkisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics*. 2016; 2(2):7-11.
108. Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A and Baker, C. C. The NIH human microbiome project. *Genome research*. 2009;19(12):2317-23.
109. Madan JC, Hoen AG, Lundgren SN, Farzan SF, Cottingham KL, Morrison HG, Karagas MR. Association of Cesarean Delivery and Formula Supplementation With the Intestinal Microbiome of 6-Week-Old Infants. *JAMA pediatrics*. 2016;170(3):212-9.
110. Laursen MF, Bahl MI, Michaelsen KF, Licht TR. First Foods and Gut Microbes. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:356.
111. Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2006;49:128-148
112. Kaleli İ. Probiyotiklerin Etki Mekanizması. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*. 2007;21 (Ek 2): 238- 242.
113. Çakır İ. 2003. Laktobacillus ve Bifidobakterilerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
114. Yağcı, RV. Probiyotik ve Prebiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji*. 2005;9(4): 223-225.

115. Gürsoy, O., Kınık, Ö. ve Gönen, İ. Probiyotikler ve Gastrointestinal Sağlığa Etkileri. *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi*. 2005;35: 136-148.
116. Pereira, I. A. D., McCartney, L.A. and Gibson, R.G. An in vitro study of the probiotic potential of a bile- salt-hydrolyzing lactobacillus fermentum strain, and determination of its cholesterol- lowering properties. *American Society for Microbiology*. 2003;(8): 4743-4752
117. Vural, T. ve Çelen, E. Gastrointestinal Sistemle Dost Mikroorganizmalar ve Probiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji*. 2005;9(3): 115-123.
118. İnanç, N., Şahin, H. ve Çiçek, B. Probiyotik ve Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*. 2005;27(3): 122-127.
119. Jones, J. P. Clinical Nutrition: 7. Functional foods- More than just nutrition. *Canadian Medical Association Journal*. 2002;166(12): 1555-1563.
120. Coşkun, T. Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2005;48: 69-84.
121. Yılmaz, M. Prebiyotik ve Probiyotikler. *Güncel Pediatri*. 2004;2: 142-145.
122. WGO. Probiotics and Prebiotics. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline, Milwaukee, USA, 2008.
123. Tannis A. How You Can Use Probiotics to Fight Cholesterol, Cancer, Suberbugs, Digestive Complaints and More. HarperCollins Publishers Ltd., Toronto, Ontario, Canada, 2008.
124. Uymaz, B. Probiyotikler ve Kullanım Alanları. *Pamukkale Üniv. Mühendislik Bilimleri Derg.*, 2010;16 (1): 95-104
125. Erem, F., Küçükçetin, A., Certel, M. Bacillus Türlerinin Probiyotik Olarak Değerlendirilmesi. *Gıda*, 2013;38 (4): 247-254.
126. Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S., Das, G. Benefaction of Probiotics for Human Health: A Review. *J. Food Drug Anal.*, 2018;26 (3): 927-939
127. Shenderov BA. Probiotic (Symbiotic) Bacterial Languages. *Anaerobe*, 2011;17(6): 490-495.
128. Yiğit T. Süt ve Süt Ürünlerinden Probiyotik Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2009.
129. Tomasik, PJ. and Tomasik P. Probiotics and prebiotics. *Cereal Chemistry*, 2003;80(2), 113-117.
130. Hemaiswary, S., Raja, R., Ravikumar, R., Carvalho, I.S Mechanism of Action of Probiotics. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 2013;56 (1): 113-119.

131. Tsiouris, C.G., Tsiouri, M.G. Human Microflora, Probiotics and Wound Healing. *Wound Med. J.*, 2017;19: 33-38.
132. Hossain, M.I., Sadekuzzaman, M., Ha, S.D. Probiotics As Potential Alternative Biocontrol Agents in The Agriculture And Food Industries: A Review. *Food Res. Int.*, 2017;100: 63-73.
133. Tok, E. ve Aslım, B. Probiyotik Olarak Kullanılan Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Kolesterol Asimilasyonu ve Safra Tuzları Dekonjugasyonundaki Rollerini. *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi*. 2007;37(1): 62-68
134. Turan, İ. ve İter T. Kafkas Dağlarından Günümüze: Kefir. *Güncel Gastroenteroloji*. 2007;11(2): 65-75.
135. Savaiano, A. D., AbouElAnouar, A. Smith, E. D. and Levitt, MD. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt sweet acidophilus milk and cultured milk in lactase deficient individuals. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1984;40: 1219-1223.
136. Zubillaga M, Weill R, Postaire E, Goldman C, Caro R, Boccio J. Effects of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutr Res* 2001;21(3): 569
137. Kutlu, T. İshalli Çocuğun Beslenmesi ve Oral Rehidratasyon Tedavisi. *Pediyatrik Aciller Sempozyumu*. 14-15 Haziran. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2001.
138. Eroğlu, C. Akut İshalli Hastaya Yaklaşım. *Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlara Pratik Yaklaşımlar Sempozyumu*. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2008.
139. Öztürk R. Akut İshal: Etiyoloji, Patogenez, Tanı ve Tedavi. *Türkiyede Sık Karşılaşılan Hastalıklar I Sempozyumu*. Ocak. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2007.
140. Guandalini, S., Pensabene, L., Zikri, M.A., Dias, J.A., Casali, L.G., Hoekstra, H., Kolacek, S., Massar, K., MeceticTurk, D., Papadopoulou, A., DeSousa, J.S., Sandhu, B., Szajewska, H. and Weizman, Z. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhoea: a multicenter European trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2000;30 (1): 54-60
141. Erdeve, Ö., Tıraş, Ü., Çamurdan, O., Tanyer, G. ve Dallar, Y. Çocuk Yaş Gruplarında Antibiyotiğe Bağlı İshallerde *Saccharomyces Boulardii*'nin Profilaktik Etkisi. *Türkiye Klinikleri J. Pediatr.* 2002;11(3): 121-125.
142. Ceylan, A., Arslan, Ş., Kırımı, E. ve Öner, F. A. Nekrotizan enterokolit: Patogenez, Tanı, Tedavi ve Yeni Görüşler. *Van Tıp Dergisi*. 1998;5(1): 188-193.
143. Çetinkaya, M. ve Köksal, N. Nekrotizan Enterokolit. *Güncel Pediyatri*. 2004;2: 146-151

144. Lin, H. C., Su, B.H., Chen, A. C., Lin, T. W., Tsai, C. H., Yeh, T. F. and Oh, W. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*, 2005;115 (1): 1-4.
145. Hoyos AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit. *Int J Infect Dis*. 1999;3(4): 197-202.
146. Oktay E. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları: Etyopatogenez, Semptomatoloji, Tanı ve Komplikasyonlar. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2001.
147. Özden, A. Yoğurt ve Sağlıklı Yaşam. *Güncel Gastroenteroloji*. 2007;11(3): 166-178
148. Guslandi, M., Giollo, P. and Testoni, PA. A pilot trial of *saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2003;15(6): 697-698.
149. Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A and Otani T. Randomized controlled trial of the effect of bifido bacteria- fermented milk on ulcerative colitis. *Journal of the American Collage of Nutrition*. 2003;22(1): 56-63.
150. Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A. and Otani T. Randomized controlled trial of the effect of bifido bacteria- fermented milk on ulcerative colitis. *Journal of the American Collage of Nutrition*. 2003;22(1): 56-63.
151. Güner A. Crohn Hastalığının Etiyolojisinde *Mycobacterium Paratuberculosis* (*Mycobacterium Avium* SBSP *Paratuberculosis*)'in Rolü ve Besinlerle Bulaşma Riski. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2004;13(1): 48-54
152. Guslandi M, Mezzi G, Sorghy M. and Testoni PA. *Sacchoromyces Boulardii* in maintenance treatment of crohn's disease. *Digestive Diseases and Sciences*. 2000;45(7): 1462-1464.
153. Oh Y, Osato H, Bennett G. and Hong WK. Folk Yoghurt kills *helicobacter pylori*. *Journal of Applied Microbiology*. 2002;93: 1083-1088
154. Felley C. and Michetti P. Probiotics and *Helicobacter pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenteroloji*. 2003;17(5):785-791.
155. Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M., Ohori H. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2002;32(2), 105–110.
156. Reid G, Jass J, Sebulsky MT. and McCormick JK. potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003;16(4): 658-672.
157. Spanhaak S, Havenaar R, Schaafsma G. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52 (12):1–9

158. Kırsaçlıoğlu CT ve Özden A. Besin Alerjileri. Güncel Gastroenteroloji. 2006;10(2): 148- 159.
159. Lodinová-Zádníková R, Cukrowska, B., & Tlaskalova-Hogenova, H. Oral administration of probiotic Escherichia coli after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 years). International Archives of Allergy and Immunology, 2003;131(3), 209-211.
160. Harman M. and Knol J. Quantitative real-time pcr analysis of fecal lactobacillus species in infants receiving a prebiotic infant formula. Applied and Environmental Microbiology. 2006;72(4): 2359-2365.
161. Crittenden R, Laitila A, Forssell P, Mattö J, Saarela M, Sandholm MT. and Myllarinen P. Adhesion of bifidobacteria to granular strach and its implications in probiotic technologies. Applied and Environmental Microbiology. 2001;67(8): 3469-3475
162. Coşkun T. Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2005;48: 69-84
163. Liong MT. and Shah NP. Optimization of cholestrol removal by probiotics in the presence prebiotics by using a response surface method. Applied and Environmental Microbiology. 2005;71(4): 1745-1753
164. Daeschel MA. Food Technol., 1989, 164-167.
165. Tunail N. Mikrobiyoloji, Pelin ofset, Ankara, 2009.
166. Tunail N, Koşker O. Süt Mikrobiyolojisi, A. U. Ziraat Fak., Ankara, 1989.
- 167 Yetişmeyen A. Süt Teknolojisi, A. U. Ziraat Fak., Ankara, 1995
168. Arda M. Genel Bakteriyoloji, A. U. Vet. Fak., Ankara, 1985
169. Sneath PHA, Nicholas SM, Elisabeth M, and Holt JG. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 2: Williams and Wilkins. New York, 1986.
170. Prescott CS, Dunn GC. Industrial Microbiology, Published on Distributors, Delhi, India, 1987.
171. Tekinşen OC, Atasever M. Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür, Selçuk Ü. Vet. Fak. Yayınları, Konya, 1994.
172. Halkman K. Tarım Mikrobiyolojisi, A.Ü. Ziraat Fak., Ankara, 1991
173. Çetin ET. Endüstriyel Mikrobiyoloji, İ. Tıp Fak. Yayınları, İstanbul, 1983.
174. Üçüncü M. Süt ve Mamulleri Teknolojisi, İzmir, 2005.
175. Çon AH, ve Gökalp, H. Y. Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki fiekilleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2000;30: 180-190

176. Evren M, Albayram C ve Apan M. Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antimikrobiyel maddeler. Türkiye, 2006;9, 24-26.
177. Dahiya RS, and Speck ML. Hydrogen peroxide formation by lactobacilli and its effect on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 1968;51(10), 1568-1572.
178. Probiyotik Tablet, Kapsül, Toz ve Sıvı Çeşitleri ve Farkları. *Suplementansiklopedisi.com*, <https://supplementansiklopedisi.com/probiyotik-tabletkapsultoz-sivi-cesitleri-farklari/>
179. Hoolihan LK. Prophylactic and Therapeutic Uses of Probiotics: A Review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2001;101(2): 229-241
180. Kıran F ve Osmanağaoğlu Ö. Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanımı. *Selçuk Üniv., Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Derg.*, 2012;26 (4): 60-67.
181. De Melo Pereira GV, Coelho BDO, Junior AIM, Thomaz-Soccol V, Soccol CR. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotech. Adv. J.*, 2018; 0734-9750.
182. Panghal A, Janghu, S, Virkar K, Gat Y, Kumar V, Chhikara N. Potential Non-Dairy Probiotic Products – A Healthy Approach. *Food Biosci.*, 2018;21: 80-89.
183. What is LCS. Yakult, <https://www.yakult.co.in/yakult-LCS.php>
184. Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, Segura- Roggero I, Schiffrin EJ, Donnet-Hughes A. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*. 2007; 119(3):e724-732.
185. Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LM, Fernández L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. Human milk: a source of more life than we imagine. *Benef Microbes*. 2013;4(1):17-30.
186. Goulet O. Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease. *Nutr Rev*. 2015;73 Suppl 1:32-40.
187. Underwood MA, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis*: champion colonizer of the infant gut. *Pediatr Res*. 2015; 77(1-2):229-35.
188. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R, Aguilera M, Khanna S, Gil A, Edwards CA, Doré J, Other Members of the INFABIO Team. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;51(1):77-84.
189. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*. 2011;17(6):478-82.
190. Penders J, Vink C, Driessen C, London N, Thijs C, Stobberingh EE. Quantification of *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* and *Clostridium difficile* in faecal

samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. *Fems Microbiol Lett.* 2005;243(1):141-7.

191. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012; 96:544-51.

192. Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Maternal weight and excessive weight gain during pregnancy modify the immunomodulatory potential of breast milk. *Pediatr Res* 2012;72:77-85.

193. Laitinen K, Collado MC, Isolauri E. Early nutritional environment: focus on health effects of microbiota and probiotics. *Benef Microbes* 2010;1:383-90

194. Bai DL, Wu KM, Tarrant M. Association between intrapartum interventions and breastfeeding duration. *J Midwifery Womens Health.* 2013;58(1):25-32.

195. Neu J, Rushing J. Cesarean versus vaginal delivery: long-term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clin Perinatol.* 2011;38(2):321-31.

196. Martin R, Langa S, Reviriego C, Jimenez E, Marin ML, Xaus J, Fernandez L, Rodriguez JM. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr.* 2003;143(6):754-8.

197. Collado MC, Delgado S, Maldonado A, and Rodríguez JM. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Letters in applied microbiology,* 2009;48(5), 523-528.

198. Soto A, Martín V, Jiménez E, Mader I, Rodríguez JM, and Fernández L. Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* 2014;59(1), 78

7. ÖZGEÇMİŞ

A. KİŞİSEL BİLGİLER

A.1.	Adı soyadı: Aya Daif
A.2.	Doğum tarihi ve yeri: Suriye 15 / 4 / 1985
A.3.	Yabancı dil bilgisi: Türkçe
A.4.	Görev yeri: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.
A.5.	İletişim bilgileri (e-posta adresi / telefon): ayakassas85@gmail.com

B. EĞİTİM BİLGİLERİ

B.1.	Mezun olduğu üniversite / fakülteyi lütfen belirtiniz: Halep Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
B.2.	Mezuniyet tarihini lütfen belirtiniz (yıl olarak): 2008
B.3.	Varsa, akademik ünvanları lütfen belirtiniz: ECZ.

C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

C.1.	Bugüne kadar çalıştığı kurum / kuruluşları lütfen belirtiniz: özel eczane 2008-2012
------	---

D. KLİNİK ARAŞTIRMALARLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER

D.1.	İyi Klinik Uygulamaları (İKU) ve klinik araştırma konularında eğitim alınmışsa lütfen tarihi ve alınan kurum / kuruluşun adı ile belirtiniz:
D.2.	Varsa, araştırmacı olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz:
D.3.	Varsa, izleyici (monitör) olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz:
D.4.	Varsa, saha görevlisi olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz:
D.5.	Varsa, araştırma eczacısı olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz:

E. ÖZGEÇMİŞ SAHİBİNİN İMZASI

E.2.	Özgeçmiş Sahibi
E.2.1.	El yazısıyla adı soyadı:
E.2.2.	Tarih (gün/ay/yıl olarak):
E.2.3.	İmza:

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

KARAR BİLGİSİ	Tutarlı ve bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.
	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	SORUMLU ARAŞTIRMACI
Prof. Dr. Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABİLİTASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Muradiye NACAĞ	TIBBİ FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜRÖLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMATOLOJİ ve ONKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Umut EL. BOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Serkan GÜRGÜL	BIYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DIŞ ve ÇENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Gönül KARATAŞ DURUSOY	GÖZ HASTALIKLARI	Gaziantep Dr. Ersin Arslan Eğ. Arş. Hast.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Emine Aybükten YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Hasan KICIKOĞLU	OKUL ÖNCESİ ÖĞRETMENİ	Gaziantep Anaokulu	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*: Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR