



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANNE SÜTÜ ALAN VE ALMAYAN BEBEKLERDE
***LACTOBACILLUS* SPP. BAKTERİLERİNİN**
ARAŞTIRILMASI VE BAZI PROBİYOTİK
KARAKTERLERİN BELİRLENMESİ

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

Tuğçe MUSLU ÇAĞAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR, 2022

T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

ANNE SÜTÜ ALAN VE ALMAYAN BEBEKLERDE
LACTOBACILLUS SPP. BAKTERİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE BAZI PROBİYOTİK
KARAKTERLERİN BELİRLENMESİ

Tuğçe MUSLU ÇAĞAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. ERGİN KARİPTAŞ
DR. ÖĞR. ÜYESİ ESİN KIRAY

KIRŞEHİR, 2022

KABUL VE ONAY

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı
Yükseklisans 18121212008 numaralı öğrencimiz Tuğçe MUSLU ÇAĞAL tarafından
hazırlanan ‘Anne Sütü Alan ve Almayan Bebeklerde Lactobacillus Spp. Bakterilerinin
Araştırılması ve Bazı Probiyotik Karakterlerin Belirlenmesi’ adlı tez çalışması 18.01.2022
tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Tıp Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi
kabul edilmiştir.

Başkan
Prof. Dr. Belgin ERDEM

Üye
Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Esin KIRAY

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Salih SARICAOĞLU

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek yazıldığını, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Tuğçe MUSLU ÇAĞAL



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamızın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesi her aşamasında bilgi, birikim, deneyimlerini benden esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ HOCAMA ve sayın danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Esin KIRAY'a içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca gaita örneklerinin toplanması aşamasında yardımları için Dr. Öğr. Üyesi Mahmut EKİCİ hocama ve Nihal İZER' e teşekkürü borç bilirim. Amasya Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın imkanlarından yararlanmamı sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL hocama teşekkürlerimi sunarım. Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi laboratuvarında yapmış olduğum çalışmaya yardımlarını esirgemeyen Kamuran KARTAL'a teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemde maddi ve manevi büyük emekleri olan babam Recep MUSLU'ya, annem Yeter MUSLU'ya ve desteklerinden ötürü kardeşim Ramazan MUSLU'ya ve eşim Mehmet ÇAĞAL'a teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Saygılarımla.

Tuğçe MUSLU ÇAĞAL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Mikrobiyota ve Yenidoğanda Mikrobiyal Çeşitliliğe Etki Eden Faktörler	1
1.2. Anne Sütünün Besin ve Mikrobiyal İçeriği	6
1.3. Anne Sütünün Gastrointestinal Sistem ve Hastalıklarla İlişkisi	14
2. MATERYAL VE METOD	18
2.1. MATERYAL	18
2.1.1. Gaita LAB Kültürlerinin Saklanması.....	19
2.1.1.1. Çözelti ve Malzemelerin Sterilizasyonu.....	19
3.2. METOD	20
3.2.1. Materyallerin Toplanması	20
3.2.2. Gaita LAB'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu	20
3.2.2.1. Gaita LAB'nin Kısmi Karakterizasyonu.....	20
3.2.2.2. Gaita LAB'nin Genotipik Karakterizasyonu.....	20
3.2.2.3. Gaita LAB'nin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi	21
3.2.2.3.1. Gaita LAB'nin Hemolitik Aktivite Testi.....	21
3.2.2.3.2. Gaita LAB'nin Asit ve Safra Toleransı	21
3.2.2.3.3. Gaita LAB'nin pH Değişimi Üzerine Etkisi.....	22
3.2.2.3.4. Gaita LAB'nin Laktik Asit Miktarlarının Belirlenmesi	22
3.2.2.3.5. Gaita LAB'nin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	23
3.2.2.3.6. Gaita LAB'nin Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antagonistik Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	23
3.2.2.3.7. Gaita LAB'nin Otoagregasyon ve Koagregasyon Özelliklerinin Belirlenmesi.....	23

3.2.2.3.8. Gaita LAB'nin Kolesterol Asimilasyon Kapasitelerinin Belirlenmesi	25
4. BULGULAR	Error! Bookmark not defined.
4.1. Gaita LAB'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu	26
4.2.1 Gaita LAB'nin Seçimi Yapılan Hastalar	26
4.2.2. Gaita LAB'nin Morfolojik Karakterizasyonu	27
4.2.3. Gaita LAB'nin Genotipik Karakterizasyonu	28
4.2.4. Gaita LAB'nin Hemolitik Aktivite Testi	29
4.2.5. Gaita LAB'nin Asit ve Safra Toleransı	30
4.2.6. Gaita LAB'nin Laktik Asit Miktarlarının Belirlenmesi	32
4.2.7. Gaita LAB'nin pH Değişimi Üzerine Etkisi	33
4.2.8. Gaita LAB'nin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	34
4.2.9. Gaita LAB'nin Otoagregasyon ve Koagregasyon Özelliklerinin Belirlenmesi	35
4.2.10. Gaita LAB'nin Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antagonistik Aktivitesinin Belirlenmesi	38
4.2.11. Gaita LAB Kolesterol Asimilasyon Kapasitelerinin Belirlenmesi	40
TARTIŞMA VE SONUÇ	43
KAYNAKLAR	55
7. EKLER	66
EK 1. BESİYERLERİNİN KİMYASAL BİLEŞİMLERİ	66
EK 2. HASTA BİLGİ FORMU	67

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar.....	3
Tablo 1. 2: Olgun anne sütü ve inek sütü bileşimleri (100 ml)	9
Tablo 1. 3: Bağırsak Mikrobiyotasının Taksonomik Sınıflandırma Örneği.....	13
Tablo 1. 4: Anne sütünde bulunan enfeksiyon önleyici faktörler ve etkiledikleri mikroorganizmalar.....	16
Tablo 2. 1: Çalışmada bakteri kültürleri, gelişme ortamları ve uygun gelişim sıcaklıkları	19
Tablo 4. 1: Gaita LAB ve probiyotik bakterilerin izole edildiği hastalara ait bazı bilgiler.	26
Tablo 4. 2: MALDI-TOF MS (Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspectrometry) yöntemine göre tanımlanan suşlar.	28
Tablo 4.3: Gaita LAB'nin Düşük PH Ortamındaki Canlı Kalma Oranları.....	30
Tablo 4.4: Gaita LAB'nin düşük safra Ortamındaki Canlı Kalma Oranları.....	31
Tablo 4. 6: Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin pH Değişimi	33
Tablo 4. 7: Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıkları.....	34
Tablo 4.8. Gaita LAB'nin % Otoagregasyon Değerleri.....	35
Tablo 4.9: Gaita LAB'nin % Koagregasyon Değerleri.....	37
Tablo 4. 10: Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antagonistik Aktivitesi (İnhibisyon zon çapı mm cinsinden belirtilmiştir).....	38
Tablo 4.11: Gaita LAB suşların kolesterol giderimleri	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4. 1: Gaita mikroflorasından izole edilen 3 farklı türün gram boyama görüntüleri; sırasıyla <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>	28
Şekil 4. 2: Kontrol suş olan <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213'un kolonilerinin etrafında oluşan berrak (β - hemolitik) zon ve T16 ismiyle kodlamış olduğumuz <i>Lactobacillus gasseri</i> suşunun kolonilerinin etrafında oluşan yeşil (α - hemolitik) zon.....	29
Şekil 4. 3: Gaita LAB antibiyotiklere karşı vermiş oldukları zonlar	35
Şekil 4.4: <i>L. rhamnosus</i> T2 suşunun sırasıyla 1., 2., 3. ve 4. Saatlerindeki otoagregasyonunun ışık mikroskobundaki görüntüleri.....	36
Şekil 4.5: <i>L. paracasei</i> T22 suşunun <i>C.albicans</i> ATCC 10231 patojeniyle yaptığı koagregasyonunun ışık mikroskobundaki görüntüleri.....	38
Şekil 4.6: Suşlardan bazılarının <i>C. albicans</i> ve <i>S.aureus</i> 6538 suşlarına verdikleri zonlar.	40
Şekil 4. 7: Suşların kolesterol yüzdeleri.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

GIS	:Gastrointestinal Sistem
PBS	:Phosphate-Buffered Saline
WHO	:Dünya Sağlık Organizasyonu
LAB	:Laktik asit bakterileri
log	:Logaritma
MALDI-TOF MS	:Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspectrometry)
SCFAs	:Short-chain fatty acids (Kısa zincirli yağ asitleri)
HMO	:İnsan Sütü Oligosakkaritleri
IgA	:İmmünoglobulin A
PNL	:Polimorf Nükleo Lenfositler
IM	:İntramuskuler
EPA	:Eikosa Pentaenoik Asit
ALA	:Alfa-Linolenik Asit
DHA	:Dokosa Heksaenoik Asit
cfu/ml	:Mililitredeki Koloni Oluşturan Birim
dk	:Dakika
L	:Litre
dL	:Desilitre
ml	:Mililitre
mm	:Milimetre
µm	:Mikrometre
g	:Gram
mg	:Miligram
µg	:Mikrogram
rpm	:Dakikada Devir Sayısı
pH	:Asitlik-Bazlık Birimi
°C	:Santigrat Derece

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANNE SÜTÜ ALAN VE ALMAYAN BEBEKLERDE *LACTOBACİLLUS SPP.* BAKTERİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI PROBİYOTİK KARAKTERLERİN BELİRLENMESİ

Tuğçe MUSLU ÇAĞAL

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Bu çalışmada; Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Pediatri Polikliniği'ne başvuran sağlıklı 0-4 aylık, son 3 ayda antibiyotik, probiyotik takviye almamış, herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan 45 bebekten alınan gaita örneklerinden izole edilmiş olan Laktik Asit Bakterileri (LAB) kullanılmıştır. Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) yöntemine göre tanımlanarak seçilen 21 adet izolattan 6 farklı tür elde edilmiştir. Çalışmamızda en sık görülen tür %59 oranında *Lactobacillus rhamnosus* suşu olurken bu suşu %13,6 oranıyla *Lactobacillus paracasei* takip etmektedir. Ardından %9 oranlarında *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus gasseri* ve %4,5 oranlarında *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus acidilactici* suşları gelmektedir. Suşların antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesinde vancomycin, tetracycline, gentamicin, netilmicin, tobramycin, penicilin, ampicilin, teicoplanin ve amikacin antibiyotikleri kullanılmıştır. Çalışmamızda bütün suşlar amikacin antibiyotiğine dirençliken, tetracycline, penicilin, gentamicin, netilmicin, teicoplanin, vancomycin, ampicilin ve tobramycin antibiyotiklerine duyarlı bulunmuştur. LAB'nin antagonistik aktivitelerinin değerlendirilmesinde 6 farklı patojen (*Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 6538, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111) kullanılmış olup çalışma sonucunda suşların bütün patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Suşların kolesterol asimilasyon yeteneklerinin değerlendirildiği çalışmada %39.1 oranında T21 ve T22 suşları en yüksek kolesterol asimilasyonu gerçekleştirmiştir. Sonuç olarak izole edilen suşların pek çoğunun probiyotik potansiyele sahip olduğu özellikle *L. gasseri* T21 ve *L. paracasei* T22 suşları tek başına veya diğer *Lactobacillus* suşları ile birlikte preparatların üretiminde kullanılabilecek probiyotik suşlar olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterileri, anne sütü, probiyotik, MALDI-TOF MS

Sayfa Adedi: 73

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Esin KIRAY



ABSTRACT

MASTER'S THESIS

LACTOBACILLUS SPP IN BABIES WITH AND WITHOUT BREAST MILK. INVESTIGATION OF BACTERIA AND DETERMINATION OF SOME PROBIOTIC CHARACTERS

Tuğçe MUSLU ÇAĞAL

Kırsehir Ahi Evran University

Health Sciency Institute

In this study; Lactic Acid Bacteria (LAB) isolated from stool samples of 45 healthy 0-4 month old babies who applied to Sivas Cumhuriyet University Practice and Research Hospital Pediatrics Polyclinic, did not take antibiotics or probiotic supplements in the last 3 months, and were not hospitalized for any health problems, were used. Six different species were obtained from 21 isolates selected by using Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) method. In our study, the most common species was *Lactobacillus rhamnosus* with a rate of 59%, followed by *L. paracasei* with a rate of 13,6%. Then, 9% of *L. reuteri*, *L. gasseri*, *E. faecalis*, *P. acidilactici* strains come with a rate of 4.5%. Antimicrobial activities of strains, especially vancomycin, tetracycline, gentamicin, netilmicin, tobramycin, penicillin, ampicillin, teicoplanin, amikacin antibiotics used in treatments were evaluated. While all strains were resistant to the antibiotic amikacin, the most susceptible antibiotics were tetracycline, penicillin, gentamicin, netilmicin, teicoplanin, vancomycin, ampicillin, tobramycin, respectively. In order to determine the antagonistic activities of LAB, 6 different pathogens (*E. coli* 25922, *S. aureus* 6538, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* 25923, *C. albicans* ATCC 10231, *L. monocytogenes* ATCC 19111) were used and the strains showed an inhibitory effect by giving zones in general. In the study evaluating the cholesterol assimilation abilities of the strains, T21 and T22 strains achieved the highest cholesterol assimilation rate of 39.1%. As a result, it is thought that most of the isolated strains have

probiotic potential, especially T21 *Lactobacillus gasseri* T21 and *Lactobacillus paracasei* T22 strains alone or together with other *Lactobacillus* strains can be used in the production of preparations.

Key Words: Lactic acid bacteria, breast milk, probiotic, MALDI-TOF MS

Number of Pages: 73

Thesis Advisor: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Esin KIRAY





1.GİRİŞ

1.1. Mikrobiyota ve Yenidoğanda Mikrobiyal Çeşitliliğe Etki Eden Faktörler

Geçen yüzyılın başlarında Pasteur Enstitüsü'nde çalışan Rus doğumlu Elie Metchnikoff 'Bağırsak mikroplarının gıdaya bağımlılığı vücudumuzdaki florayı değiştirmek ve zararlı mikroplarla değiştirmek için önlemler almayı mümkün kılar' önerisinde bulunmuştur.¹ Probiyotik ve prebiyotik içeren gıdalar ve özellikle fermente süt ürünlerinin tüketiminin Bulgar köylerinin sağlığı ve ömrü üzerinde olumlu etkisi olduğunu savunan Metchnikoff probiyotik kavramını öne sürmüştür.^{2,3} Nobel ödüllü (1908) Elie Metchnikoff; ünlü 'Yaşamın Uzaması' kitabında laktobasil içeren yoğurt tüketiminin bağırsakta toksin üreten bakterilerin azalmasıyla ve sonuçta konağın ömrünün uzamasıyla ilişkili olduğunu iddia etmiştir. Probiyotik mikroorganizmalar sadece kalın bağırsakta etkili değildir. İmmünolojik parametreleri, bağırsak geçirgenliğini ve bakteriyel translokasyonu modüle ederek biyoaktif ve başka düzenleyici metabolitler sağlayarak diğer organları da etkilemektedir.⁴

Aynı dönemde Henry Tissier ishalleri çocuk dışkılarında Y şeklinde bir morfoloji ile karakterize olan az sayıda bifidobakterilere rastlanmıştır. Bu bakterilerin sağlıklı çocuklarda bol miktarda olduğunu görmüştür.⁵ 1960'a kadar 'probiyotik' kelimesi kullanılsa bile Metchnikoff ve Tissier probiyotik bakterilerin kullanımına yönelik önerilerde bulunan kişilerdir.⁶ Fuller (1989), bağırsak dengesini geliştirerek konakçı hayvanı faydalı şekilde etkileyen canlı mikrobiyal gıda takviyesi olarak tanımlamıştır. Benzer bir tanım Havenaar ve Huis In't Veld (1992) tarafından yapılmıştır. 'Hayvana veya insana uygulandığında yerli özelliklerin iyileşmesini faydalı şekilde etkileyen canlı bir mono veya karışık bakteri kültürü' olarak tanımlanmıştır. Daha yeni ancak muhtemelen son tanım olmayan tanım ise yeterli miktarda tüketildiğinde konakçının sağlığı üzerine etkisi bulunan canlı mikroorganizmalardır.⁷ Probiyotikler 'pro' ve 'biota' kelimelerinden türemiştir. Yaşam için anlamına gelen probiyotik kelimesi antibiyotik kelimesiyle karşıt anlamlıdır.⁸

Probiyotikler; yeterli miktarları aktif bir durumda bağırsağa ulaşan ve böylece sağlığa olumlu etkiler ortaya koyan mikroorganizmalardır.⁹

Gastrointestinal sistem, mikroorganizmalar ve besinlerden gelen antijenlere karşı bir bariyer görevi görmektedir. Bağırsakta immüno fizyolojik regülasyon doğal mikrofloranın

kurulmasına bağlıdır. Probiyotiklerin olası mekanizmaları arasında artan bağırsak geçirgenliğinin ve değişen bağırsak mikrobiyotasının normalleştirilmesini içeren immünolojik olmayan bir bağırsak savunma bariyerinin geliştirilmesi yatar. Probiyotiklerin bir başka olası mekanizması; bağırsakta direk immünoglobulin A yanıtları, immünolojik bariyer oluşturulması, bağırsak stabilize edici bir etki üreten bağırsak enflamatuar yanıtları hafifletmesi sebebiyle tedavi edici mekanizması vardır. Proinflamatuar ve antienflamatuar sitokinlerin denge kontrolü yoluna birçok probiyotik etki aracılık eder. Bağırsak mukozal fonksiyon bozukluğunu normalleştirir ve aşırı duyarlılık fonksiyonlarını azaltarak düzenler.¹⁰

Etkili bir probiyotik ajan, konakçının sindirim sürecinde hayatta kalabilen, bağırsağı kolonize edebilen, konakçıda patojenik veya toksik yan etkiler olmadan faydalı yanıt üretebilen mikroorganizmalardır. Kolonizasyon, midenin asidik ortamı ve safranin duodenumdaki etkileri ile inhibe edilebilir.¹¹

İyi sağlanmış probiyotik etkiler şunlardır:

1. Rotavirüsün yol açtığı ya da laktoz intoleransı ya da antibiyotikle ilişkili ishal şikayetlerinin önlenmesi ve/veya şikayetlerin önlenmesi ve/veya azaltılması
2. Kanseri destekleyen enzimlerin ve/veya bağırsaktaki bozulmuş bakteriyel metabolitlerin konsantrasyonunun azaltılması
3. Sağlıklı insanlarda spesifik olmayan ve düzensiz şikayetlerin önlenmesi ve hafifletilmesi
4. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve/veya bakteriyel aşırı büyüme ile seyreden gastrointestinal sistem enflamatuar hastalıkları gibi mikrobiyal anormallikler, iltihaplanma ve diğer şikayetlerle ilgili faydalı etkiler
5. Kabızlık veya irritabl kolondan muzdarip kişilerde dışkı ve dışkı kıvamının normalleştirilmesi
6. Bebeklerde alerjilerin ve atopik hastalıkların önlenmesi veya hafifletilmesi
7. Solunum yolu enfeksiyonlarının (soğuk algınlığı, grip) ve diğer bulaşıcı hastalıkların yanı sıra ürogenital enfeksiyonların tedavisi⁴

Bir probiyotik aynı zamanda sağlıklı bağırsak florasına aynı zamanda sağlıklı bağırsak florasına adapte olabilmeli mevcut bağırsak bakterilerini değiştirmemelidir. Bağırsak yüzeyine yapışması, çoğalması ve antimikrobiyal maddeler üretmesi gerekmektedir. İdeal bir probiyotik mukozal ve sistemik bağışıklık tepkisini uyatarak konakçıya yarar sağlar.¹²

Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğu *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine aittir. Bununla birlikte bazı bakteriler ve bazı mayalar da probiyotik özelliklere sahip olabilir.

Tablo 1. 1: Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar.^{13,14}

<i>Lactobacilli</i> ^a	<i>Bifidobacteria</i>	Diğerleri
<i>L. acidophilus</i> -group	<i>B. longum</i> (BB536)	<i>Enterococcus faecalis</i> ^b
<i>L. acidophilus</i> (LA-5)	<i>B. longum</i> (SP 07/3)	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. crispatus</i> (<i>L. acidophilus</i> 'Gilliland')	<i>B. bifidum</i> (MF 20/5)	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. johnsonii</i> (LA1)	<i>B. infantis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. gasseri</i> (PA 16/8)	<i>B. animalis</i> (<i>B. animalis</i> ssp. <i>lactis</i> BB-12)	<i>Propionibacteria</i>
<i>L. casei</i> - group	<i>B. adolescentis</i>	<i>E. coli</i> ^c (<i>E. coli</i> "Nissle 1917")
<i>L. (para)casei</i> (<i>L. casei</i>) "shirota"	<i>B. breve</i>	<i>Sporolactobac. Inulinus</i> ^c
<i>L. casei</i> "defensis"		
<i>L. rhamnosus</i> (LGG)		<i>Spores of Bacillus cereus</i> "toyoi"
<i>L. reuteri</i>		<i>Saccharomyces boulardii</i> ^d
<i>L. plantarum</i> (299 and 299v)		

a Spesifik suşların ticari isimleri parantez içinde verilmiştir, b Esas olarak farmasötik preparatlarda kullanılır. c Esas olarak hayvancılıkta kullanılır. d *S. cerevisia* suşu olarak yeniden sınıflandırıldı.

Probiyotikler tüketilirken spesifik patolojik durumu önlemek veya tedavi etmek hedeflenir. İstenen etki benzer olsa da probiyotikler farklıdır. Probiyotikler, inülin ve oligosakkaritler gibi sindirilemeyen gıda bileşenleri olup yararlı bağırsak bakterilerinin uyarıcı gelişimini veya aktivitesini uyarır.

Probiyotik, ilk olarak 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından tanımlanmıştır. Kolondaki bir veya sınırlı sayıdaki bakterinin büyümesini ve aktivitesini seçici bir şekilde uyararak konakçıyı faydalı şekilde etkileyen sindirilemeyen gıda bileşeni olarak tanımlanmıştır.¹⁵ Tanımda sınırlı sayıda ifadesi için net sayı vermek mümkün değildir. İnsan bağırsağındaki 400'den fazla ekilebilir veya ekilemez bakteri suşları arasındaki seçici uyarımı test etmek de zordur.⁴ Bu nedenlerle tanım güncellenmiş ve probiyotik; konakçı sağlığını iyileştirmek için gastrointestinal mikrofloranın kompozisyonu ve/veya aktivitesinin spesifik değişikliklerine izin veren spesifik değişikliklerine izin veren fermente edilmiş bileşenlerdir. Bu tanıma göre probiyotik ve bifidogenik denge gereklidir. Bu index günlük tüketilen probiyotiklerin gram başına artırdığı bifidobakteri konsantrasyonu ile ilişkilidir.

Probiyotik karbonhidratlar, insan enzimleri tarafından sindirilemeyen ancak kalın bağırsak florası tarafından fermente edilen diyet lifleridir.^{16,17}

Probiyotik; kolondaki sınırlı sayıdaki bakteriden birinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici bir şekilde uyararak konakçı sağlığını iyileştiren sindirilemeyen gıda bileşenidir.

Prebiyotikler bazı gıda maddelerinde işlenmesi zor olabilen ancak ishalin önlenmesi ve immünomodülasyon açısından sağlığa yararları bilinen probiyotiklere alternatif olarak; şu anda kullanımda olan prebiyotikler özellikle inülin ve türevleri, galaktooligosakkaritler bitkilerden üretimi ucuz olduğundan; süt ürünlerine daha iyi organoleptik özellikler verme potansiyeli olan gıdalardaki değerli fonksiyonel bileşenlerdir.¹⁸

Prebiyotikler aşağıdaki kriterleri yerine getirebilmeli:

1. Sindirilemezlik
2. Gastrointestinal mikrobiyota tarafından fermentasyon
3. Bağırsak bakterilerinin aktivitesinin veya büyümesinin seçici olarak uyarılması^{16,17}

Bir prebiyotik; konakçının refahı ve sağlığı üzerine gastrointestinal sistem mikroflorasında bileşimi ve/veya aktivitesi spesifik değişikliklere izin veren seçici olarak fermente edilmiş bileşendir. Pro ve prebiyotiklerin sinerjistik kombinasyonlarına sinbiyotik denir.¹⁹

İnsan gastrointestinal sistemi 100 trilyondan fazla mikroorganizmayı barındırır.²⁰ Kolondaki bakteri hücrelerinin yoğunluğu ml başına 10^{11} - 10^{12} olduğu tahmin edilmekte bu da kolonu dünyada bilinen en yoğun nüfuslu mikrobiyal habitatlardan biri yapar.²¹

İnsan genomu 23000 genden oluşmasına rağmen bağırsak mikrobiyomu 3 milyondan fazla geni ve binlerce nükleotidi kodlar.²²

Kommensal bakteriler birçok besin ve safra asitleri, lipitler, amino asitler, vitaminler ve kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) dahil olmak üzere metabolitlerin ekstraksiyonunda, sentezinde ve emiliminde rol oynar. Bağırsak mikrobiyotası mevcut besin maddelerini tüketen ve/veya bakteriyosinler üreterek patojenik bakteri kolonizasyonunun büyümesini engelleyen önemli bir bağışıklık fonksiyonuna sahiptir.²³

Bağırsak mikrobiyotası bakteri, maya ve virüslerin çeşitli türlerini içerir. Baskın mikrobiyal filumlar *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*'dır. *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* bağırsak mikrobiyotasının %90'ını oluşturur. *Firmicutes* filumu *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Rumnicoccus*, gibi 200 farklı cinsten oluşur. *Firmicutes* filumunun %95'ini *Clostridium* cinsi bakteriler oluşturur. *Bacteroidetes* filumu *Bacterioides* ve *Prevotella* gibi baskın cinsleri içerir. *Actinobacteria* filumu ise orantılı olarak daha az miktarda bulunur ve bu filumda baskın bakteri cinsi *Bifidobacterium*'dur.²⁴

Yetişkin bağırsak mikroflorasının yaklaşık 500 farklı tür barındırdığı bilinmekle birlikte bu türlerin bazıları toksin üretimi, mukozal iltihabı veya karsinojenlerin aktivasyonu inflamatuvar yanıtlar sebebiyle potansiyel olarak zararlıdır. Bulaşıcı ve enflamatuvar koşullarda bağırsak mikro ekolojisinin dengesi potansiyel olarak patojen bakterilerin sayısı artacak şekilde değişir. Yerleşik bakteriler tarafından bağışıklık tepkisi oluşturulur. Probiyotikler, sağlıklı bağırsak mikroflorasında bulunan faydalı bakterilerdir. Bir suşun probiyotik olarak sınıflandırılması faydalı fizyolojik etkilerinin bilimsel olarak kanıtlanması, türün insan kaynaklı olması, insan kullanımı için güvenli olması, safrada stabil olması ve bağırsak mukozasına yapışmasıdır. Bu kriterleri karşılayan en sık kullanılan cinsler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'dur.¹⁹ *Bifidobacterium* miktarı artarsa dışkıdaki HMO miktarı azalır ve bu da asetat ve laktat konsantrasyonlarının yükselmesine ve Ph'ın düşmesine neden olur.²⁵

Bağırsak mikrobiyotasını etkileyen en temel olaylardan birisi de anne sütüyle beslenmedir.²⁶ Bunlara ek olarak tüm doğumların %5-18'ini oluşturan preterm bebeklerde mikrobiyota, patojen yükü fazla olan yenidoğan yoğun bakım ünitesinde zararlı etmenlere maruz kalma, uzamış gastrointestinal geçiş zamanı, gestasyonel yaş, doğum kilosu, parenteral beslenme, gecikmiş enteral beslenme, gecikmiş anne sütüne maruziyet ve anne sütü mikrobiyomuna maruz kalmama gibi faktörlerden ötürü term bebeklerden mikrobiyotasından farklıdır.²⁷⁻²⁹

Gastrointestinal sistem mikrobiyotasında en baskın faktörler vajinal doğum veya sezaryen ve anne sütü ile beslenmedir. Sezaryen doğumla doğan bebeklerde mikrobiyota *Bacteroides fragilis* gibi anaerob bakteriler ve bifidobakteri türleri 100 kat daha düşükken; *Clostridium difficile* ve *E. coli* genellikle 100 kat daha yüksektir.³⁰ Sezaryen doğan bebeklerin vajinal yolla doğan bebeklerde bulunan bakterilere sayıca erişmesi bir ay kadar sürebilir.³¹

Annenin vajinal ve fekal mikrobiyotası, bebeğin dış çevreyle temasından önce bebeğe doğal aşı görevi yapmaktadır. Anne bağırsak ve vajinasındaki mikrobiyal topluluklar birbirinden bağımsız değildir. 35-37. haftadaki gebelerde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* bakteri türlerinin rektum ve vajina arasında paylaşıldığı gösterilmiştir.³²

Doğum şekli özellikle *Bacteroides* açısından önem taşımakta olup vajinal yolla doğum ve maternal dışkı ile temas etmenin bebeğin bağırsak mikrobiyotaları üzerine güçlü etkisi bulunmaktadır. Evde vajinal yolla doğmuş ve anne sütüyle beslenen yenidoğanlarda en fazla miktarda bifidobakteri ve *C. difficile* ve *E. coli* sayıları doğum şekliyle ilişkilidir. Hastanede

doğum ve prematürenin *C. difficile* ile; daha büyük kardeşleri olan yüksek konsantrasyonda bifidobakterilerle pozitif ilişkisi olduğu görülmüştür.³⁰

Liu ve ark. (2015), vajinal ve sezaryen doğan bebeklerin mikrobiyotasını karşılaştırdıkları çalışmada doğumdan sonraki 2-4. Günlerde bakteriyel çeşitlilik açısından fark olmamasına karşın vajinal yolla doğan bebeklerde *E. coli*, *Bacteroides spp*, *B. longum* baskın türlerken; sezaryen yolla doğan bebeklerde *Staphylococcus spp*, *Clostridium spp*, *Enterobacter spp* ve *Streptococcus spp*'in daha baskın olarak bulunmuştur.³³ Anne ve bebeklerin feçeslerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada vajinal yolla doğan bebeklerde sezaryenle doğan bebeklerden farklı olarak annenin doğum öncesi feçeslerinde bulunan bifidobakterilere rastlanmıştır.³⁴

1.2. Anne Sütünün Besin ve Mikrobiyal İçeriği

Uluslararası Gıda Politikaları Araştırma Enstitüsünün 2014 yılı Dünya Beslenme Raporu'na göre dünyadaki 0-6 aylık bebeklerin %41'i sadece anne sütüyle beslenmektedir.³⁵

Anne bebek ilişkisinin erken kurulabilmesi, annenin kendini daha iyi hissetmesi, bebeğin anestezi almamış olmaması sebebiyle normal vajinal doğum anne sütü alımını olumlu etkilemektedir.³⁶

Anne sütünün içeriği bebeğin metabolik ve beslenme gereksinimlerine en iyi şekilde uyum sağlamak için tüm laktasyon dönemi boyunca sürekli olarak içeriği değişir. Anne sütü; kolostrum, geçiş sütü ve olgun süt olarak sınıflandırılır.³⁷

İlk birkaç gün yenidoğan bebekler tarafından tüketilen ve kolostrum olarak adlandırılan anne sütü antienfektif besin öğeleri yönünden zengin olup steril olan ortamdan steril olmayan ortama geçiş yapan çocuğun ilk aşısı olarak hastalık ve ölüme karşı koruma sağlar.^{38,39} Kolostruma sarı rengini veren içerdiği yüksek orandaki beta karotendendir.⁴⁰

Kolostrum olgun süte kıyasla daha fazla sodyum, klor ve magnezyum; daha düşük miktarda potasyum ve kalsiyum içerir. Kolostrumda bulunan koruyucu antienfektif içerik; lenfositler, makrofajlar, komplemanlar, laktoferrin, laktoperoksidaz, lizozim, antikorlardır.⁴¹ Kolostrum; enfeksiyon ve alerjiden koruyan antikorlar, akyuvarlar, 20-30 g/l sekretuvar IgA (olgun sütte 0,3 g/l), 3,54 mg/l laktoferrin (olgun sütte 1,7 mg/ml), olgun sütün 50 katı kadar polimorf nükleo lenfositler (PNL), makrofajlar, T ve B lenfositleri, olgun süttten daha fazla oranda protein (%3-3,5 g), yüksek düzeyde arginin, triptofan, A, D, ve B12 vitaminleri içerir.

Mekonyumu temizleyerek sarılığın önlenmesine yardımcıdır.⁴² *Bifidobacteriler* ve *Lactobacilluslar* fakültatif anaerob, laktik asit, bütirat gibi kısa zincirli yağ asidi üretebilmesi nedeniyle *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter* gibi bağırsaktaki fırsatçı patojenlerden ayrılır. Ayrıca *Lactobacillus* türleri gaita nemini, sıklığını ve hacmini artırmaktadır.⁴³ Yağ ve laktoz içeriği ise olgun süte kıyasla daha düşüktür.³⁹ Bebek tarafından sindirilemeyen ve kalın bağırsaklara ulaşana kadar büyük oranda bozulmadan kalan oligosakkarit miktarı kolostrumda 20-23 g/l, olgun sütte 12-13 g/l'dir.⁴² Oligosakkaritler insan sütünde bol miktarda bulunmakla birlikte bebeğe doğrudan besin değeri sunmaz birinci işlevi şekillendirmektir. *Bifidobacterium longum subspecies infantis* (*B. infantis*), diğer bakteri türlerinde bulunmayan bir dizi glikozidaz ve oligosakkarit taşıyıcı kodlayan bakteri genleri sonucu insan sütü oligosakkarit yapısını sindirir. *B. infantis* oligosakkaritlerin varlığında daha fazla gelişme göstererek bağırsak hücrelerinde anti inflamatuvar etki göstererek bağırsak geçirgenliğini azaltır.⁴⁴

Geçiş sütü kolostrumdan sonra üretilir ve yaklaşık iki hafta sürer. Kolostrumdan daha yüksek düzeyde yağ, laktoz ve suda çözünen vitaminler ve kaloriye sahiptir.⁴⁵

Anne sütü inek sütünden daha az protein içermesine karşın whey proteini ve alfa laktalbumin oranı yüksek olduğundan yenidoğanda yeterli triptofan ve aminoasit miktarı sağlayarak ideal protein yapısının oluşmasını sağlar. Yüksek miktarda bulunan kolesterol lipolitik enzim sistemlerinin gelişimine yardımcı olarak yenidoğanı gelecek yaşlarda ateroskleroz riskini artıran lipidlerin oluşumunu önleyebilir. Uzun zincirli yağ asitleri beyin ve göz gelişimine yardımcıdır. Laktoz, kalsiyum emilimini artırır, bağırsakta patojen mikroorganizmaların oluşumunu inhibe etmeye yardımcıdır. Preterm bebeklerde anne sütünün protein, yağ, sodyum içeriği ilk haftalarda daha yüksektir. Kolostrum laksatif etki göstererek mekonyum çıkışının kolaylaştırmaya yardımcıdır. Anne sütünün mikrobesein içeriği özellikle A, B2, B2, B6, B12, D vitaminleri, iyot minerali annenin beslenmesi ve depolarına göre değişkenlik gösterdiğinden multivitamin desteği gerekebilmektedir. Bunların dışında beslenmeden bağımsız olarak K vitamini miktarı düşük olduğundan IM yapılması gereklidir. K vitamini dışında yetersiz miktarda bulunan D vitamini için de destek önerilmektedir. Anne sütünün demir içeriği inek sütüne göre düşük olmasına rağmen emilimi çok daha yüksektir.⁴⁶

Anne sütü, inek sütüyle karşılaştırıldığında daha fazla yağ, laktoz ve 3'de bir oranında daha az protein içerir. Keçi sütüyle kıyaslandığında ise daha az yağ, protein ve daha fazla laktoz içerir. İnek sütünde kazein/whey oranı 80/20, olgun sütte ise ortalama 40/60'dır yani anne

sütü daha fazla oranda whey proteinleri barındırır. Whey proteinlerinin yapısında laktoz sentetaz enziminin yapısına girerek glikozun UDP- galaktoza bağlanmasını katalizleyerek meme bezlerinde laktoz sentezlenmesini sağlayan α -laktalbumin; antienfektif laktoferrin, lizozim, immünoglobulinler ve serum albümini vardır. İnek sütü ise alerjik özelliklere sahip β -laktoglobulin içerirken anne sütünde β -laktoglobulin bulunmaz; inek sütü ester bağlı fosfat, yüksek oranda prolin ve düşük oranda sistein içeren çözünürlüğü düşük olan kazein proteinini daha yüksek miktarda içerir. Anne sütünde metionin/sistin oranı 0,69 iken inek sütünde bu oran 2,72'dir. Yenidoğanlarda metionini sistine dönüştüren enzimler yeterince gelişmemiş olduğundan sistin oranının yüksek olması önemlidir. Anne sütünde düşük yoğunlukta bulunan fenilalanin ve tirozin yenidoğanın metabolik hızına uygun orandadır. Yenidoğanda hücre membranının bütünlüğüne yardımcı olan ve retina zedelenmesini önleyen taurin ise anne sütünde inek sütüne göre 30-40 kat daha fazladır. Anne sütü epidermal büyüme faktörü (EGF), sinir büyüme faktörü (NGF), insüline benzer büyüme faktörü (ILGF-I), meme kaynaklı büyüme faktörü (MDGF), koloni uyarıcı faktör (CSF), taurin, etanolamin, fosfoetanolamin ve interferon gibi büyüme faktörlerini yüksek yoğunlukta içerir. Ayrıca anne sütünde bulunan bifidus faktörü bağırsakta, bağırsak pH'ını düşürerek diyareye neden olan mikroorganizma ve mantarların üremesini engelleyen *Lactobacillus bifidus*'ların oluşumunu sağlar.⁴⁷ Anne sütünün, inek sütü veya inek sütünden yapılan formül mamalara göre sindirimi daha kolaydır ve mideden boşalımı daha hızlıdır.⁴⁰

Tablo 1. 2: Olgun anne sütü ve inek sütü bileşimleri (100 ml). ³⁹

ENERJİ VE BESİN ÖGELERİ	ANNE SÜTÜ	İNEK SÜTÜ
Enerji (kkal)	69	61
Protein (g)	1,3	3,3
Laktoz (g)	7,2	4,7
Yağ (g)	4,1	3,0
Protein (%)	7,0	20,0
Laktoz (%)	42,0	30,0
Yağ (%)	51,0	50,0
VİTAMİNLER		
Retinol (µg)	60	35
β karoten (µg)	27	22
D (IU)	0,42	0,36
E (mg)	0,34	0,07
K (µg)	0,21	-
Tiamin (mg)	0,02	0,04
Riboflavin (mg)	0,03	0,19
Nikotinik asit (mg)	0,22	0,08
B ₁₂ (µg)	0,1	0,3
B ₆ (µg)	0,01	0,04
Folat (µg)	5,0	5,0
Pantotenik asit (mg)	0,25	0,35
Biotin (µg)	0,7	2,0
C (mg)	3,7	1,5
MİNERALLER		
Sodyum (mg)	14	35-90
Potasyum (mg)	58	110-170
Klor (mg)	42	90-110
Kalsiyum (mg)	34	110-130
Fosfor (mg)	14	90-100
Magnezyum (mg)	3,0	9-14

Tablo 1.2 (Devam): Olgun anne sütü ve inek sütü bileşimleri (100 ml).³⁹

Demir (mg)	0,07	0,03-0,06
Bakır (mg)	0,04	0,01-0,03
Çinko (mg)	0,28	0,2-0,6
İyot (µg)	3,0	4,7
Manganez (µg)	0,1	24
Selenyum (mg)	14	0,5-5,0
Taurin (mg)	4,6	0,1
Kükürt (mg)	14	30
Böbrek solüt yükü (mmol/l)	75-80	218

Anne sütünün içeriği emzirme süresince değişir. Bebek emmeye başladığında gelen önsüt (fore milk) karbonhidrattan zengin ve sulu iken, sonsüt (hind milk) yağdan zengindir. Ön süt bebekte dehidratasyonu ve hipoglisemiye önlerken son süt 3 kat fazla yağ ve 1,3 kat yüksek protein seviyesiyle doygunluk sağlar.^{39,40}

Trigliseritlerin dışında kalan % 2'lik kısmı yağ asitleri, yağda eriyen vitaminler, monogliserit ve digliseritler, glikolipitler ve fosfolipitler, sterol ve sterol esterleri oluşturur.⁴⁷

EPA, LA, ALA, DHA yağda eriyen vitamin ve bazı hormonların taşıyıcısı olarak hücre membranının yapısında yer alarak görev yapar. Kolesterol düzeyinin yüksek olması; lipid metabolizma erken aktifleşmesiyle bebeği hiperlidemi ve aterosklerozdan korur.⁴⁸

Preterm bebeklerde daha düşük aktivitesi mukozal laktaz enzimi olduğundan laktoz term bebeklerin sütünden daha az bulunur. (enerji gereksiniminin %40'ını). Term bebeklerin sütüne göre daha fazla miktarda kolesterol gelişimine katkı sağlar.⁴⁷

Anne sütü ile beslenen bebeklerde anne sütü ghelin, leptin, adinopektin gibi enerji metabolizmasında rol oynayan hormonların anne sütünde bulunması, yenidoğanda beslenme ve enerji dengesi arasında bağlantı olabileceğini gösterir.⁴⁹

Laktasyon boyunca intestinal lenfoid dokusunun hücreleri, lenfatik sistem ve periferik kan yoluyla memeye hareket eder, böylece hem bağırsak hem de meme derisi anne sütüyle beslenen bebeklerde mikroorganizma transferi gerçekleşir.⁵⁰

İnsan sütü oligosakkaritleri (HMO'lar) bebek bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini sağlamada anahtar rol oynar.⁵¹ HMO'lar sütün üçüncü en büyük kan bileşenidir ve bu yapısal karmaşıklıkları nedeniyle konakçı tarafından sindirilemez.⁵²

Anne sütü; *Streptococcus* ve *Staphylococcus*'ların en fazla olduğu, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* ve *Veillonello*, *Propionibacterium*, *Faecalibacterium* gibi kısa zincirli yağ asidi üreten gibi bakterilerin de kolayca izole edildiği ml başına 100-105 CFU mikroorganizma içeren süttür.⁵³ İnsan sütü yenidoğan bağırsak mikrobiyotasının başlangıcında ve gelişiminde önemli bir faktördür. Çünkü doğumdan birkaç hafta sonra bebek bağırsağına sürekli bir mikroorganizma kaynağı oluşturur. Günlük 800 ml anne sütü tüketen yenidoğan $1 \cdot 10^5$ - $1 \cdot 10^7$ kommensal bakteri oluşur.⁵⁴

Anne sütü yenidoğan için en iyi besindir. Çünkü proteinlerin, karbonhidratların, lipidlerin, mineral ve vitaminlerin eşsiz kombinasyonundan oluşur. Ek olarak bağışıklık sisteminin olgunlaşmasının desteklenmesi ve enfeksiyonlara karşı koruma gibi faydalı etkilerden sorumlu probiyotik bakteriler gibi biyoaktif bileşikler de içerir. Anne sütü steril sıvı değildir, bebek bağırsağı için mükemmel ve sürekli bir kommensal bakteri kaynağı oluşturur. İnsan sütünde en sık rastlanan *Staphylococcus* (*S. salivarius*, *S. mitis*, *S. parasanguis*, *S. peares*), *Streptococcus spp.* (*S. salivarius*, *S. mitis*, *S. parasanguis*, *S. peares*), *Enterococcus* (*E. faecium*, *E. faecalis*) ve *Lactobacillus spp.* (*L. gasseri*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. fermentum*, *L.reuteri*) türlerine ait bakterilerdir.^{55,56}

Mikrobiyal kolonizasyon doğumdan sonra başlar ve başlangıçta fakültatif anaerobik suşlar baskınken daha sonra laktik asit bakterileri ve koliformlar bağırsak mikroflorasında baskın hale gelirler. Emzirme bağırsaktaki bifidobakterilerin büyümesini teşvik ederken, formülle beslenen bebekler bifidobakteriler, bakteroidler, klostridia ve streptokokları içeren daha karmaşık bir mikrofloraya sahiptir.⁵⁷

Son yıllarda, biberonla beslenen bebeklerde ilk 2-3 ay emzirilen bebeklerinkine benzer şekilde daha yumuşak ve asidik (Ph 5-6) bebek dışkısı ve yüksek bifidus içeriğine sahip bağırsak florasını indüklemek için çaba gösterilmiştir.⁴

Emzirilen bebeklerde bifidobakteriler ve stafilokoklar yaygın bulunmuşken formula ile beslenen bebeklerde enterokoklar baskın bulunmuştur.⁵⁸

Bifidobacterium ve *Lactobacillus*'lar fakültatif anaerob; laktik asit, butirat (kısa zincirli yağ asidi üretebilmesi nedeniyle *Klebsiella proteus*, *Enterobacteriaceae* gibi bağırsaktaki

fırsatçı paojenlerden ayrılır. Ayrıca *Lactobacillus* türleri gaita nemini, sıklığını ve hacmini artırır.⁶⁸

Her bireyin konakçının besin metabolizmasında spesifik rol oynayan, bağırsak mukozal bariyerinin yapısal bütünlüğünün korunması, immünomodülasyon ve patojenlere karşı koruma sağlayan benzersiz bir bağırsak mikrobiyota formülüne sahiptir. Bağırsak mikrobiyotası cins, aile, takım ve filum tarafından taksonomik olarak sınıflandırılan farklı bakteri türlerden oluşur. Her insanın bağırsak mikrobiyotası doğum zamanı, doğum şekli, beslenme yöntemi, süten kesim zamanı ve antibiyotik gibi faktörlere bağlı olarak yaşamın ileri dönemlerde şekillenir.⁷⁸



Tablo 1. 3: Bağırsak Mikrobiyotasının Taksonomik Sınıflandırma Örneği.⁵⁹

Filum	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	
		Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	Bifidobacterium longum Bifidobacterium bifidum
	Coriobacteria	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	Atopobium	
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Faecalibacterium	Faecalibacterium prausnitzii
				Clostridium	Clostridium spp.
			Lachnospiraceae	Roseburia	Roseburia intestinalis
			Ruminococcaceae	Ruminococcus	Ruminococcus faecis
	Negativicutes	Veillonellales	Veillonellaceae	Dialister	Dialister invisus
	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus reuteri
			Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus faecium
		Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus leei
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	Bacteroides fragilis
			Bacteroidaceae	Bacteroides	Bacteroides vulgatus
	Bacteroidia	Bacteroidales	Tannerellaceae	Tannerella	Bacteroides uniformis
				Parabacteroides	Parabacteroides distans
			Rikenellaceae	Alistipes	Alistipes finegoldii
			Prevotellaceae	Prevotella	Prevotella spp.
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia coli
				Shigella	Shigella flexneri
	Delta preteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	Desulfovibrio	Desulfovibrio intestinalis
				Bilophila	Bilophila wadsworthia
	Epsilon bacteria	Campylobacteriales	Helicobacteraceae	Helicobacter	Helicobacter pylori
Fusobacteria	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium	Fusobacterium nucleatum
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Akkermansiaceae	Akkermansia	Akkermansia muciniphila

Pediyatrik çalışmalarda etkinliği gösterilen çift kör plasebo kontrollü çalışmalarda

Akut İşhal tedavisinde

Lactobacillus GG

Lactobacillus reuteri

Lactobacillus acidophilus Lb

Saccharomyces boulardii

Streptococcus thermophilus

Lactobacillus acidophilus

Lactobacillus bulgaricus

Akut İşhal nleme

Bifidobacterium bifidum

Streptococcus thermophilus

Lactobacillus GG

Clostridium difficile önlenmesi veya tedavi edilmesi

Lactobacillus GG

Antibiyotikle ilişkili işhalin nlenmesi

Lactobacillus GG

Alerjik dermatit/ kolit

Lactobacillus GG

Bağışıklık sistemi modülasyonu

*Lactobacillus GG*⁶⁰

Çeşitli alışmalar kolostrum ve anne sütünün bebek bağırsağına sürekli, kommensal, mutualistik, potansiyel olarak probiyotik bakteri kaynağı olduğunu ortaya koymuştur.⁶¹

Emzirilen bebeklerin gastrointestinal mikrobiyotası, klasik standart formülle beslenen bebeklerinkinden farklıdır. Annenin sütü prebiyotik oligosakkaritler açısından zengindir ve az miktarda probiyotik içerir.⁶²

1.3. Anne Sütünün Gastrointestinal Sistem ve Hastalıklarla İlişkisi

Bir araştırmaya göre anne sütüyle beslenen bebeklerin yaşamın ilk 6 ayında formül mama ile beslenen bebeklerin ölüm riskinin sadece %12'sine sahip olduğu grlmştur.⁶³ Başka bir çalışmada ise 4 aydan daha uzun süre emzirmenin yaşamın ilk yılında artmış kortikosteroid ile tedavi edilen hırıltı atakları ile ilişkili olduğu bulunmuştur.⁶⁴ Altınkaynak vd. (2006)⁶⁵ yılında yaptıkları çalışmaya göre 6 aydan fazla anne sütü alımının akut lösemi ve lenfoid malignitelerine karşı koruyucu etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Anne sütü almanın akut otitis medya, spesifik olmayan gastroenterit, ciddi alt solunum yolu enfeksiyonları, atopik dermatit, astım, obezite, tip I ve tip II diyabet, lösemi, ani bebek ölüm

sendromu, nekrotizan enterokolit görülme riskinin daha düşük olmasıyla ilişkisi gösterilmiştir. En az 3 ay inek sütü proteinine maruz kalmayan bebeklerde tip I diyabet insidansında %30'a varan azalma bildirilmiştir.⁶⁶ Bu çalışmanın aksine pek çok Avrupa ülkesini kapsayan çok merkezli bir araştırmada çocukların herhangi bir süre emzirilmesi tip I diyabet risk oranında risk oranında azalma ile ilişkiliyken 3 aydan önce inek sütü veya formül mama ya da katı yiyeceklerin risk oranında önemli bir yükselme yapmadığı belirtilmiştir.⁶⁷

Anne sütünün haemophilus influenzae tip B enfeksiyonlarına karşı 10 yıl, solunum yolu enfeksiyonlarına karşı 7 yıl, orta kulak iltihabına karşı 3 yıl, ishale karşı 2 yıl boyunca koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca anne sütüyle beslenen bebeklerde emme zamanının sonunda gelen son süt doyma hissinin oluşmasına yardımcıdır. Anne sütüyle beslenen bebekler besin miktarını bebek belirlerken biberonla beslenen bebeklerde besin miktarını anne belirlemektedir. Anne sütüyle beslenen bebeklerde mevcut olan yüksek kan leptin düzeyinin bireyin ileri yaşamındaki obeziteye karşı koruyucu rol üstlenmekte olduğu düşünülmektedir.⁶⁸

Anne sütüyle beslenen bebeklerde formül mama ile beslenen bebeklere göre alerji ve enfeksiyon riski daha azdır.⁶⁹

Emzirme eksikliği özellikle yaşamın ilk 6 aylık döneminde uygun olmayan tamamlayıcı besinlerle beslenme; bebek ve çocukluk çağı için morbidite ve mortalitesi yüksek önemli risk faktörleridir. Dünyadaki bebeklerin %35'inden fazlası anne sütüyle beslenmemektedir. Yaşamın ilk 4 ayında tamamlayıcı besinler genellikle beslenme açısından yetersiz ve güvensizdir. Yetersiz beslenen çocuklar daha sık hastalanır ve gelişim bozukluğunun olumsuz sonuçlarına yaşam boyu maruz kalırlar. Bebekler optimal büyüme ve gelişmeyi sağlamak için 6 ay boyunca sadece emzirilmelidir. Yaşamın ilk iki yılı büyüme ve gelişmenin en hızlı olduğu dönem olduğundan bu dönemdeki beslenme şekli bireyin ileri yaşlarına da katkı sağlamaktadır. 6. Aydan sonra artan besin ihtiyacı için bebeklere yeterli ve güvenli tamamlayıcı gıdalar verilirken emzirme 2 yaşına kadar veya daha uzun süre devam eder.^{40,70}

Emzirmenin hayatta kalmanın ötesinde çocukların beyin gelişimini arttırdığına ve aşırı kilo alımına karşı koruma sağladığına dair kanıtlar vardır. Ayrıca annelerde meme ve yumurtalık kanseri, Tip II diyabet ve anemi riskini azaltmada önemlidir.^{38,39}

Karataş vd. (2008)⁷¹ yılında yaptığı çalışmada formül mamalarla beslenen bebeklerde anne sütüyle beslenen bebeklere göre leptin düzeyi daha düşük bulunmuştur. Bu da daha düşük doğum ağırlıklı olan bebeklerde daha hızlı kilo alımına neden olmuştur.

Tablo 1. 4: Anne sütünde bulunan enfeksiyon önleyici faktörler ve etkiledikleri mikroorganizmalar.⁷²

Faktörler	Etkiledikleri Mikroorganizmalar
Antibakteriyel Faktörler	
SıgA	<i>E.coli</i> , <i>C.tetani</i> , <i>C. Diptheriae</i> , <i>D. Pneumonia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>
Bifidus Faktör	<i>Enterobakteriler</i>
Laktoferrin	<i>E .coli</i> , <i>C. albicans</i>
Lizozim	<i>Balantidium.coli</i> , <i>Salmonella</i>
Antiviral Faktörler	
SıgA	<i>Palio tip 1,2,3</i> ; <i>Coxsackie tip Ag</i> ; <i>B3</i> ; <i>B15</i> <i>Echo tip 6,9 Rotavirus</i>
Lipitler (Doymamış yağ asitleri)	<i>Herpes simpleks</i> , <i>İnfluenza</i> , <i>Sarı Humma</i> , <i>Japon Ensefaliti Virüsü</i>
İmmünoglobulin Olmayan Makromoleküller	<i>Herpes simpleks</i> , <i>Veziküler Stomatitis Virüsü</i>
Hücreler	İnterferon Sentezi, Fagositoz

Ek gıdayla erken tanışma bebekte gastroenteritlerin görülme riskini artırır. Ek gıdayla 3. aydan önce tanışanlar %70 oranında diyare görülürken 4-6 ayda geçenlerde ise bu oran %51,5 oranındadır.⁷²

Öztürk ve ark. (2007) 24 anne sütü ve 23 bebek maması alanlar arasında yaptıkları çalışmada ilk 3 ayda anne sütü alan bebeklerin hiçbirinde diare veya konstipasyon şikayeti bulunmamış ancak 2,4,8. Haftalarda görülen dışkı sıklığı farkı 16. haftadan sonra ortadan kalkmıştır.⁷³

Anne sütü; hücresel büyüme, sindirim sisteminin olgunlaşması, simbiyotik floranın oluşumu, bağırsaklarla ilişkili lenfoid dokuların gelişimini uyarmasıyla yenidoğanda gastrointestinal sistem üzerinde işlevleri olan besindir.⁷⁴ Anne sütünün bileşenleri; bu bileşenlerin gastrointestinal sistem mukozasına bağlanması, gastrointestinal sistemin gelişmesini ve fonksiyonlarını etkileyen ajanlar içerir. İnsan sütündeki interleukin (IL)-10 prematür bebeklerde nekrotizan enterokolite benzer enterokolite karşı koruma sağlar. Anne sütündeki bazı ajanlar, bebeklerdeki aynı ajanlardaki gelişimsel gecikmeleri telafi ederler,

bebeğin gastrointestinal kanalında iltihaplanmayı önler ve kommensal enterik mikrofloranın oluşmasına yardımcı olur.⁷⁵

İlk 6 ay sadece anne sütüyle beslenmekle yılda 1,3 milyon bebeğin ölümünün önüne geçilebileceği düşünülmektedir.⁷⁶ 130.000'den fazla anne sütüyle beslenen yenidoğanın dahil edildiği dört ülkeden beş çalışmanın metaanalizine göre doğumdan 2-23 saat sonra emzirilmeye başlananlara, 1 saat içinde emzirilmeye başlananlara göre %33 daha fazla ölüm riski taşımakta; 24 saat veya daha geç emzirilen yenidoğanlarda ise risk 2 katından yüksektir.⁷⁷

WHO, 2001 yılına kadar yenidoğanların ilk 4-6 ay anne sütü alması gerektiğini önerirken daha sonra bu süre anne sütünün öneminin daha fazla kavranmasıyla ilk 6 aya çıkarılmıştır.⁷⁸



2. MATERİYAL VE METOD

2.1. MATERİYAL

Çalışmamızda Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesine başvuran yaş aralığı 0-4 ay olan, vajinal yolla doğmuş, son 3 ayda antibiyotik ve/veya probiyotik tedavisi almamış sadece anne sütü alan veya anne sütünün yanında formül mama ile beslenen 45 sağlıklı bebeğin gaitalarından izole edilen LAB' i kullanılmıştır.

Alınan numuneler, steril koşullarda Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilerek aynı gün içerisinde değerlendirilmeye alınmıştır. LAB' nin geliştirilmesi ve aktifleştirilmesinde MRS (De Man Ragosa Sharpe, Merck) sıvı ve katı besiyeriyle çalışılmıştır. Her bir örnek MRS katı besiyerine üçlü ekimleri yapılarak anaerobik jarda 37°C' de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda MRS katı besiyerlerinde oluşan büyük, küçük, beyaz, kirli beyaz ve opak olarak farklı görülen koloniler tekrar ayrı ayrı MRS katı besiyerine ekilerek saflaştırılarak 48 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakılarak çoğalmaları sağlanmıştır. Daha sonra -18 derecede stoğa alınarak Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir.

LAB' nin antagonistik etkilerinin tespiti için kullanılan *E.coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis*, *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* suşları Amasya Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarının kültür stoğundan temin edilmiştir. Kullanılan kültürlerin uygun gelişim sıcaklıkları, hangi besiyerinde çoğaltıldıkları, temin edildikleri kaynaklar Tablo 2.1' de, besiyerlerin kimyasal bileşimleri ise Ek 1' de gösterilmiştir.

Tablo 2. 1: Çalışmada bakteri kültürleri, gelişme ortamları ve uygun gelişim sıcaklıkları.

Bakteri adı	Besiyeri	Sıcaklık
<i>E. coli</i> ATCC 25922	TSB	37°C
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	TSB	37°C
<i>B.subtilis</i>	TSB	37°C
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	TSB	37°C
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	TSB	37°C
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 19111	TSB	37°C

2.1.1. Gaita LAB Kültürlerinin Saklanması

2.1.1.1. Çözelti ve Malzemelerin Sterilizasyonu

Laboratuvar çalışmalarında kullanılan cam malzemelerin sterilizasyonu 240°C’de 1,5 saat kuru hava sterilizatörü (Elektromag M5040); hazırlanmış katı ve sıvı besiyerleri, tampon ve solüsyonlar otoklavda (Nüve OT40L) 121°C de 15 dakika süreyle buharlı ısıyla steril edilmiştir.

3.2. METOD

3.2.1. Materyallerin Toplanması

Çalışmada kullanılan LAB sağlıklı bebek bezlerinden sürüntü şeklinde alınmıştır. Alınan numuneler gaita kabına alınarak aynı gün bekletilmeden Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında analizine başlanmıştır. Gaita örneği alınması gereken hastaların annelere bebeğin cinsiyeti, doğum haftası, doğum ağırlığı, şu andaki ağırlığı, beslenme şekli (sadece anne sütü ya da anne sütünün yanı sıra bebek maması alıp almadığı) ve günlük dışkılama sayısı sorulmuştur. Hasta bilgi formu ekte verilmiştir.

3.2.2. Gaita LAB'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

3.2.2.1. Gaita LAB'nin Kısmi Karakterizasyonu

MRS katı besiyerinde 24-48 saat inkübasyona bırakılan izolatlardan bir miktar örnek alınarak bir damla serum fizyolojik damlatılmış lama yayılmış ve kuruması beklenmiştir. Kuruma işleminden sonra 3-5 defa bek alevinden geçirilen lamlara sırasıyla kristal viyole boyası dökülerek 1 dakika bekletildikten sonra distile suyla yıkanmış; lügol çözeltisi damlatılıp 1 dakika bekletildikten sonra tekrar distile suyla yıkanmış; ardından saf alkol damlatılıp 15 saniye beklendikten sonra distile suyla yıkanmış; safranin boyası damlatılıp 30 saniye beklendikten sonra en son distile suyla yıkanarak gram boyama işlemi tamamlanmıştır. Lamalar tekrar kuruması için bekletilmiştir. Kuruyan lamaların üzerine immersiye yağ damlatılarak izolatların morfolojisi ve gram boyama özellikleri 100x büyütme ışık mikroskopunda (LEICA DM500) gözlemlenmiştir. Boyama sonucunda mor renkli olanlar gram pozitif bakteri olarak değerlendirilmeye alınmıştır.

3.2.2.2. Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin Genotipik Karakterizasyonu

İzole edilen suşların Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi laboratuvarında Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification yöntemiyle cins ve tür tanımlamaları yapılmıştır.

MALDI-TOF MS (matriks assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry) mikroorganizmaların protein profillerinin ortaya çıkarılarak tanımlanmalarıdır. Elde edilen bu profiller mevcut kütüphanedeki mikroorganizmalarla karşılaştırılarak tanımlama yapılır.⁷⁹

MALDI-TOF MS kolay, ucuz ve hızlıdır. MALDI-TOF MS yöntemi için bozulmamış bir bakteri kolonisini (formik asit eklenmiş ya da eklenmemiş) ve hazırlanmış protein ekstraksiyonu MALDI plakasına eklenir. Formik asit çözeltisinin eklenmesi üretilen kütle spektrumunun kalitesini artırdığından özellikle mayalar gibi mikroorganizma türleri için yararlıdır.

Kültür plağında üreyen koloniden örnek alınarak MALDI TOF plağına sürülür. Oda ısısında kuruması beklenerek %70'lik formik asit ve matriks (HCCA; siyano-4-hidroksisinamik asit) solüsyonundan eklenir. Plak analiz için MALDI TOF MS cihazına bırakılarak lazer atışına maruz bırakılarak sonuç okunur.⁸⁰

3.2.2.3. Gaita LAB'nin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.2.3.1. Gaita LAB'nin Hemolitik Aktivite Testi

İzole edilen suşların hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla 37°C' de MRS agar besiyerinde 18 saat geliştirilmiş kültürler, ticari %5 koyun kanı içeren Colombia-agar (bioMerieux, Inc. France) besiyerine çizgi ekimleri yapılmıştır. 37°C' de 24 saat inkübatörde bekletilen suş kolonilerinin etrafında parlak yeşil zon oluşmuşsa α - hemolitik; berrak zon oluşmuşsa β - hemolitik; zon oluşmamışsa γ - hemolitik olarak adlandırılmıştır. *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 kontrol bakterileri olarak kullanılmıştır.

3.2.2.3.2. Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin Asit ve Safra Toleransı

Gaitadan elde edilmiş olan laktik asit bakterileri ve probiyotik bakterilerin midenin asidik ortamında hayatta kalarak bağırsaklara ulaşılabilirliğini test etmek amacıyla mide sıvısı ortamına benzeyen bir ortam hazırlanmıştır. Tüplere 5'er ml otoklavda steril edilmiş MRS Broth hazırlanmış ve suşlar 18 saat aktifleştirildikten sonra 3000 x g'de 15 dakika 4°C'de santrifüj edilerek çöktürülmüştür. Çökelti sterilfosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile iki kez yıkanmıştır. Daha sonra PBS tamponu (1N NaOH ve 1N HCl) pH dereceleri 2.0, 2.5,3.0 olacak şekilde 3 farklı şekilde hazırlanmış ve suşlar hazırlanan düşük pH dereceli PBS tamponlarında 37°C'de 3 saat inkübe edilmiştir. Kontrol için pH değeri 7.2 olan PBS kullanılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 3. saatlerinde düşük pH derecesinde inkübasyona tabi tutulan örneklerden 1 er ml alınarak ependorf tüplere konularak 10^{-7} düzeyine kadar seyreltilmiş ve steril MRS agar besiyerlerine 3'lü paralel ekimleri yapılmış 37°C'de 24 saat

inkubasyona bırakılarak süre sonunda kontrol ve test grubundaki koloniler sayılarak % Canlılık= X/X_0 formülüyle %canlılık oranları hesaplanmıştır.

X: Test grubu canlı mikroorganizma sayısı

X_0 : Kontrol grubu canlı mikroorganizma sayısı

Safra Tuzu Toleransı: İzole edilen laktik asit bakterileri ve probiyotik bakterilerin safra tuzub içeren besiyerinde hayatta kalabilme özelliklerinin test edilebilmesi amacıyla ağırlıkça %0,3; %0,5 ve %1 safra tuzu (oxgall, sigma) içeren MRS sıvı besiyerleri hazırlanarak otoklavda 121°C’ de 15 dk steril edilmiştir. Her örnekten 0,1 ml alınarak 5 ml steril MRS sıvı besiyeri içeren tüplere eklenerek 1 gece inkübatörde aktifleştirilmiştir. Her örnekten 1 ml alınarak eppendorf tüplerde 10.000x g’de 5 dakika 4°C’ de santrifüj edilerek üst faz ayrılarak çökelti PBS (pH 7.2) ile iki sefer yıkanarak ve tekrar yeniden fosfat tamponunda süspanse edilerek farklı oranlarda safra tuzu içeren MRS besiyerlerine her örnekten 0,1 ml alınarak aşılama yapılmış 3 saat inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyonun 0. ve 3. saatlerinde örneklerden 1’er ml steril eppendorf tüplere alınarak 10^{-7} düzeyine kadar seyreltilmiş ve MRS katı besiyerlerine öze yardımıyla 3 paralel ekim yapılmıştır. Suşlar 37°C’de 24-48 saat bekletilerek koloniler sayılmış ve % canlılık oranları tespit edilmiştir.

$$\% \text{ Canlılık} = X/X_0 \times 100$$

X: Test grubu canlı mikroorganizma sayısı

X_0 : Kontrol grubu canlı mikroorganizma sayısı

3.2.2.3.3. Gaita LAB’nin pH Değişimi Üzerine Etkisi

Her bir örneğin MRS sıvı besiyerine aşılama yapılmış 37°C’de 18 saat inkübasyonları sonucunda kültürlerin asidik pH değerlerini belirlemek amacıyla pH metre (AZ Instrument) ile ölçülmüştür. Kontrol olarak aşılama yapılmamış steril MRS sıvı besiyeri pH’sına bakılmıştır. Ölçümler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.2.2.3.4. Gaita LAB’nin Laktik Asit Miktarlarının Belirlenmesi

MRS sıvı besiyerinde 37°C’de 18 saat aktifleştirilmiş 5’er ml’lik örneklerin her birine 5 ml saf su ve 250 mikrolitre fenolftalein eklenmiştir. 0,1 N NaOH damla damla eklenerek titre edilmiştir. Damla sayısı 4 ile çarpılmıştır. Harcanan her 1 ml 0,1 N NaOH 0,009 g laktik aside eş değer olacak şekilde her bir örneğin laktik asit miktarı belirlenmiştir.

3.2.2.3.5. Gaita LAB'nin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

MRS agarda 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış eküvyon çubuğu aracılığıyla 1'er ml steril serum fizyolojik sıvılara aktarılmış 0,5 McF'a (625 nm absorbands= 0,08-0,1) ayarlanmış ve steril drigalski spatülü ile steril MRS agar üzerine homojen şekilde yayılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda ekim yapılmış petri kaplarına uygun aralıklarla 9 adet antibiyotik antibiyogram disk yerleştirilerek 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda antibiyotik disklerin etrafında oluşan zonların çapları kumpas ile milimetrik olarak ölçülmüştür. Ölçümler NCCLS (Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi) kriterlerine göre Dirençli (R), Yarı Hassas (I) ve Hassas (S) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada Ampicilin (AM) (10 mcg); Penicilin (P) (10 U); Teicoplanin (TEC) (30 mcg); Gentamicin (CN) (120 mcg); Tetracyclin (T) (30 mcg); Netilmicin (NET) (30 mcg); Vancomycin (VA) (30 mcg); Tobramycin (TOB) (10 mcg); Amikacin (AK) (30 mcg) diskleri kullanılmıştır.

3.2.2.3.6. Gaita LAB'nin Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antagonistik Aktivitelerinin Belirlenmesi

LAB ve diğer probiyotik bakterilerin klinik olarak önemli olan insan patojenlerine karşı antagonistik aktivitelerini ölçmek amacıyla Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Laboratuvarından elde edilen *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis*, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10231, *L. monocytogenes* ATCC 19111 patojenleri TSA besiyerinde 37°C' de 18 saat aktiveleştirildikten sonra son konsantrasyonları 1×10^9 CFU/ml olacak şekilde TSA besiyerlerine steril drigalski spatülü ile homojen şekilde yayılmıştır. Ekimleri yapılan kültür plaklara eşit aralıklar bırakılarak 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara MRS sıvı besiyerinde 18 saat aktiveleştirilmiş $10.000 \times g$ 'de 7 dakika santrifüj edilmiş; 0,45 mikro m'lik (Milipore LAB ve probiyotik bakteri kültürlerine ait süpernatantlardan 120 µ litre alınarak kuyucuklara aktararak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda zon çapının mm olarak ölçülmüş ve 3 tekrarın ortalaması alınarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.3.6. Gaita LAB'nin Otoagregasyon ve Koagregasyon Özelliklerinin Belirlenmesi

Sağlıklı gaita mikroflorasından izole edilen LAB'nin otoagregasyonunu gözlemlemek için %1 oranında MRS sıvı besiyerine inoküle edilen kültürlerin 37°C' de 18 saat aktiveleştirilmesinin ardından 6000 x g' de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Çökelti iki kez PBStamponu (pH 6.2) ile yıkandıktan sonra 600 nm'de optik dansite (OD) 0.6 olacak şekilde ayarlandıktan sonra aynı PBS ile yeniden süspanse edilmiştir. Bu şekilde 4 ml olacak şekilde hazırlanan kültürler 10 saniye vortekslenerek, otoagregasyon özelliğini tespit etmek için 4 saat süresince oda sıcaklığında bekletilmiştir. Her saat başlarında kültürlerin üst kısımdan 0.1 ml alınarak 3.9 ml MRS sıvı besiyeri ile seyreltilerek kültürün bekletme öncesi ve bekletme sonrası OD'leri 600nm'de UV spektrofotometrede (Thermo Scientific Evolution 60S UV Spektrofotometre) okunmuştur. Otoagregasyon için kullanılan formül aşağıdaki şekildedir.

$$\text{Otoagregasyon (\%)} = (\text{OD başlangıç} - \text{ODson}) / (\text{OD başlangıç}) \times 100$$

ODbaşlangıç: Otoagregasyonun başlangıç zamanı (t=0)

ODson: Her saat sonundaki OD değeri (t =1, 2, 3, 4).

Koagregasyon özelliğinin belirlenmesinde de otoagregasyon yönteminde olduğu gibi tarafından verilen yöntem kullanılmıştır. %1 oranında MRS besiyerine inoküle edilen kültürler 37°C' de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından 6000g' de 15 dakika santrifüj edilerek iki kez PBS ile yıkanmasının ardından 600 nm'de optik dansite (OD) 0.6 olacak şekilde MRS besiyerinde çözülmüştür. Koagregasyon yeteneğini belirlemek için kullanılacak olan patojen bakterilerin hücre süspanسیونlarıda uygun sıvı besiyerlerinde aktiveleştirildikten sonra aynı şekilde hazırlanmıştır.

Koagregasyon için *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 numaralı suşlar kullanılmıştır. Patojen her suştan 2 ml alınarak diğer hücre süspanسیونu ile eşit miktarda karıştırılarak, 15 saniye vortekslenmiş ve koagregasyon özelliği için 4 saat süresince oda sıcaklığında hareket ettirmeden bekletilmiştir. Her saat başında üst fazdan 0.1 ml alınarak 3.9 ml MRS sıvı besiyeri ile seyreltilerek kültürün bekletme öncesi ve bekletme sonrası optik yoğunlukları 600nm' ye ayarlanmış spektrofotometrede (Thermo Scientific Evolution 60S UV Spektrofotometre) okunmuştur. Koagregasyon yüzdesinin belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Koagregasyon \%} = ((AX + AY/2) - A(x+y)) / (AX + AY/2) \times 100$$

x ve y: Kontrol tüplerindeki 2 tür

x+y: Karışım

3.2.2.3.7. Gaita LAB'nin Kolesterol Asimilasyon Kapasitelerinin Belirlenmesi

Gaita LAB ve probiyotik bakterilerin kolesterol asimilasyon kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran serum kolesterol seviyesi 250-300 mg'dl olan hastalardan toplanan serumların kolesterol seviyesi ölçülmüştür. Soğuk zincir korunarak Amasya Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Kütlece %0,3'lük (Oxgall, Sigma) safra tuzu içeren MRS sıvı besiyeri hazırlanmıştır. Safra tuzu içeren MRS sıvı besiyerinden 3 ml; MRS sıvı besiyerinde 18 saat aktiveleştirilen kültürlerden 1 ml; son konsantrasyonu 100 mg/ml olacak şekilde 0.45 mikro m'lik disposable (Milipore, USA) filtreden geçirilerek mikrofiltrasyon yoluyla steril edilmiş serumdan 1 ml olmak üzere her örnek 5 ml'lik tüplere toplanmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra 4°C'de 5000 x g'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant kısımları 1 ml'lik steril ölçüm tüplerine alınmış ve soğuk zincir korunarak Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi biyokimya laboratuvarında Roche HITACHI cobas 8000 cihazında son kolesterol değerleri ölçülmüştür. Örneklerin inkübasyon öncesi kolesterol miktarı ile inkübasyon sonrası kolesterol miktarı kıyaslanarak kolesterol azalma oranı hesaplanmıştır.

İlk Kolesterol - Son Kolesterol

$$\text{Kolesterol azalma oranı} = \frac{\text{İlk Kolesterol} - \text{Son Kolesterol}}{\text{İlk Kolesterol}} \times 100$$

İlk kolesterol: Bakteri hücresi eklenmemiş %3'lük safra tuzu ve kolesterol içeren besiyeri.

Son kolesterol: %3'lük safra tuzu ve kolesterol içeren besiyerine bakteri hücresi ilave edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından kalan kolesterol miktarı

4. BULGULAR

4.1. Gaita LAB'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

4.2.1 Gaita LAB'nin Seçimi Yapılan Hastalar

Çalışmamızda kullanılan LAB ve probiyotik bakteriler sağlıklı bebeklerin gaitalarından izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalar vajinal yolla doğmuş, son 3 ay içerisinde antibiyotik, probiyotik kullanmamış ve hastaneye yatış öyküsü olmayan hastalardan seçilmiştir. Seçilen örneklerle ait kişisel bazı bilgiler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4. 1: Gaita LAB ve probiyotik bakterilerin izole edildiği hastalara ait bazı bilgiler.

Seçilen Suşların Kodları	Gün	Son 3 ayda antibiyotik kullanımı	Son 3 ayda probiyotik kullanımı	Son 3 ayda hastanede yatış öyküsü
T1	15	-	-	-
T2	135	-	-	-
T3	75	-	-	-
T4	60	-	-	-
T5	15	-	-	-
T6	3	-	-	-
T7	15	-	-	-
T8	7	-	-	-
T9	7	-	-	-
T10	75	-	-	-
T11	60	-	-	-
T12	47	-	-	-
T13	10	-	-	-
T14	21	-	-	-
T15	120	-	-	-

Tablo 4.1 (Devam): Gaita LAB ve probiyotik bakterilerin izole edildiği hastalara ait bazı bilgiler.

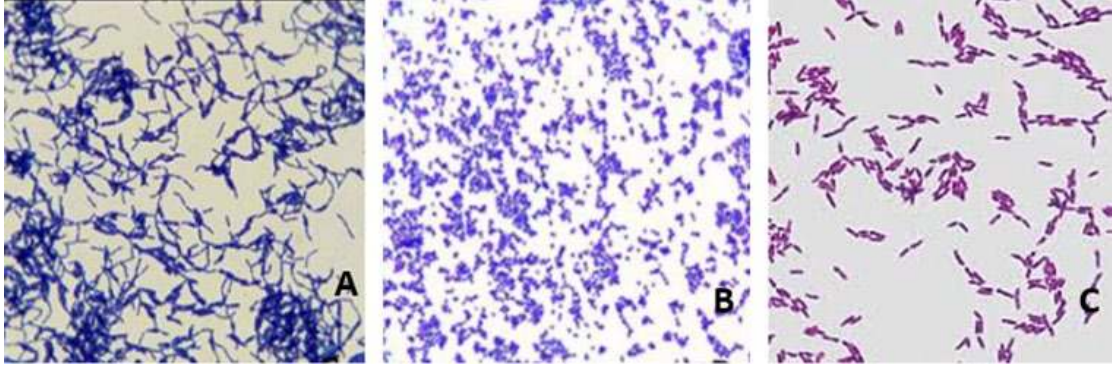
T16	12	-	-	-
T17	41	-	-	-
T18	15	-	-	-
T19	15	-	-	-
T20	4	-	-	-
T21	3	-	-	-
T22	41	-	-	-

Tablo 4.1’de görüldüğü üzere seçilen 22 adet izolatın elde edildiği bebeklerin ortalama 36 günlük olduğu görülmüştür.

Çalışmaya uygun görülen 51 sağlıklı bebeğin gaita örnekleri Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilerek aynı gün değerlendirmeye alınmış ve suşların gelişimi için MRS katı besiyerlerine aynı gün ekimi yapılmış 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların koloni morfolojisi ve gram reaksiyonları incelenmiş ve içlerinden LAB olduğu düşünülen gram pozitif, beyaz, opak görünümlü saf 22 adet izolat seçilmiştir.

4.2.2. Gaita LAB’nin Morfolojik Karakterizasyonu

Gaitadan elde edilen izolatların gram boyamaları yapılarak 100x büyütme ışık mikroskopunda incelenmiştir. Şekil 4.1’de görüldüğü gibi LAB grubunda yer alan *Lactobacillus* spp. türlerinin morfolojik görüntüsü çubuk şeklindeyken, *Pediococcus acidilactici* suşunun kok şekilli olduğu gözlenmiştir. Bütün suşlar gram pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4. 1: Gaita mikroflorasından izole edilen 3 farklı türün gram boyama görüntüleri sırasıyla A: *L. rhamnosus*, B: *P. acidilactici*, C: *L. reuteri*

4.2.3. Gaita LAB'nin Genotipik Karakterizasyonu

Gaita mikroflorasından elde edilen LAB ve probiyotik olduğu düşünülen bakteriler saflaştırılarak MRS Agar besiyerlerine ekimleri yapılarak soğuk zincirleri korunarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi'ne gönderilmiştir. Mikroorganizmalara ait biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) ve büyük organik moleküllerin iyoniz edildikten sonra elektrik ve/veya manyetik alandan geçirilerek ortaya çıkan protein profillerine bakılmasına dayanılarak yapılan MALDI-TOF MS (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight massspectrometry) yöntemine göre örneklerin türleri belirlenmiştir. Tablo 4.2'de sonuçlara göre tanımlanan suşların listesi verilmiştir.

Tablo 4.2: MALDI-TOF MS (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight massspectrometry) yöntemine göre tanımlanan suşlar.

SUŞUN KODU	TANIMLANAN SUŞ
T1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T2	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T3	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T4	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T5	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T6	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T7	<i>Lactobacillus reuteri</i>
T8	<i>Lactobacillus paracasei</i>
T9	<i>Pediococcus acidilactici</i>
T10	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T11	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>

Tablo 4.2. (Devam): MALDI-TOF MS (Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspectrometry) yöntemine göre tanımlanan suşlar.

T12	<i>Lactobacillus reuteri</i>
T13	<i>Enterococcus faecalis</i>
T14	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T15	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T16	<i>Lactobacillus gasseri</i>
T17	<i>Lactobacillus paracasei</i>
T18	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T19	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T20	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
T21	<i>Lactobacillus gasseri</i>
T22	<i>Lactobacillus paracasei</i>

4.2.4. Gaita LAB'nin Hemolitik Aktivite Testi

Hemolitik aktivite testinde kullanılan kontrol suşları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan elde edilen *S. aureus* ATCC 29213 suşu olmuştur. *S. aureus* ATCC 29213 kanlı ağara ekimi yapıldığında kolonilerin etrafında parlak zon (β -hemolitik) meydana gelmiştir. Çalışmamızda elde edilen suşların kanlı agarlara ekimi sonucunda kolonilerin etrafında parlak yeşil zon oluştuğu gözlenmiştir. Kontrol suş *S. aureus* ATCC 29213 ve T16 suşlarının hemolitik zonlar Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 2: Kontrol suş olan *S. aureus* ATCC 29213'un kolonilerinin etrafında oluşan berrak (β -hemolitik) zon ve T16 ismiyle kodlanmış olduğumuz *L. gasseri* suşunun kolonilerinin etrafında oluşan yeşil (α - hemolitik) zon.

4.2.5. Gaita LAB'nin Asit ve Safra Toleransı

Tablo 4.3: Gaita LAB'nin düşük pH ortamındaki canlı kalma oranları.

Farklı pH Değerindeki Ortamlarda 3. Saat Sonunda İzolatların Canlı Kalma Sayısı (log cfu/ml) ve Oranı (%)									
	pH=2.0			pH=2.5			pH=3.0		
	Başlangıç	Son	%Canlılık	Başlangıç	Son	%Canlılık	Başlangıç	Son	%Canlılık
<i>L. rhamnosus</i> T1	8.60	-	-	8.68	5.57	64.1	8.75	8.33	95.2
<i>L. rhamnosus</i> T2	8.58	-	-	8.63	5.42	62.8	8.52	7.81	91.6
<i>L. rhamnosus</i> T3	8.63	2.87	33.2	8.72	6.46	74	8.75	8.38	95.7
<i>L. rhamnosus</i> T4	8.55	2.35	27.4	8.58	5.73	66.7	8.63	7.94	92
<i>L. rhamnosus</i> T5	8.87	-	-	8.90	6.65	74.7	8.75	8.23	94
<i>L. rhamnosus</i> T6	8.60	-	-	8.62	5.81	67.4	8.69	8.17	94
<i>L. reuteri</i> T7	8.50	-	-	8.52	5.45	63.9	8.71	8.43	96.7
<i>L. paracasei</i> T8	8.60	2.56	29.7	8.63	6.81	78.9	8.74	8.52	97.4
<i>P. acidilactici</i> T9	8.90	-	-	8.92	6.72	75.3	8.83	8.25	93.4
<i>L. rhamnosus</i> T10	8.89	-	-	8.75	6.38	72.9	8.72	8.28	94.9
<i>L. rhamnosus</i> T11	8.77	-	-	8.70	6.41	73,6	8.81	8.31	94.3
<i>L. reuteri</i> T12	8.55	-	-	8.45	5.71	67.5	8.61	8.15	94.6
<i>E. faecalis</i> T13	8.65	2.80	32.3	8.73	6.29	72	8.77	8.01	91.3
<i>L. rhamnosus</i> T14	8.72	-	-	8.95	6.76	75.5	8.91	8.12	91.1
<i>L. rhamnosus</i> T15	8.90	-	-	8.98	6.72	74.8	8.87	8.18	92.2
<i>L. gasseri</i> T16	8.65	-	-	8.83	6.61	74.8	8.75	8.02	91.6
<i>L. paracasei</i> T17	8.75	2.51	28.6	8.80	6.56	74.5	8.86	8.09	91.3
<i>L. rhamnosus</i> T18	8.80	-	-	8.92	6.87	77	8.72	8.35	95.7
<i>L. rhamnosus</i> T19	8.75	-	-	8.63	5.97	69.1	8.66	8.21	94.8
<i>L. rhamnosus</i> T20	8.80	2.29	26	8.90	6.91	77.6	8.82	8.35	94.6
<i>L. gasseri</i> T21	8.60	-	-	8.55	5.79	67.7	8.58	7.83	91.2
<i>L. paracasei</i> T22	8.52	-	-	8.68	5.89	67.8	8.73	8.03	91.9

Tablo 4.4: Gaita LAB'nin düşük safra tuzu içeren MRS ortamındaki canlı kalma oranları.

Farklı Safra Tuzu İçeren MRS Ortamlarında 3. Saat Sonunda İzolatların Canlı Kalma Sayısı (log cfu/ml) ve Oranı (%)									
	%0.3			%0.5			%1		
	Başlangıç	Son	%Canlılık	Başlangıç	Son	%Canlılık	Başlangıç	Son	%Canlılık
<i>L. rhamnosus</i> T1	8.92	7.74	86.7	8.73	5.46	62.5	8.56	5.21	60.8
<i>L. rhamnosus</i> T2	8.65	-	-	8.96	-	-	9.12	6.36	69.7
<i>L. rhamnosus</i> T3	8.81	7.85	89.1	9.25	6.21	67.1	8.87	-	-
<i>L. rhamnosus</i> T4	8.46	7.43	87.8	8.99	6.32	70.3	8.60	5.76	66.9
<i>L. rhamnosus</i> T5	9.23	8.56	92.7	9.17	5.52	60.1	8.79	4.24	48.2
<i>L. rhamnosus</i> T6	8.96	5.23	58.3	8.65	5.47	63.2	9.14	-	-
<i>L. reuteri</i> T7	9.12	6.79	74.4	9.33	6.36	68.1	8.54	4.79	56
<i>L. paracasei</i> T8	9.17	6.84	74.5	8.87	5.94	66.9	8.98	4.93	54.8
<i>P. acidilactici</i> T9	8.97	5.92	65.9	9.26	6.83	73.7	8.59	5.23	60.8
<i>L. rhamnosus</i> T10	9.24	7.26	78.5	8.75	5.77	65.9	8.96	6.02	67.1
<i>L. rhamnosus</i> T11	9.11	8.35	91.6	8.83	4.89	55.3	8.64	6.11	70.7
<i>L. reuteri</i> T12	8.82	6.54	74.1	8.24	5.26	63.8	8.47	6.39	75.4
<i>E. faecalis</i> T13	8.98	2.80	31.1	8.75	5.96	68.1	8.63	5.42	62.8
<i>L. rhamnosus</i> T14	9.02	7.32	81.1	9.26	6.85	73.9	9.25	6.82	73.7
<i>L. rhamnosus</i> T15	9.36	8.21	87.7	8.98	6.47	72	9.36	5.97	63.7
<i>L. gasseri</i> T16	8.35	6.67	79,8	8.74	5.71	65.3	8.96	-	-
<i>L. paracasei</i> T17	8.52	2.51	29.4	9.02	-	-	8.81	6.28	71.2
<i>L. rhamnosus</i> T18	9.18	8.43	91.8	8.96	6.32	70.5	8.79	5.86	66.6
<i>L. rhamnosus</i> T19	8.69	-	-	9.11	7.12	78.1	8.93	4.54	50.8
<i>L. rhamnosus</i> T20	8.73	2.29	26.2	8.99	-	-	8.86	-	-
<i>L. gasseri</i> T21	8.67	7.58	87.4	8.88	6.47	72.8	9.11	6.12	67.1
<i>L. paracasei</i> T22	9.28	-	-	9.17	-	-	9.02	-	-

4.2.6. Gaita LAB'nin Laktik Asit Miktarlarının Belirlenmesi

MRS sıvı besiyerinde 37°C'de 18 saat aktifleştirilmiş olan kültürlerle fenolftalein ve NaOH yardımıyla laktik asit miktarı hesaplanmıştır. Laktik asit miktarları Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 5: MRS sıvı besiyerinde 37°C'de 18 saat aktifleştirilen kültürlerin gaita LAB ve probiyotik bakterilerin laktik asit miktarları.

Test Edilen Suş	Laktik Asit Miktarı (mg/dL)
<i>L. rhamnosus</i> T1	417,6
<i>L. rhamnosus</i> T2	255,6
<i>L. rhamnosus</i> T3	147,6
<i>L. rhamnosus</i> T4	446,4
<i>L. rhamnosus</i> T5	273,6
<i>L. rhamnosus</i> T6	360
<i>L. reuteri</i> T7	453,6
<i>L. paracasei</i> T8	360
<i>P. acidilactici</i> T9	432
<i>L. rhamnosus</i> T10	432
<i>L. rhamnosus</i> T11	496,8
<i>L. reuteri</i> T12	113,4
<i>E. faecalis</i> T13	453,6
<i>L. rhamnosus</i> T14	482,6
<i>L. rhamnosus</i> T15	252
<i>L. gasseri</i> T16	468
<i>L. paracasei</i> T17	86,4
<i>L. rhamnosus</i> T18	345,6
<i>L. rhamnosus</i> T19	396
<i>L. rhamnosus</i> T20	374,4
<i>L. gasseri</i> T21	417,6
<i>L. paracasei</i> T22	482,4

Gaita LAB ve probiyotik bakterilerin MRS sıvı besiyerlerinde 37°C'de 18 saat aktifleştirildikten sonra ürettikleri laktik asit miktarları ortalaması 361,2'dir. En yüksek

laktik asit üretim kapasitesine *L. rhamnosus* T11 suşunun sahip olduğu görülmüştür. En düşük laktik asit üretimini ise *L. paracasei* T17 suşu gerçekleştirmiştir.

4.2.7. Gaita LAB'nin pH Değişimi Üzerine Etkisi

pH değeri 5,63 olan MRS sıvı besiyerinde 37°C'de 18 saat aktifleştirilmiş olan kültürlerin pH son değerleri pH metre ile ölçülmüştür. Değerler Tablo 4.4'de yer almaktadır.

Tablo 4.6: Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin pH Değişimi.

Test Edilen Suş	Ph
<i>L. rhamnosus</i> T1	4,13
<i>L. rhamnosus</i> T2	4,66
<i>L. rhamnosus</i> T3	5,49
<i>L. rhamnosus</i> T4	4,60
<i>L. rhamnosus</i> T5	4,58
<i>L. rhamnosus</i> T6	4,23
<i>L. reuteri</i> T7	3,95
<i>L. paracasei</i> T8	3,96
<i>P. acidilactici</i> T9	4,11
<i>L. rhamnosus</i> T10	4,02
<i>L. rhamnosus</i> T11	3,88
<i>L. reuteri</i> T12	4,13
<i>E. faecalis</i> T13	4,57
<i>L. rhamnosus</i> T14	3,84
<i>L. rhamnosus</i> T15	4,69
<i>L. gasseri</i> T16	4,00
<i>L. paracasei</i> T17	4,23
<i>L. rhamnosus</i> T18	4,45
<i>L. rhamnosus</i> T19	4,06
<i>L. rhamnosus</i> T20	4,09
<i>L. gasseri</i> T21	3,81
<i>L. paracasei</i> T22	4,06

Veriler neticesinde gaita LAB suşlarının ortalama pH değeri'nin 4,25 olduğu görülmüştür.

4.2.8. Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Suşların hücre duvar sentezini, protein ve nükleik asit sentezini inhibe etme düzeylerini gözlemlemek amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılarak 9 farklı antibiyotik diskler ekim yapılmış MRS Agar besiyerlerine yerleştirilerek 37°C'de 18 saat aktifleştirilmiş kültürlerin oluşturduğu zon çapları ölçülerek ortaya konulmuştur. Oluşan zon çapları CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute M100-S24, 2014) kriterlerine göre S (duyarlı), I (yarı duyarlı) ve R (dirençli) olarak yorumlanmış ve sonuçlara Tablo 4.5'te yer verilmiştir.

Tablo 4.7: Gaita LAB'nin ve Probiyotik Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıkları.

	AM	P	TEC	CN	NET	VA	T	TOB	AK
T1	R	S	R	S	R	R	S	R	R
T2	R	R	R	R	S	R	S	R	R
T3	I	S	R	S	S	S	S	R	R
T4	R	S	S	S	S	R	S	R	R
T5	R	S	I	S	S	R	S	R	R
T6	R	S	S	S	S	R	R	R	R
T7	R	S	S	S	I	R	S	R	R
T8	R	S	R	R	I	R	S	R	R
T9	R	S	S	S	R	R	S	R	R
T10	R	S	R	S	R	R	R	R	R
T11	R	S	R	S	R	R	S	R	R
T12	R	R	R	S	I	R	S	R	R
T13	R	R	R	R	R	R	R	R	R
T14	R	S	R	S	R	R	R	R	R
T15	R	S	I	R	R	I	S	R	R
T16	R	S	S	R	R	S	S	R	R
T17	R	R	R	I	R	R	S	R	R
T18	S	S	R	S	S	S	S	S	R
T19	R	S	R	S	R	R	S	R	R
T20	R	R	R	S	I	R	S	R	R
T21	R	S	S	R	R	S	R	R	R
T22	R	S	S	R	R	R	S	R	R
<i>E.coli</i>	R	S	R	I	R	R	I	R	R

Antibiyotikler: AM: Ampicillin (10 mcg); P: Penicilin (10 U); TEC: Teicoplanin (30 mcg); CN: Gentamicin 120 µg); NET:Netilmicin (30 mcg); VA:Vancomycin (30 mcg); T:Tetracycline(30 mcg); TOB: Tobramycin (10 mcg); AK: Amikacin (30 mcg). S:duyarlı, I: yarı duyarlı, R: dirençli

Çalışmamızda ampicilin antibiyotiğine karşı T3 ve T18 suşları duyarlı ve yarı duyarlıyken diğer bütün suşlar dirençli; T2, T12, T13, T17, T18 suşları ise Penisilin antibiyotiğine karşı dirençliyken diğer bütün suşların duyarlı olduğu bulunmuştur. Antibiyotiklere direnç suşlara göre değişmekle birlikte tüm suşlar için ampiciline direnç %91; teicoplanine direnç %59;

gentamicine direnç %36; netilmicine direnç %54; vankomisine direnç %64; tobramycine direnç %95; amikacine direnç %100 oranında gözlenmiştir.

Çalışmış olduğumuz gaita LAB ve probiyotik bazı bakterilerin antibiyotiklere karşı vermiş oldukları zonlara ait görsellere Şekil 4.3’de yer verilmiştir.



Şekil 4. 3: Gaita LAB antibiyotiklere karşı vermiş oldukları zonların görüntüsü

4.2.9. Gaita LAB’nin Otoagregasyon ve Koagregasyon Özelliklerinin Belirlenmesi

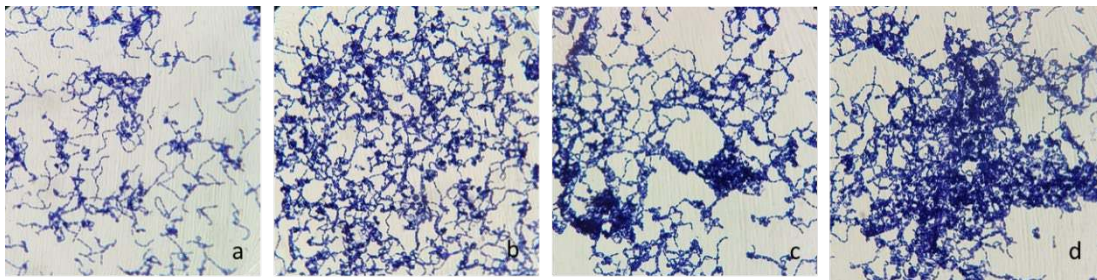
Bebeklerin gaita floralarından izole edilen bütün LAB’nin 1. saatten 4. saate % otoagregasyon değerleri Tablo 4.6’da verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi bütün suşlarda otoagregasyon yüzdeleri her saat artış göstermiştir. Çalışma sonucunda *L. paracasei* T22 suşunun %88.8 gibi oldukça yüksek bir oranda otoagregasyon kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük otoagregasyon kapasitesine sahip suşun ise %46.2 oranla *P. acidilactici* T9 suşu olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.8: Gaita LAB’nin % otoagregasyon değerleri.

Gaita LAB’nin % otoagregasyon değerleri				
Laktik asit bakterileri	1. saat	2. saat	3. saat	4. saat
<i>L. rhamnosus</i> T1	35.7	45.3	66.2	79.2

Tablo 4.8 (devam): Gaita LAB'nin % otoagregasyon değerleri.

<i>L. rhamnosus</i> T2	22.5	65.7	68.5	71.4
<i>L. rhamnosus</i> T3	54.2	70.0	72.0	78.0
<i>L. rhamnosus</i> T4	49.6	63.8	72.3	72.4
<i>L. rhamnosus</i> T5	49.5	73.4	81.6	81.8
<i>L. rhamnosus</i> T6	53.2	62.1	67.5	70.2
<i>L. reuteri</i> T7	45.9	60.0	62.5	65.0
<i>L. paracasei</i> T8	47.0	70.3	72.2	74.0
<i>P. acidilactici</i> T9	30.3	40.2	45.4	46.2
<i>L. rhamnosus</i> T10	44.1	56.4	58.7	72.6
<i>L. rhamnosus</i> T11	38.2	52.5	67.9	67.9
<i>L. reuteri</i> T12	37.5	60.9	70.7	70.7
<i>E. faecalis</i> T13	34.1	56.7	59.6	70.2
<i>L. rhamnosus</i> T14	10.8	56.8	63.6	68.1
<i>L. rhamnosus</i> T15	27.2	79.6	90.7	85.2
<i>L. gasseri</i> T16	44.5	63.6	67.2	69.0
<i>L. paracasei</i> T17	31.4	60.9	70.3	70.7
<i>L. rhamnosus</i> T18	39.0	56.8	68.8	70.6
<i>L. rhamnosus</i> T19	34.4	63.6	70.9	70.9
<i>L. rhamnosus</i> T20	44.5	53.6	63.4	63.6
<i>L. gasseri</i> T21	36.1	52.7	61.6	75.2
<i>L. paracasei</i> T22	44.5	63.4	84.6	88.8



Şekil 4.4: *L. rhamnosus* T2 suşunun sırasıyla 1., 2., 3. ve 4. Saatlerindeki otoagregasyonunun ışık mikroskopundaki görüntüleri.

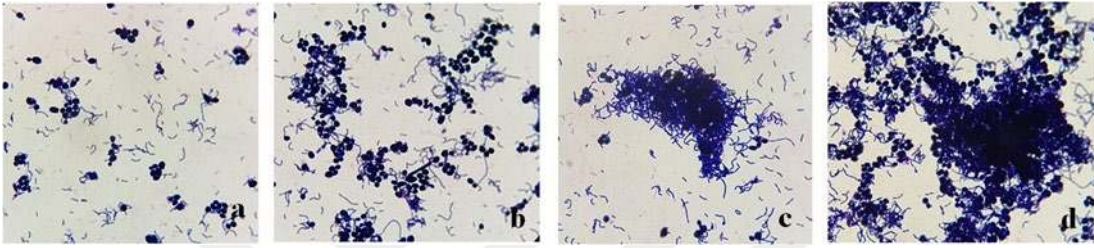
Gaita LAB'nin koagregasyon yeteneğini test etmek için *C. albicans* ATCC 10231, *E. coli* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 patojenleri kullanılmıştır. Çalışmamızda kullandığımız suşlar *C. albicans* ATCC 10231, *E. coli* ATCC 25922 patojenleriyle iyi koagregasyon gösterirken *P. aeruginosa* ATCC 27853 patojeni ile daha az koagregasyon göstermiştir. En iyi koagregasyon yeteneğine sahip suşlar *L. rhamnosus* T1, *L. paracasei* T22, *L. rhamnosus* T19 suşları olmuştur.

Tablo 4.9: Gaita LAB'nin çeşitli patojenlere karşı 4. saatin sonundaki % koagregasyon değerleri.

Laktik asit bakterileri	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>L. rhamnosus</i> T1	46.24	58.29	17.08
<i>L. rhamnosus</i> T2	35.36	36.21	18.21
<i>L. rhamnosus</i> T3	39.65	27.59	18.78
<i>L. rhamnosus</i> T4	42.89	29.65	18.52
<i>L. rhamnosus</i> T5	50.15	37.98	26.25
<i>L. rhamnosus</i> T6	48.73	38.22	24.16
<i>L. reuteri</i> T7	52.65	39.58	22.50
<i>L. paracasei</i> T8	43.96	38.53	35.18
<i>P. acidilactici</i> T9	38.42	45.98	29.89
<i>L. rhamnosus</i> T10	27.16	38.17	15.26
<i>L. rhamnosus</i> T11	48.20	36.32	23.15
<i>L. reuteri</i> T12	43.58	32.25	32.58
<i>E. faecalis</i> T13	39.35	39.63	31.17
<i>L. rhamnosus</i> T14	42.26	31.32	16.65
<i>L. rhamnosus</i> T15	45.36	42.11	35.69
<i>L. gasseri</i> T16	49.42	37.89	32.33
<i>L. paracasei</i> T17	35.06	36.47	29.56

Tablo 4.9: Gaita LAB'nin çeşitli patojenlere karşı 4. saatin sonundaki % koagregasyon değerleri.

<i>L. rhamnosus</i> T18	42.23	33.29	28.45
<i>L. rhamnosus</i> T19	49.50	45.64	32.16
<i>L. rhamnosus</i> T20	36.89	33.21	15.14
<i>L. gasseri</i> T21	42.56	41.39	38.59
<i>L. paracasei</i> T22	50.32	48.33	42.87



Şekil 4.5: *L. paracasei* T22 suşunun *C. albicans* ATCC 10231 patojeniyle yaptığı koagregasyonunun ışık mikroskopundaki görüntüleri.

4.2.10. Gaita LAB'nin Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antagonistik Aktivitesinin Belirlenmesi

LAB ve probiyotik bakterilerin izaolatlarının klinik olarak önemi olan patojenlere karşı vermiş oldukları antagonistik aktivitelerin belirlenmesi kuyucuk yöntemiyle yapılmıştır. Çalışmamızda kullanılan patojenler *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis*, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10231, *L. monocytogenes* ATCC 19111'dir. Kullanılan suşların patojenlere karşı gösterdiği zon miktarları Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Çalışmamızdaki suşların antagonistik aktivitelerini ölçmek için *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* 6538, *B. subtilis*, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10231, *L. monocytogenes* ATCC 19111 patojenleri kullanılmıştır.

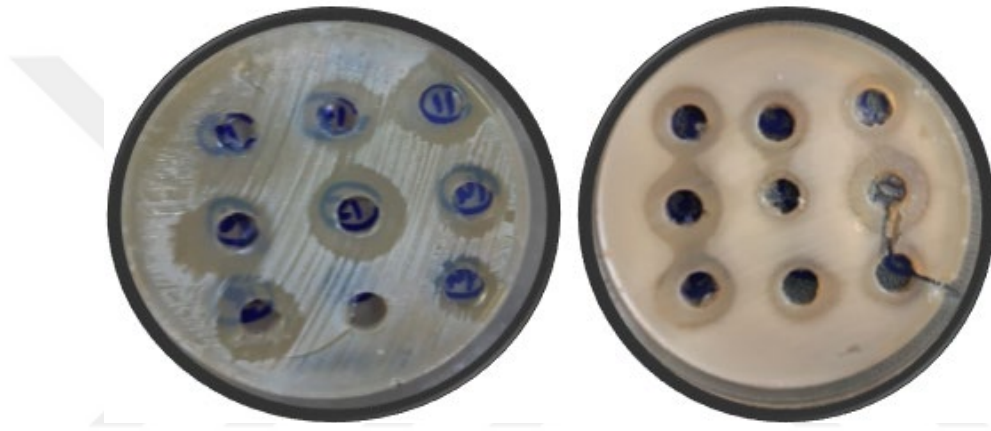
Tablo 4.10: Gaita LAB'nin Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antagonistik Aktivitesi (İnhibisyon zon çapı mm cinsinden belirtilmiştir).

	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111
T1	18	16	16	15	16	-
T2	16	18	18	-	17	12
T3	10	17	11	19	-	-
T4	14	12	15	-	17	11
T5	16	15	17	17	15	11
T6	14	19	17	16	16	12
T7	14	18	13	19	19	-
T8	16	15	15	15	18	-
T9	20	16	18	16	16	-
T10	20	15	17	18	21	13
T11	16	-	15	20	16	-
T12	12	-	15	13	12	11
T13	-	-	-	-	-	-
T14	16	-	13	14	20	13
T15	-	14	-	-	-	-
T16	12	18	18	-	26	12
T17	18	18	-	17	24	11
T18	15	16	13	18	20	10
T19	-	-	-	15	18	12
T20	16	15	16	18	20	11
T21	16	14	13	17	19	13
T22	16	14	15	14	20	10

Çalışmamızda %86,3 oranında en yüksek antagonistik aktivite *E. coli* ATCC 25922 ve *C. albicans* ATCC 10231 suşlarına karşı olmuştur. Gösterilen antagonistik aktivite suştan suşa göre farklılık göstermekle birlikte çalışmada kullandığımız suşların *S. aureus* ATCC 6538 patojen suşuna karşı %77; *B. subtilis* patojen suşuna karşı %82; *S. aureus* ATCC 25923

patojen suşuna karşı %77; *L. monocytogenes* ATCC 19111 patojen suşuna karşı %64 oranında antagonistik aktivite göstermiştir. Suşların patojen mikroorganizmalara karşı yapmış olduğu antagonistik aktivitelerin görüntülerinden bazıları Şekil 4.4.'te yer almaktadır.

Çalışmamızda kullanılan suşlardan T5, T6, T18, T20, T21 ve T22 suşları kullanılan tüm patojenlere karşı %100 antagonistik aktivite göstermiştir. T2, T4, T7, T8, T9 ,T12, T14, T16, T17 suşları %83 oranında antagonistik aktiviteye sahiptir. En düşük antagonistik aktiviteye sahip suş ise T13 suşudur.



Şekil 4.6: Bazı suşların *C. albicans* ATCC 10231 ve *S. aureus* ATCC 6538 suşlarına verdikleri zonlar.

4.2.11. Gaita LAB'nin Kolesterol Asimilasyon Kapasitelerinin Belirlenmesi

Sağlıklı bebeklerin gaitalarından elde edilmiş LAB ve probiyotik bakterilerin kolesterol asimilasyon yeteneklerinin araştırılması için Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvurmuş kandaki total kolesterol değerleri 250-300 mg/dL olan hastalardan toplanan serum örneklerinin son konsantrasyonları 100 mg/ml olacak şekilde %0,3 safra tuzu içeren MRS sıvı besiyerlerine eklenerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Suşların kolesterol giderimleri Tablo 4.7.'de gösterilmiştir

Tablo 4.11: Gaita LAB suşların kolesterol giderimleri.

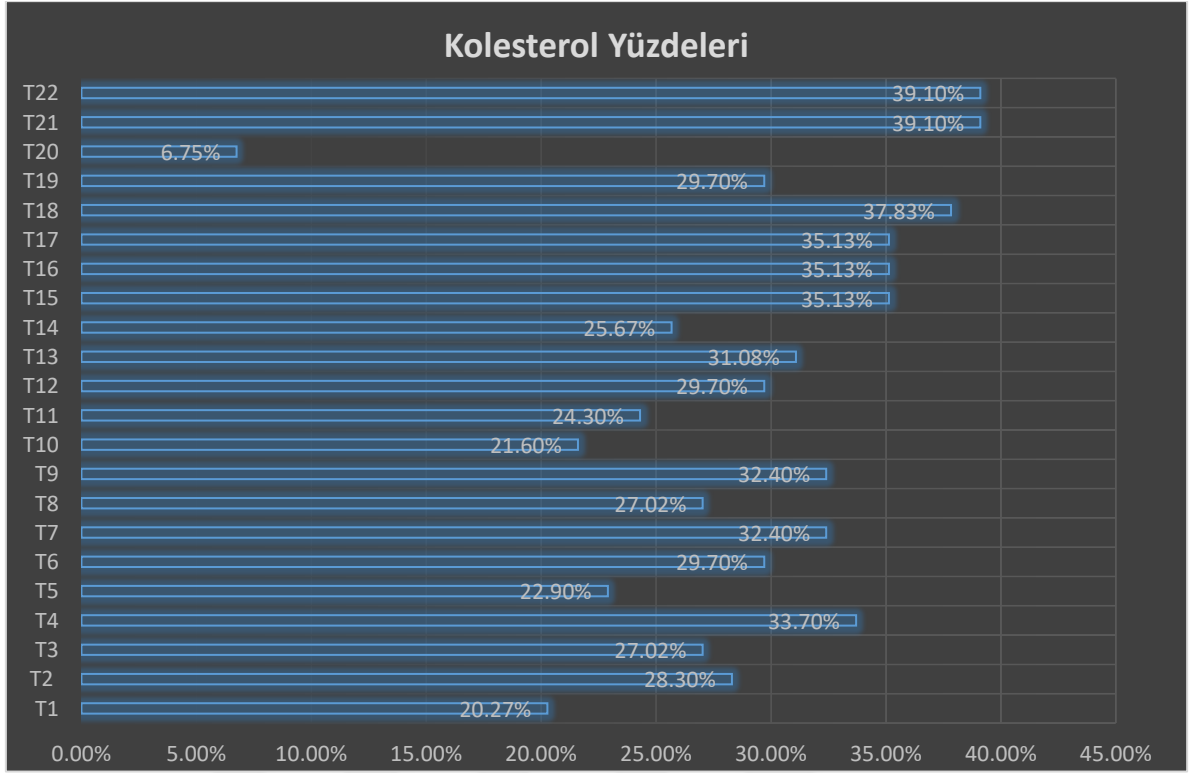
Suşlar	Kolesterol Oranı (mg/dL)	% Kolesterol Giderimi
Kontrol Değeri*	74	
T1	59	%20,27

Tablo 4.11 (devam): Gaita LAB suşların kolesterol giderimleri.

T2	53	%28,3
T3	54	%27,02
T4	49	%33,7
T5	57	%22,9
T6	52	%29,7
T7	50	%32,4
T8	54	%27,02
T9	50	%32,4
T10	58	%21,6
T11	56	%24,3
T12	52	%29,7
T13	51	%31,08
T14	55	%25,67
T15	48	%35,13
T16	48	%35,13
T17	48	%35,13
T18	46	%37,83
T19	52	%29,7
T20	69	%6,75
T21	45	%39,1
T22	46	%39,1

*Kolesterol giderim yüzdesinin hesaplandığı ilk kolesterol değeri

Çalışmamızda kullanılan suşlar arasında en fazla kolesterol asimilasyon kapasitesine sahip suş T21, T22 %39,1 oranla suşlarıdır. Bu suşları T18, T16, T17, T17, T4, T9, T13 suşları takip etmektedir. En az kolesterol asimilasyon kapasitesine sahip suş ise T20 suşudur.



Şekil 4. 4: Suşların kolesterol yüzdeleri.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğumdan hemen sonra bağırsak florasında *E. coli* ve *Streptococcus* türleri baskın olmasına rağmen yenidoğan, anne sütü aldıkça *E. coli*, *Streptococcus*, *Clostridia* bakterileri azalırken Bifidobakteriler artar. Anne sütünden kesilen bebekte yaşamının 2. yılının sonuna doğru erişkin benzeri mikroflora oluşur. Doğumdan sonra annenin aldığı besinler, probiyotik alıp almadığı, bebeğin ve annenin nasıl beslendiği, doğum şekli, bebeğin sağlık ve immünolojik durumu, GIS geçiş zamanı ve GIS PH'ı, stres gibi faktörler gibi bebeğin mikroflorasını oluşturan pek çok etmen vardır. Yenidoğanda ilk 6 ay anne sütü ile beslenenlerde bifidobakteriler baskınken mama ile beslenen bebeklerde *Enterobakter* türleri baskındır. Ancak 6. ayda Bifidobakteriler mama alanlarda da baskın hale gelmeye başlamakta ve 1 yılın sonunda ikisi benzer hale gelmektedir.⁸¹

En az 3 ay sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde 6. Ayda bakılan *Bifidobacterium* sayıları $1,8 \times 10^8$, anne sütü ile beslenmeyenlerin bifidobacterium sayıları $4,4 \times 10^8$; en az 3 ay anne sütü ile beslenenlerde *Lactobacillus/Enterococcus* sayıları $2,9 \times 10^8$, beslenmeyenlerde ise bu oran $1,8 \times 10^8$ 'dır.⁸²

Çalışmamızla benzer doğrultuda yapılan bir çalışmada 100 kolostrum anne sütü ve sadece anne sütüyle beslenen 3-30 günlük 50 bebekten 50 fekal örneği analiz edilmiştir. İzole edilen *Lactobacillus* suşları API 50 CHL ile tanımlanmıştır. *L. acidophilus* (%20), *L. acidophilus-3* (%10), *L. brevis* (%30), *L. casei* (%15) bakterileri kolostrumdan izole edilmiştir. Dışkıda ise *Lactobacillus brevis* (%41,2), *L. fermentum* (%11,8), *L. reuteri* (%5,9), *L. rhamnosus* (%11,8), *L. plantarum* (%29,4) saptanmıştır.⁸³

Benzer bir çalışmada anne sütü ve anne sütü ile beslenen bebek dışkısından *Bifidobakteriler* izole edilmiştir. (2 anne ve 2 erkek bebekten doğumdan sonraki 1. Gün-6. Aya kadar belirli aralıklarla örnek alınmıştır.) Örneklerden elde edilen 59 izolattan früktoz 6 fosfat fosfoketolaz enzim aktivite testiyle 31 tanesinin *Bifidobacterium*'a ait olduğu belirlenmiştir. Bunların 15 tanesinin *B. breve*, 11 tanesinin *B. bifidum*, 3 tanesinin *B. pseudocatenulatum*, 2 tanesinin *B. longum* olduğu görülmüştür.⁸⁴

Formül mamalarla beslenen (sadece veya anne sütüyle birlikte) bebeklerin mikrobiyotasının değerlendirildiği başka bir çalışmada da formül mamalarla beslenen bebekleri daha sık kolonize eden bakteri grupları *Enterococcus*, *C. coccoides*, *Atopobium cluster*, *B. vulgatus*, *B. longum subsp. longum* olduğu belirtilmiştir.⁸⁵ Anne sütüyle beslenen bebeklerde *E.coli*, *C.difficile*, *B.fragilis* türleri daha az ancak *Bifidobakteriler* özellikle *B.breve* ve *B. Longum* gibi bifidobakteriyel türler bebeklerde erken kolonizatörlerden olmakla birlikte *B. animalis subsp. lactis* yalnızca beslenme türüne bağlı olarak ortaya çıkmakta olup ortak bebek bağırsak mikroorganizması değildir.^{30,86}

Solis ve ark., 2009 yılında yaptıkları 20 anne- bebek çiftinde doğumun 1,10,30 ve 90. Günlerinde yaptıkları araştırmada yenidoğanların 1.günlerinde feçeslerinde *Enterococcus* ve *Streptococcus* en sık izole edilen (sırasıyla %31 ve %28) mikroorganizmalardır. Bunlar arasında *Enterococcus faecalis* ve *Streptococcus salivarius* ana türlerdir. Diğer 10, 30, 90.günler %42 ila %59 oranında en sık *Bifidobacterium*'a ait mikroorganizmalar ve ile *Streptokoklar*, *Laktobasiller*, *Enterokoklar*'dır. *Bifidobacterium longum subspecies*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus vestibularis*, *Lactobacillus gasseri*, *Enterococcus faecalis* izole edilmiştir.⁸⁷

Emzirilen bebekler tipik olarak bifidobakterilerin baskın olduğu bir mikrobiyotaya sahipken, formül mamalarla beslenen bebekler daha karmaşık bir mikrobiyotaya sahiptir. Katı besinlerle tanıştıktan sonra yavaş yavaş *Clostridium cluster IV* ve *XIV* gibi yetişkinlere benzer türlerle çeşitlenmeye devam eder.^{88,89}

Emzirilen bebeklerin mikrobiyotalarında *Bifidobakteriler*; formülle beslenen bebeklerde *Bacterioides* ve *C. coccoides* ve *Lactobacillus* gruplarının üyelerin belirgin şekilde yüksektir. 6 haftalık 606 yenidoğanda yapılan çalışmada tamamen anne sütüyle beslenenlerde bu oran %51,5; formülle beslenen %30,1; karma beslenenlerde %18,4' tür. Beslenme yönteminin bebek bağırsak mikrobiyotasının erken gelişimi üzerine önemli etkisi olduğunu gözlemlenmiştir. Anne sütü karma beslenmede bile bifidobakterilerle kolonize olurken anne sütü olmadığında *Bacterioides* ve *C. coccoides* üyeleri ve *Lactobacillus* gruplarıyla çeşitlenmiş bir mikrobiyota kurulduğu görülmüştür.⁹⁰ Sadece anne sütü alan 11-22 günlük bebekler ve sadece formül mamalarla beslenen 14-36 günlük bebeklerle yapılan çalışmada emzirilen yenidoğanlarda bifidobakteriler baskınken ardından gelen bakteri türleri *Bacterioides* (%11,85); *E.coli* (%2,94); *Atopobium* (%1,21), Laktik asit bakterileri (%0,55);

Streptokoklar (%0,07); *Stafilokoklar* (%0,01) olarak bulunmuştur. Formül ile beslenen bebeklerde *Bifidobacterium* sayıları düşerken (%31,17) *Bacterioides* (%28,73) ve *Atopobium* (%6,82) sayısı artmaktadır. Formül mama ile beslenen bebekler emzirilen bebeklere kıyasla mikrobiyal çeşitliliğe sahiptir.⁹¹

15 anne- bebek çiftinin çalışmaya alındığı bir araştırmada anne sütü ve bebek gaitaları izole edilmiş ve %97 oranında benzerlik saptanmıştır. *Bifidobacterium longum subsp. infantis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Enterococcus faecalis* izole edilmiştir. Çalışmada izole edilen gram pozitif bakterilerin anne sütü ve GI geçişinde sağkalımı ve patojenlerin asit inhibisyonunda çeşitlilik gösterirken bakteriyosin üretme yeteneklerinin kısıtlı olduğu görülmüştür.⁹²

Çalışmamızda 45 sağlıklı bebekten gaita örnekleri toplanmış, 21 adet bakteri izolatu değerlendirilmeye alınmıştır. Bu bakteri izolatlarının ait olduğu bebeklerin % 54,5'i sadece anne sütüyle; % 31,8'i ticari bebek mamasıyla beslenirken % 13,6'sı anne sütünün yanısıra bebek mamasıyla beslenmektedir. Sadece anne sütü alan bebeklerin gaitalarından izole edilen suşların %41,6'sı *L. rhamnosus*, % 16,6'sı *L. reuteri*, %25'i *L. paracasei*, %12,5'i *L. gasseri*, %12,5'i *P. acidilactici* olarak tanımlanmıştır. Sadece bebek mamasıyla beslenen bebeklerin gaitalarından izole edilen suşların %62,5'i *L. rhamnosus*, %12,5'i *L. paracasei*, %12,5'i *L. gasseri*, %12,5'i *E. faecalis*; anne sütü yanında bebek maması alan bebeklerin gaitalarından izole edilen suşların tamamı *L. rhamnosus* olarak belirlenmiştir. Çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda da laktik asit bakterilerine rastlanmıştır. Ancak sadece anne sütüyle beslenen bebeklerin gaitalarında mikrobiyolojik çeşitlilik daha fazladır.

Esin K (2011)⁹¹ yılında yapmış olduğu beslenme şeklinin dışkı üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada sadece anne sütüyle beslenen bebeklerin %83,6'sı hergün dışkılarıken anne sütüyle birlikte ek besin veya mama alan bebeklerin ise %59'u her gün dışkılamaktadır. Sadece anne sütüyle beslenen bebeklerin %53,8'inin dışkı kıvamı püre iken, anne sütüyle birlikte ek besin ve/veya mama ile beslenen bebeklerin %39,3'ün dışkı kıvamı püre ve %34,4'ünde beze geçen yumuşaktır.⁹³

Tunc vd. (2008)⁹⁴ yılında yapmış olduğu çalışmada da 0-4 aylık bebeklerde beslenme türü dışkı sıklığını etkilediği görülmüştür. Bu fark 6 aydan sonra ek besin verilmesiyle ortadan kalkmıştır. Sert dışkı sadece anne sütüyle beslenen bebeklerin %1,1'inde; formül mama ile beslenenlerde %9,2'sinde mevcuttur ve anne sütüyle beslenen bebeklerde dışkı daha yumuşaktır. Anne sütündeki inhibitör polipeptit, motilin, nörotensin ve vazoaaktif bağırsak

peptidi seviyelerinin midede artması ve anne sütünün proteinler ve sindirilmemiş oligasakkaritlerden zengin olmasıyla artan hacim, ozmolarite ve sonuçta artan dışkı miktarıyla açıklanabilir.⁹⁵

Çalışmamızda değerlendirmeye alınan bebeklerin hepsi hergün dışkılıyordu. Sadece anne sütü alan bebekler dışkılama sıklığı ortalama günde 4 kez iken sadece mama alan bebeklerin dışkılama sıklığı günde 3 kezdir. Anne sütü yanında mama alan bebeklerin dışkılama sıklığı ise günde 4 kez olarak ifade edilmiştir. Bu veri de daha önce yapılan çalışmaları destekler nitelikte anne sütü alan bebeklerin dışkılama sıklıklarının daha fazla olduğunu gösterir niteliktedir.

Yine anne sütü alan ve mama alan bebeklerin gaitalarının mikrobiyolojik olarak kıyaslandığı bir başka çalışmada çalışmamızda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Emzirilen ve formül mamalarla beslenen bebekler arasındaki en büyük fark mikrobiyolojik açıdan bifidobakterilerin tür bileşimi ve sayılarıdır. Özellikle bifidogenik faktörler, laktik asit ve bifidobakterilerin varlığı anne sütünün faydalarındadır.^{54,96,97} Yaşamın ilk 3 ayında sadece anne sütüyle beslenen bebeklerin toplam bakteri sayıları diğer beslenme türlerine göre daha düşük ancak *Staphylococcus* anne sütünden bebek bağırsağına aktarıldığından sayıca daha fazladır.⁹⁸ Emzirilen bebekler genellikle *E. coli*, *C. difficile* ve *B. fragilis* gibi patojenitesi yüksek olan bakterileri daha az barındırır.⁹⁹ Anne sütüyle beslenen bebekler bifidobakterilerin baskın olduğu bir mikrobiyotaya sahipken sadece formül mamalarla beslenen bebekler emzirilen bebeklerden daha fazla miktarda *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *C. difficile*, *Bacteroides* türleriyle kolonize olmaktadır.³⁰

Bir çalışmada 2 saat boyunca düşük Ph değerlerine maruz kaldıktan sonra hayatta kalma ve büyümeyi yeniden başlatma kapasiteleri değerlendirilen *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei* suşlarının %61'i pH =2.5'de 2 saat; %3,3'ü pH = 1.5'de inkübe edildikten sonra gelişmeye devam ettiği görülmüştür. Tüm suşlar 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra %1,5 safra tuzu varlığında hayatta kalabilmiştir. %12'si yüksek büyüme yeteneği, %20'si iyi bir büyüme yeteneği, %30'u düşük büyüme yeteneği gösterirken %38'inin ise büyüme göstermediği belirtilmiştir.¹⁰⁰

Kenya'nın geleneksel fermente gıdasından (ikii) elde edilmiş *L. rhamnosus* 19 suşunun pH =2.0'de canlılık oranları 3.saatin sonunda 7,29 log₁₀ cfu/ml'den 4,11 log₁₀ cfu/ml'ye düşmüştür. pH =2.5'de canlılık oranları 3.saatin sonunda 7,32 log₁₀ cfu/ml'den 7,26 log₁₀ cfu/ml'ye düşmüştür. *L. rhamnosus* 19 suşunun pH =2.0'de 3 saat bekletilmesinin ardından

%0,3 oranında safra tuzu eklenmiş olan MRS broth'da *L. rhamnosus* hayatta kalma oranı 3. saatin sonunda 3,85 log₁₀ cfu/ml'den 1,35 log₁₀ cfu/ml'ye düştükten sonra 48. saatin sonunda 3,85 log₁₀ cfu/ml'ye çıkmıştır. *L. rhamnosus* 19 suşunun pH =2.5'de 3 saat bekletilmesini takiben %0,3 safra tuzu içeren MRS Broth besiyerinde canlılık oranı 48. Saatin sonunda 4,30 log₁₀ cfu/ml'den 5,84 log₁₀ cfu/ml'ye düşmüştür.¹⁰¹

İnsan gaitasından izole edilen *L. rhamnosus* IMC 501 ve *L. paracasei* IMC 502 suşları düşük PH ve safra asitlerini iyi tolere etmiştir.¹⁰²

Sağlıklı insan gaitasından elde edilmiş simüle edilmiş koşullarında safra tuzlarına dirençli suşlarının hayatta kalmaları oranlarının değerlendirildiği bir çalışmada 53 suş izole edilmiştir. *L. casei* (28); *L. paracasei* (12); *Lactobacillus sp.* (10); *L.rhamnosus* (2); *L. paracasei sbsp. paracasei* (1); *E. faecalis* (9); *Streptococcus anginosus* (5); Kültürlenmemiş *Bifidobacteria* (2) ; *Enterococcus vaginalis* (1))

Safra tuzlarına karşı en dirençli suşlar %92,6 oranıyla *E. faecalis* CP58 başta olmak üzere *L.casei*, *S. anginosus*, kültürlenmemiş *Bifidobacterium sp.* suşları olmuştur. Çalışmada in vitro sindirim koşullarında safra tuzları, mide enzimlerine ve düşük pH koşullarına en iyi direnç gösteren suşlar *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacteriler*, *E. faecalis*, *S. anginosus* olduğu, insan bağırsak Caco-2 hücrelerine yapışma kapasitesi en yüksek suşun *E. faecalis* olduğu belirtilmiştir. *E. faecalis* suşu vancomycin, tetracycline' e duyarlı bulunmuştur.¹⁰³

Bir araştırmada bebek dışkısından izole edilen toplam 22 *Lactobacillus* suşu, düşük PH ve safra tuzlarına direnç ile birlikte probiyotik potansiyellerin değerlendirildiği çalışmada 8 izolat (*L.reuteri* 3M02, 3M03; *L. gasseri* 4M13, 4R22, 5R01, 5R02, 5R13; *L. rhamnosus* 4B15) asit (%99,1) ve safra tuzlarına (%99,9) yüksek toleranslıdır.¹⁰⁴ Asidik tuz çözeltilerinde (pH=2.0) bekletilen *P. acidilactici* suşunun miktarında belirgin bir düşüş olmadığı belirtilmiştir. (0. Saat 9,6532 cfu/ml; 90.dk 7,4771cfu/ml; 180. dk 6,8750 cfu/ml)¹⁰⁵

Kuzey Fransa'daki Roubaix hastanesinden alınan 6 donör bebek mekonyumundan 107 laktik asit bakteri izolatu izole edilmiştir. *E. faecalis* suşlarından bazıları 24 saatlik inkübasyon sonucunda 7,06g/l'ye kadar laktik asit üretmiştir.¹⁰⁶ Çalışmamızda mama alan bir bebekten elde edilen *E. faecalis* suşunun laktik asit miktarı 453,6 mg/dL bu sonucun altında laktik asit üretimi gerçekleşmiştir. Yaşları 3-47 hafta arasında değişen bebeklerden toplanan feçeslerde

L. paracasei subsp. *paracasei* (41), *L. fermentum* (24), *L. rhamnosus* (11), *L. casei* (17), *Lactobacillus* sp. (11) tespit edilmiş olup *Lactobacillus* izolatlarının 24 saatte inkübasyonu sonucunda laktik asit üretimi 1,145-3,179 g/L arasında olarak bildirilmiştir.¹⁰⁷

Yapılmış bir çalışmada vajinal sürüntülerden elde edilen ortak bakterilerden *L. rhamnosus* suşlarının üretmiş olduğu ortalama laktik asit miktarı 585 mg/dL; *L. paracasei* suşlarının üretmiş olduğu ortalama laktik asit miktarı 458 mg/dL; *P. acidilactici* suşlarının ortalama laktik asit miktarı 682 mg/dL olduğu görülmüştür.¹⁰⁸

Çalışmamızda laktik asit bakterilerinin ürettiği laktik asit miktarı 86,4-482,6 mg/dL arasındaydı. *L. rhamnosus* suşlarının ortalama laktik asit miktarı 360 mg/dL; *L. paracasei* suşlarının üretmiş olduğu ortalama laktik asit miktarı 309 mg/dL; *P. acidilactici* suşunun laktik asit miktarı ise 432 mg/dL olarak bulunmuştur.

Yaşları 3-47 hafta arasında değişen bebeklerden toplanan feçeslerde *L. paracasei* subsp. *paracasei* (41), *L. fermentum* (24), *L. rhamnosus* (11), *L. casei* (17), *Lactobacillus* sp. (11) tespit edilmiş olup bakteri suşlarının MRS Broth'da 24 saat inkübasyonu sonucu *L. fermentum* pH 3,90-4,11; *L. rhamnosus* 3,85-4,07; *L. casei* 3,72-3,96; *L. paracasei* subsp. *paracasei* 3,76-4,10 olarak bulunmuştur. *L. fermentum* suşları safra tuzu izolatlarına daha duyarlı, *L. casei* daha yüksek hidrofobisite özelliğine sahiptir.¹⁰⁷

Italian Castelmagno peynirinden izole edilen *L. paracasei* suşları 24 saatlik inkübasyondan sonra *L. paracasei* suşlarının ortalama pH değerleri de 3,87 olarak bulunmuştur.¹⁰⁹

Araştırmamızda izole edilen *L. rhamnosus* suşlarının ortalama pH değerleri 4,36; *L. reuteri* suşlarının ortalama pH değeri 4,04; *L. paracasei* suşlarının ortalama pH değeri 4,03; *L. gasseri* suşlarının ortalama pH değeri 3,9 olarak ölçülmüştür.

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonlarla savaşmak için kullanılan önemli bir araçtır. Bununla birlikte bakteriler zamanla antibiyotiklere karşı dirençle geliştirebilirler. Sonuç olarak onlarca yıllık antibiyotik kullanımı veya daha doğrusu yanlış kullanımı birçok modern antibiyotiğe bakteriyel dirençle sonuçlanmıştır. Antibiyotik direnci, bir zamanlar antibiyotikle kolayca tedavi edilen yaygın bakteriyel enfeksiyonlara sahip birçok insan için önemli tehlikelere neden olabilir. Birkaç on yıl boyunca antibiyotik direncinin seçimi ve yayılmasıyla ilgili çalışmalar esas olarak ilgili türlere odaklanmıştır. Son zamanlarda birçok araştırmacı, laktik asit bakterileri dahil olmak üzere kommensal bakterilerin, insan patojenlerinde bulunanlara direnç genlerinin rezervuarı olarak hareket edebileceğini

düşünmektedir. Bu bakterilerle ilgili ana tehdit direnç genlerinin rezervuarı olarak hareket edebileceğini düşünmektedir. Bu bakterilerle ilgili ana tehdit direnç genlerini patojenik bakterilere aktarabilmeleridir.¹¹⁰

Silajlardan izole edilen *P. acidilactici* ST3522BG suşu ampicilin, gentamicin, tobramycin, tetracycline, amikacin antibiyotiklerine karşı dirençliyen vancomycin (8 mm zon), penicilin (24 mm zon) antibiyotiklerine karşı duyarlı olarak gösterilmiştir.¹¹¹

P. acidilactici ile yapılmış bir başka çalışmada Kore'nin geleneksel fermente deniz ürünlerinden izole edilmiş *P. acidilactici* FS2 suşu, ampicilin, tetracycline antibiyotiklerine duyarlı olarak ifade edilmiştir.¹¹²

Çalışmamızda sadece anne sütü alan bebekten izole edilen *P. acilactici* suşu çalışmalar ile aynı doğrultuda penicilin'e ve teicoplanin'e duyarlıyken ampicilin, tobramycin, amikacin' e dirençliydi.

Başka bir çalışmada *P. acidilactici* için çeşitli antibiyotiklere karşı minimum inhibitör konsantrasyonlarını penicilin: 1.0 µgml; ampicilin: 1.0 µgml; vancomycin: 512.0 µgml; gentamycin 0.25 µgml; tetracycline: 64.0 µgml olarak bulmuşlardır.¹¹³

İnsan gaitasından elde edilen *L. rhamnosus*, *L. paracasei* suşları yüksek in vitro koşullarda vancomycin, colistin sulfate, oxalinic acid, gentamicin, oksalinik asit, kanamicine direnç göstermişlerdir.¹⁰⁰ Çalışmamızda mama ve/veya anne sütü alan bebeklerde ortak bakterilerden *L. rhamnosus*, *L. paracasei* suşları benzer şekilde vancomycin'e dirençliydi. Ancak gentamicin'e büyük ölçüde duyarlıydı.

Klinik olarak elde edilmiş *E. faecalis* izolatlarının çoğu gentamicin'e %77,9; tetracycline'e %72,9; ampicilin'e %5,1; vancomycin'e %3,4 oranında dirençli olduğu ifade edilmiştir.¹¹⁴

Fermente Türk gıdalarından elde edilmiş *E. faecalis*'in farklı suşlarının antibiyotik dirençlerinin değerlendirildiği çalışmada izolatların çoğunun test edilen antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte test edilen bazı enterokok suşları tetracycline'e %32; gentamycin'e %6; vancomycin'e karşı %9 oranında dirençli oldukları belirtilmiştir.¹¹⁵

Geleneksel Tunus Rigouta ve Testouri peynirlerinden izole edilen *E. faecalis* suşuna ait farklı türlerin tamamı ampicilin, vancomycin'e duyarlı; gentamicin' e dirençli olarak ifade edilmiştir.¹¹⁶

Çalışmamızda sadece mama alan bir bebekten izole edilen *E. faecalis* suşu çalışmada kullanılan bütün antibiyotiklere dirençliydi.

Anne sütünden izole edilen *L. gasseri* suşu gentamicin'e dirençli; ampicilin, penicilin, tetracycline'e duyarlı olarak bulunmuştur.¹¹⁷

Çalışmamızda sadece mama alan bir bebekten izole edilen *L. gasseri* suşu bu çalışmayı destekler şekilde gentamicin'e dirençli, penicilin'e tetracycline'e duyarlıyken farklı şekilde ampicilin'e dirençliydi.

İnsan gaitasından izole edilen *L. rhamnosus* ve *L. paracasei* suşlarının antimikrobiyal aktivite deneylerinde her iki suş da seçilmiş potansiyel zararlı mikroorganizmalara özellikle *C.albicans* ATCC 10231'a karşı inhibitör özellikler göstermiştir.¹⁰²

İnsan vajinasından izole edilen *L. rhamnosus* suşunun probiyotik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada *L. rhamnosus* suşunun patojenlerin ürettiği bakteriyosinlere (*E. coli*:39 mm; *S. aureus* 30 mm; *C. albicans* 20 mm) karşı antagonsitik etki göstermiştir.¹¹⁸

L. rhamnosus 19 suşunun *E. faecalis* NCTC 775 (20 mm zon), *S. aureus* NCTC 6571 (18 mm), *E. coli* NCTC 10418 (14 mm) patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.¹⁰¹

Yapılan çalışmada, yenidoğan bebek dışkısından 21 laktobasil suşu (*Lactobacillus rhamnosus* 7 suş; *L. paracaseis sp. paracasei* 4 suş; *L. buchneri* 2 suş; *L.brevis* 1 suş; *L.curvatus* 1 suş; *Lactobacillus sp.* 2 suş) izole edilmiş ve asit üretimi, antibiyotik dirençleri, H₂S üretimi ve antimikrobiyal aktiviteler açısından analiz edilmiştir. Antibakteriyelliği test etmek için *Bacillus cereus* FMC 19, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 2392, *S. aureus* ATCC 28213 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 patojenleri kullanılmıştır.¹¹⁹

Yaşları 3-47 hafta arasında değişen bebeklerden toplanan feçeslerde *L. paracasei subsp. paracasei* (41), *L. fermentum* (24), *L. rhamnosus* (11), *L.casei* (17), *Lactobacillus sp.* (11) tespit edilmiş olup *Lactobacillus* izolatlarının 24 saatte inkübasyonu sonucunda antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde en fazla *S. aureus*; en az *L. monocytogenes* ATCC 19111 üzerinde etkili olduğu görülmüştür.¹⁰⁷

Çalışmamız daha önce yapılan çalışmaları destekler nitelikte *L. rhamnosus* ve *L. paracasei* suşlarının neredeyse tamamı kullanılan bütün patojenlere (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus*

ATCC 6538, *B. subtilis*, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10231, *L. monocytogenes* ATCC 19111) en az *L. monocytogenes* ATCC 19111 patojenine olmak üzere antagonistik aktivite göstermiştir.

Kuzey Fransa'daki Roubaix hastanesinden alınan 6 donör bebek mekonyumundan 107 laktik asit bakteri izolatu izole edilmiştir. *E. faecalis* suşlarının *C. albicans* ATCC 10231, *S. cerevisiae* karşı inhibe edici özelliği bulunmazken *L. monocytogenes* ATCC 3512, *L. innocus* cp 103982, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 3386, *E. coli* CIPI 103982 patojen bakterilerine karşı antagonistik aktivite göstererek zon vermiştir.¹⁰⁶

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler *E. faecalis* suşu bu çalışmanın aksine *C. albicans* ATCC 10231, *L. monocytogenes* ATCC 19111, *B. subtilis*, *E. coli* ATCC 25922 patojenlerinin hiçbirine antagonistik aktivite göstermemiştir.

P. acidilactici 13 tarafından üretilen inhibitör madde, başlangıç pH =6 ve 37°C'de *L. monocytogenes*'e karşı 204,800 AU/ml (aktif ünitesi/ml) güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir.¹²⁰

Sağlıklı kadınların vajinalarından alınan sürüntülerle yapılan bir çalışmada elde edilen *P. acidilactici* suşu *E. coli*, *S. aureus* ATCC 29213 patojenlerine karşı inhibitör özellik göstermemiştir.¹⁰⁸

Çalışmamızda ise sadece anne sütü alan bir bebekten izole edilen *P. acidilactici* suşu kullandığımız patojenlerden sadece *L. monocytogenes* ATCC 19111 suşuna karşı antagonistik aktivite göstermemiştir.

Araştırmalar zengin kolesterol içeren diyetin tüketiminin yüksek kolesterol düzeyleri ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Artan kolesterol arzı hiperkolesterolemiye ve kardiyovasküler hastalığa neden olabilir.¹²¹ Son zamanlarda laktik asit bakterileri potansiyel kolesterol düşürücü olarak dikkat çekmiştir. Laktik asit bakterileri, başlıca laktobasiller ve bifidobakterilerinin antimikrobiyal ve antikanserojenik aktivitelerinin yanısıra antikolesterik aktiviteleri vardır.¹²²

Yüksek kolesterol, dünya çapında önemli bir ölüm nedeni olan Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilidir. Mevcut terapötik önlemler, yaşam tarzı değişiklikleri, diyet müdahaleleri, farmasötik ajanlar kolesterol seviyesini düzenlemek için yetersizdir. Probiyotik bakteriler, safra tuzu hidrolazı da dahil olmak üzere farklı mekanizmalarla 3- hidroksi- 3- metilglutaril

koenzim A enzimlerinin inhibisyonu seviyelerini ile kolesterol seviyesini düşürme potansiyeli göstermektedir.

Sağlıklı insan dışkılarından elde edilen bakterilerin kolesterol asimilasyonlarının değerlendirildiği çalışmada 24 saat inkübasyondan sonra 100 µg/l PEG 600 içeren MRS besiyerindek suşların kolesterol asimilasyon yüzdeleri *L. reuteri* NCIMB 11951 için %13,13 ± 3,61; *L. reuteri* NCIMB 701359 için %14,63 ± 1,14; *L. reuteri* NCIMB 702655 için %14,55 ± 1,45; *L. reuteri* NCIMB 701089 için %20,87 ± 2,44; *L. reuteri* NCIMB 702656 için %38,99 ± 4,87; *L. rhamnosus* ATCC 53103 GG %29,98 ± 4,03 olarak bildirilmiştir.¹²³

Bebek dışkısından izole edilen toplam 22 *Lactobacillus* suşu' nun değerlendirildiği çalışmada 8 izolatın (*L.reuteri* 3M02, 3M03; *L. gasseri* 4M13, 4R22, 5R01, 5R02, 5R13; *L. rhamnosus* 4B15) içerisinde özellikle 2 suş (*L. rhamnosus* 4B15 ve *L. gasseri* 4M13) önemli ölçüde daha yüksek anti-oksidasyon, α-glukozidaz aktivitesinin inhibisyonu ve kolesterol düşürme etkisini diğer türlere göre daha fazla göstermiştir.¹⁰⁴

Italian Castelmagno peynirinden izole edilen *L. paracasei* suşları 24 saatlik inkübasyondan sonra bazı suşlarda kolesterol asimilasyonu göstermezken diğer *L. paracasei* suşları ortalama %6,8 oranında kolesterol asimilasyonu gerçekleştirmişler.¹⁰⁹

Bir çalışmada *L. rhamnosus* suşu %13,21 kolesterol asimilasyon değeriyle *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *B. lactis*'e göre daha az kolesterol asimilasyonu gösterdiği ifade edilmiştir.¹²⁴

Çalışmamızda *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. gaseri*, *L. paracasei* suşları arasında en yüksek kolesterol giderimine sahip suşlar sadece anne sütü alan bebeklerden izole edilen *L. gasseri* (%39,1) ve *L. paracasei* (%39,1) suşlarıydı. *L. paracasei* suşunun ortalama kolesterol asimilasyon yüzdesi %28,5; *L. reuteri* suşunun ortalama kolesterol asimilasyon yüzdesi %31,05 olarak hesaplanmıştır. Bu değerlerle daha önceki çalışmalarda ortalama olarak daha yüksek kolesterol giderimi vardı.

İn vitro ortamda safra tuzu (sodyum taurokolat) varlığında kolesterolün ilk konsantrasyonu 100 µg/ml iken *P. acidilactici* LAB5 suşunun kolesterol giderme kapasitesi 62 ± 2.742 µg/ml olarak gösterilmiştir. Prebiyotik sorbitol, probiyotiklerde hücre büyümesi, bakteriyosin üretimi ve kolesterol asimilasyon kapasitesi gibi probiyotik parametreler üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. İsviçre albino farelerinde *P. acidilactici* LAB 5 suşunun 1 ay boyunca sorbitol ile sinbiyotik tedavisi plazma kolesterol seviyesini tedavi

uygulanmamış olanlara kıyasla ($208,76 \pm 20,27 \mu\text{g/ml}$), $176,34 \pm 12,66 \mu\text{g/ml}$ 'ye düşürmüştür.⁹³

Çalışmamızda anne sütü alan bebekten izole edilen *P. acidilactici* suşunun kolesterol asimilasyon yüzdesi %32,4 olarak yapılmış çalışmalardan farklı bir sonuçla karşılaşılmıştır.

L. rhamnosus suşlarının otoagregasyon ve koagregasyon düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada otoagregasyon kapasitelerinin %47-87 arasında olduğu; koagregasyon ölçümlerinin ise *E. coli* ile %36,%37 ve %39; *C. albicans* ATCC 10231 ile %52, %63 ve %52 olduğu belirtilmiştir. *L. gasseri* suşlarının otoagregasyon ve koagregasyon düzeylerinin araştırıldığı bir başka bir çalışmada ise %62, %37.5 ve %31.2 oranlarında otoagregasyon gösterdiği ifade edilmiştir.¹²⁵

Vajinal mikrofloradan elde edilmiş *P. acidilactici* suşunun otoagregasyonunun ölçüldüğü bir çalışmada %79.49 olarak bulunmuştur.¹²⁶

Kıray E. (2017)¹⁰⁸ yapmış olduğu çalışmada vajinal mikrofloradan elde ettiği *L. rhamnosus* suşlarının otoagregasyon değerleri 67.9-70.2 değerleri arasında; *L. paracasei* suşlarının otoagregasyon değerleri 70.9-79.2; *L. gasseri* suşunun otoagregasyon değeri 47.2; *P. acidilactici* suşlarının otoagregasyon değerleri 70.2-81.8 değerleri arasında ölçülmüştür. *L. paracasei* suşlarının *C. albicans* ATCC 10231 patojeni ile yapmış olduğu koagregasyon değerleri ortalaması 31.3; *E. coli* ATCC 25922 ile yapmış olduğu koagregasyon değerleri ortalaması 31.6; *P. aeruginosa* ATCC 27853 ile yapmış olduğu koagregasyon değerleri ortalaması 18.5 olarak ifade edilmiştir. *L. rhamnosus* suşlarının aynı patojenler ile yapmış olduğu koagregasyon değerleri sırasıyla 47.7; 38.3; 32.9; *L. gasseri* suşunun koagregasyon değerleri sırasıyla 24.17; 37.14; 14.23; *P. acidilactici* suşlarının 45.22-37.32-22.38 olarak belirtilmiştir.

Bizim yapmış olduğumu çalışmada ise daha önceki yapılan çalışmalar doğrultusunda sonuçlar elde edilmiştir. *L. rhamnosus* suşlarının otoagregasyon değerleri 63.6-85.2 değerleri arasında olup yüksek otoagregasyona sahip olduğu görülmüştür. En yüksek otoagregasyon özellik 74.0-88.8 değerlerine sahip *L. paracasei* suşuna aittir. *L. gasseri* suşunun otoagregasyon değeri 69.0-75.2; *P. acidilactici* suşunun otoagregasyon değeri 46.2 olarak suşlar arasında en düşük otoagregasyona sahip olarak ölçülmüştür. *C. albicans* ATCC 10231, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 patojenleri ile *L. rhamnosus* suşlarının yapmış olduğu koagregasyon değerleri sırasıyla 42.69; 37.89; 24.12 ; *L. paracasei*

suşlarının yapmış olduğu koagregasyon değerleri sırasıyla 43.11; 41.11; 35.87; *L. gasseri* suşlarının yapmış olduğu koagregasyon değerleri sırasıyla 45.99; 39.64; 35.46; *P. acidilactici* suşunun yapmış olduğu koagregasyon değeri sırasıyla 38.42; 45.98; 29.98 olarak ölçüm yapılmıştır.

Edindiğimiz sonuçlar ışığında izole edilen suşların pek çoğunun probiyotik potansiyele sahip olduğu özellikle *L. gasseri* T21 ve *L. paracasei* T22B suşları tek başına veya diğer *Lactobacillus* suşları ile birlikte preparatların üretiminde kullanılabilecek probiyotik suşlar olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda ticari bebek mamalarına prebiyotik ve probiyotik eklenmesiyle anne sütü ve bebek maması alan bebekler arasındaki fark azalmaktadır. Ancak su dahil bebeğin bütün ihtiyaçlarını tek başına karşılayan, ucuz, güvenilir, doğal besin olan anne sütü her zaman ilk seçenek olmalıdır. Suşların oral preparatlar olarak kullanımının klinik olarak iyi değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Bu açıdan çok sayıda bebek ile yapılan daha çok klinik araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1]. Metchnikoff E. Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. In: The prolongation of life: optimistic studies, England: Heinemann; 1907: 161–183.
- [2]. Koop Hoolihan L. Prophylactic and Therapeutic Uses of Probiotics. Journal of the American Dietetic Association. 2001; 101(2):229-41.
- [3]. Metchnikoff E. The Prolongation of Life, Nature 1908; 77: 289–290.
- [4]. Schrezenmeir J, Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition, The American Journal of Clinical Nutrition, 2001,73(2):361–364.
- [5]. Tissier H. Taxonomy and Ecology of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria* Microflora. 1984; 3:11–28.
- [6]. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. Science. 1965;147:747-748.
- [7]. Guarner F, Schaafsma GJ. Probiotics. Int J Food Microbiol. 1998;39:237-238.
- [8]. Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2006;49:128-148.
- [9]. Probiotische Mikroorganismenkulturen in Lebensmitteln. Abschlussbericht der Arbeitsgruppe "Probiotische Mikroorganismen in Lebensmitteln" am Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV), Berlin. Ernährungs-Umschau. 2000; 47:191-195
- [10]. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. The American Journal of Clinical Nutrition. 2001; 73(2): 444-450.
- [11]. Gorbach SL. Probiotics and gastrointestinal health. Am J Gastroenterol. 2000; 95:2–4.
- [12]. Saavedra J.M., Tschernia A., Human studies with probiotics and prebiotics: clinical implications. Br J Nutr Suppl. 2002;2:241-246.
- [13]. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JH. Overview of gut flora and probiotics. Int J Food Microbiol. 1997;41:85–101.
- [14]. Reuter G. Present and future of probiotics in Germany and in Central Europe. Biosci Microflora. 1997;16:43–51.
- [15]. Gibson GR, Roberfroid M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, J Nutr. 1995; 125(6):1401-12.

- [16]. Cherbur C. Inulin and Oligofructose In The Dietary Fiber Concept. *Brit J Nutr.* 2002;87:159–162.
- [17]. Nyman M. Fermentation and Bulking Capacity of Indigestible Carbohydrates: The Case of Inulin and Oligofructose. *Brit J Nutr.*2002; 87:163–168.
- [18]. Macfarlane S, Macfarlane GT, Cummings JH. Prebiotics In The Gastrointestinal Tract, *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24(5):701-14.
- [19]. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998;80:147–71
- [20]. Thursby E, Juge N. Introduction To The Human Gut Microbiota. *Biochem. J.* 2017;474(11): 1823–1836.
- [21]. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial Ecology: Human Gut Microbes Associated with Obesity. *Nature.* 2006;444:1022–1023.
- [22]. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of The Gut Microbiota In Nutrition and Health. *BMJ.* 2018;361(1):36–44
- [23]. Khosravi A, Mazmanian SK. Disruption of The Gut Microbiome as A Risk Factor for Microbial Infections. *Curr. Opin. Microbiol.* 2013;6(2):221–227
- [24]. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, ve ark. Enterotypes of The Human Gut Microbiome. *Nature* 2011;473:174–180.
- [25]. Matsuki T, Yahagi K, Mori H, Matsumuko H, Hara Taeko, Tajima S, et al. A Key Genetic Factor for Fucosyllactose Utilization Affects Infant Gut Microbiota Development. *Nature Communications.* 2016;7(11939):1-12
- [26]. Amenyogbe N, Kollmann T R, Ben-Othman R. Early-Life Host-Microbiome Interphase: The Key Frontier for Immune Development. *Front Pediatr.* 2017;5(111): 1-12
- [27]. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science.* 2014;345(6198):760–765.
- [28]. Mshvildadze M, Neu J. The infant intestinal microbiome: Friend or Foe?, *Early Hum Dev.* 2010; 86(1):67–71.
- [29]. Unger S, Stintzi A, Shah P, Mack D, O'Connor DL. Gut Microbiota of the Very-Low-Birth-Weight Infant, *Pediatric Research.* 2015; 77(1-2):205-213.
- [30]. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota In Early Infancy. *Pediatrics.* 2006;118(2):511–521.

- [31]. Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal Microflora In Healthy Infants Born by Different Methods of Delivery: Permanent Changes In Intestinal Flora After Cesarean Delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999;28(1):19–25.
- [32]. El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Saerens B, Santiago DL, et al. Identification and Genotyping of Bacteria From Paired Vaginal and Rectal Samples From Pregnant Women Indicates Similarity Between Vaginal and Rectal Microflora. *BMC Infect Dis*. 2009;9(167):1-14.
- [33]. Liu D, Yu J, Li L, Ai Q, Feng J, Song C, et al. Bacterial Community Structure Associated with Elective Cesarean Section Versus Vaginal Delivery In Chinese Newborns. *J Pediatr Gastr Nutr*. 2015;60(2):240–6.
- [34]. Makino H, Kushi A, Ishikawa E, Muylaert D, Kubota H, Sakai T, et al. Transmission of Intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* Strains From Mother To Infant, Determined by Multilocus Sequencing Typing and Amplified Fragment Length Polymorphism. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(19):6788–6793.
- [35]. McGuire S. International Food Policy Research Institute. 2014. Washington, DC: Global Nutrition Report 2014: Actions and Accountability to Accelerate the World's Progress on Nutrition. *Adv Nutr*. 2015;6(3):278-9.
- [36]. Gölbaşı Z, Koç G. Kadınların Postpartum İlk 6 Aylık Süredeki Emzirme Davranışları ve Prenatal Dönemdeki Emzirme Tutumunun Emzirme Davranışları Üzerindeki Etkisi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Dergisi. 2008;16–31.
- [37]. Di Benedetto MG, Bottanelli C, Cattaneo A, Pariante CM, Borsini A. Nutritional and Immunological Factors in Breast Milk: A Role In The Intergenerational Transmission From Maternal Psychopathology to Child Development, for Submission to *Journal of Brain, Behavior and Immunity*. 2020;85:57-68
- [38]. Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França VA, Horton S, Krasevec J. Lancet Breastfeeding Series Group 'Breastfeeding in the 21st Century: Epidemiology, Mechanisms and Lifelong Effect'. *Lancet*, 2016; 387(10017):475-90
- [39]. Köksal G, Gökmen H. Çocuk Hastalıklarında Beslenme Tedavisi Kitabı. 2. Baskı, Ankara. Hatiboğlu Yayınları; 2013:31-50
- [40]. Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. Cilt 1. 4. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri; 2010:211-213.
- [41]. Samur G. Anne Sütü, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 726. Ankara, Klasmat Matbaacılık; 2008: 19

- [42]. Tao N, Wu S, Kim J, Ann HJ, Hinde K, Power ML, et al. Evolutionary Glycomics: Characterization of Milk Oligosaccharides in Primates, Published in final edited form as: J Proteome Res. 2011;10(4): 1548–1557.
- [43]. Vendt N, Grunberg H, Tuure T, Malminiemi O, Wuolijoki E, Tillmann V, et al. Growth During the First 6 Months of Life in Infants Using Formula Enriched with Lactobacillus rhamnosus GG: Doubleblind, Randomized Trial. J Hum Nutr Diet. 2006;19(1):51-58.
- [44]. Underwood MA, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. Bifidobacterium longum subspecies infantis: Champion Colonizer of the Infant Gut, Pediatr Res. 2014;77(1-2):229-35.
- [45]. Gidrewicz D.A, Fenton T.R. A Systematic Review and Meta-analysis of the Nutrient Content of Preterm and Term Breast Milk, BMC Pediatr. 2014;14(216):1-14
- [46]. Kültürsay N., Bilgen H. Türkyılmaz C. Sağlıklı Term Bebeğin Beslenmesi Raporu. Türk Neonatoloji Derneği. 2014;1-46
- [47]. Horta BL, Loret de Mola C, Victoria CG. Long-term Consequences Of Breastfeeding On Cholesterol, Obesity, Systolic Blood Pressure And Type2 Diabetes: A Systematic Review And Metaanalysis. Acta Paediatrica. 2015;104(467):30-37.
- [48]. İpekçi MM. Diyarbakır’da 6 Yaşından Küçük Çocuğu Olan Annelerin Anne Sütü ve Ek Gıda Başlanmasına İlişkin Davranışları, Doktora Tezi. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Halk Sağlığı Anabilim Dalı. Diyarbakır 2010.
- [49]. Savino F, Liguori SA. Update on Breast Milk Hormones: Leptin, Ghrelin and Adiponectin, Clinical Nutrition. 2008;27(1):42-47.
- [50]. Hughes AD, Perez PF, Doré J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, et al. Potential Role of the Intestinal Microbiota of the Mother in Neonatal Immune Education, Proceedings of the Nutrition Society. 2010;69(3):407-15.
- [51]. Favier CF., Vaughan EE., De Vos W.M., Akkermans ADL., Molecular Monitoring of Succession of Bacterial Communities in Human Neonates. Microbial Ecology AEM. 2002;68(1):219-226.
- [52]. Sela DA, Mills DA. Nursing Our Microbiota: Molecular Linkages Between Bifidobacteria And Milk Oligosaccharides. Trends Microbiol. 2010;18(7):298–307.
- [53]. Tao N, Wu S, Kim J, An HJ, Hinde K, Power ML, et al. Evolutionary Glycomics: Characterization of Milk Oligosaccharides in Primates, Published in Final Edited Form as: J Proteome Res. 2011; 10(4): 1548–1557.

- [54]. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, et al. Human Milk is a Source of Lactic Acid Bacteria for the infant gut. *J Pediatr*, 2003;143(6):754-758.
- [55]. Hekkila MP., Saris PEJ., Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the Commensal Bacteria of Human Milk. *Journal of Applied Microbiol.* 2003;95(3):471–478.
- [56]. Martin R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Human Milk is a Source of Lactic Acid Bacteria for the Infant Gut. *J Pediatr*. 2003;143(6):754–758.
- [57]. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, ve ark. Functional Food Science and Gastrointestinal Physiology and Function. *Br J Nutr.* 1998;80(1)147–71
- [58]. Balmer SE, Wharton BA. Diet and Faecal Flora in the Newborn: Breast Milk and Infant Formula, *Archives of Disease in Childhood*, 1989;64(12):1672-1677.
- [59]. Rinninella E, ve ark, What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem Across Age, Environment, Diet and Diseases, *Microorganisms*, 2019;7(14):1-22.
- [60]. Young RJ, Huffman S. Probiotic use in children. *Journal of Pediatric Health Care* 2003;17(6):277-283
- [61]. Fernandez L., Langa S., Martin V., Maldonado A., Jimenez E, Martin R, Rodriguez J M., The human milk microbiota: Origin and Potential Roles in Health and Disease, *Pharmacological Research.* 2013;69(1):1-10
- [62]. Vandenplas Y, De Greef E, and Veereman G., Prebiotics in Infant Formula, *Gut Microbes* 2014;5(6):681-687.
- [63]. Bode L. Human Milk Oligosaccharides: Every Baby Needs A Sugar Mama, *Glycobiology*, 2012;22(9):1147–62.
- [64]. Alm B, Erdes L, Mollborg P, ve ark. Neonatal Antibiotic Treatment is A Risk Factor for Early Wheezing, *Pediatrics.* 2008;121(4):697–702.
- [65]. Altinkaynak S, Selimoglu MA, Turgut A, Kilicaslan B, Ertekin V, Breast-feeding Duration and Childhood Acute Leukemia and Lymphomas in A Sample of Turkish Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;42(5):568-72.
- [66]. Massachusetts, Ip S., Chung M., Raman G., Chew P., Magula N., DeVine D, M.Litt, Trikalinos T, Lau J, Breastfeeding and Maternal and Infant Health Outcomes in Developed Countries, Evidence Report/Technology Assessment Number 153, 2007.
- [67]. EURODIAB Substudy 2 Study Group, Rapid early growth is associated with increased risk of childhood type 1 diabetes in various European populations, *Diabetes Care*, 25(10):1755-60, 2002.

- [68]. Fernandez- Twinn DS, Ozanne SE, Mechanisms by which Poor Early Growth Programs Type- 2 Diabetes- Obesity and the Metabolic Syndrome, *Physiol Behav.* 2006;88(3):234-243.
- [69]. Ozarda Ilcol Y, Hizli B, Active and total ghrelin concentrations increase in breast milk during lactation, *Acta Pediatrica Nurturing The Child.* 2007;96(11): 1632-1639
- [70]. Global Strategy For Infant And Young Child Feeding WHO, <https://www.who.int/nutrition/publications/infantfeeding/9241562218/en/>
- [71]. Karataş Z., Anne sütü ve Formül Mama İle Beslenen Sağlıklı Term Bebeklerde Ghrelin ve Leptin Düzeyleri İle Anne Sütündeki Ghrelin, Leptin Ve Yağ Düzeylerinin Bebeklerin Büyümesi Üzerine Etkileri, *Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı.* Eskişehir. 2008.
- [72]. Arda DB. 0-2 Yaş Çocuklarda Anne Sütü İle Beslenme Süresinin Enfeksiyon Sıklığı Üzerine Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı.* İstanbul. 2018
- [73]. Öztürk Y, Yiş U, Büyükgebiz B. Erken Süt Çocukluğu Döneminde Beslenmenin, Büyüme Ve Dışkılama Özellikleri Üzerine Etkisi. 2007;21(1):25-33
- [74]. Donovan S, Role of human milk components in gastrointestinal development: Current knowledge and future NEEDS, *The Journal of Pediatrics,* 2006;149(5):49-61.
- [75]. Goldman AS, Modulation of the Gastrointestinal Tract of Infants by Human Milk. Interfaces and Interactions. An Evolutionary Perspective, *J Nutr.* 2000;130(2):426-431.
- [76]. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The Mode of Delivery Affects the Diversity and Colonization Pattern of the Gut Microbiota During the First Year of Infants' Life: A Systematic Review, *BMC Gastroenterology.* 2016;16(86):2-12.
- [77]. Smith Emily R, Hurt L, Chowdhury R. Delayed Breastfeeding Initiation and Infant Survival: A Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS ONE,* 2017;12(7):1-16.
- [78]. Thompson J, Breastfeeding: Benefits and Implications. 2005;2:218-9.
- [79]. Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H. Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları. *TAF Preventive Medicine Bulltein* 2014;13(5):421-426
- [80]. Özcan N, Ezin Ö, Akpolat N, Bozdağ H, Mete M, Gül K. Klinik örneklerde saptanan *Candida* türlerinin MALDI-TOF MS ile tiplendirilmesi. 2016;43(3):390-394
- [81]. Caicedo R.A, Schanler R.J, Li N, Neu J. The Developing Intestinal Ecosystem: Implications for the Neonate, *Pediatr Resource.* 2005;58(4):625-8.

- [82]. Rinne E, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Probiyotikler ve Anne Sütünün Bifidobakterium ve Laktobasillus/Enterokokkus Mikrobiyoçevresi İle Humoral İmmün Cevaplar Üzerine Etkisi, The Journal of Pediatrics. 2005;1(4):277-282
- [83]. Ozgun D., Cingilli Vural H., Identification of Lactobacillus Strains Isolated from Faecal Specimens of Babies and Human Milk Colostrum by API 50 CHL System, Journal of Medical Genetics and Genomics.2011;3(3):46-49.
- [84]. Alp G., *Bifidobacterium* Cinsi Bakterilerin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 2008
- [85]. Martin R, Makino H, Cetinyurek Yavuz A ve ark. Early-Life Events, Including Mode of Delivery and Type of Feeding, Siblings and Gender, Shape the Developing Gut Microbiota, PLoS One. 2016;11(6):1-30
- [86]. Underwood MA, Bruce German J, Lebrilla CB, Mills DA, *Bifidobacterium longum subspecies infantis*: Champion Colonizer of the Infant Gut, Pediatr Res. 2015;77(1-2): 229–235.
- [87]. Solís G, de Los Reyes-Gavilan CG, Fernández N, Margolles A, Gueimonde M, Establishment and Development of Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacteria* Microbiota in Breast Milk and the Infant Gut, Anaerobe. 2010;16(3):307-10.
- [88]. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, ve ark. Succession of Microbial Consortia in the Developing Infant Gut Microbiome. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2011;108(1):4578–85.
- [89]. Yatsunencko T, Rey F.E, Manary M.J ve ark. Human Gut Microbiome Viewed Across Age and Geography. Nature. 2012;486(7402):222–7.
- [90]. Fallani M, Young D, Scott J, ve ark., Intestinal Microbiota of 6-week-old Infants Across Europe: Geographic Influence Beyond Delivery Mode, Breast-feeding, and Antibiotics. JPGN 2010;51(1):77-84
- [91]. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling G W. Microbiota Profile in Feces of Breast- and Formula-Fed Newborns by Using Fluorescence in Situ Hybridization (FISH). Anaerobe. 2011;17(6):78-482.
- [92]. Kozak K, Charbonneau D, Sanozky-Dawes R, Klaenhammer T. Characterization of Bacterial Isolates from the Microbiota of Mothers' Breast Milk and Their Infants. Gut Microbes. 2015;6(6):341-351.

- [93]. Esin K, 0-6 Aylık Bebeklerde Anne Sütü İle Beslenmenin Büyüme ve Dışkılamaya Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı Çocuk Beslenmesi Programı, İstanbul, 2011.
- [94]. Tunc VT, Camurdan AD, İlhan MN, Sahin F, Beyazova U, Factors associated with defecation patterns in 0-24-month-old children, *Eur J Pediatr.* 2008;167(12):1357-62.
- [95]. Lucas A, Sarson DL, Blackburn AM, Adrian TE, Aynsley-Green A, Bloom SR, Breast vs bottle: endocrine responses are different with formula feeding, *Lancet.* 1980;14;1(8181):1267-9.
- [96]. Martín R, Jiménez E, Heilig H, ve ark. Isolation of *Bifidobacteria* from breast milk and Assessment of the Bifidobacterial Population by PCR-DGGE and qRTi-PCR. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(4):965-969
- [97]. Gueimonde, M., Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast Milk: A Source of *Bifidobacteria* for Infant Gut Development and Maturation? *Neonatology.* 2007;92(1):64-66
- [98]. Jimenez, E., Delgado, S., Maldonado A, ve ark. *Staphylococcus epidermidis*: A Differential Trait of the Fecal Microbiota of Breast-fed Infants. *BMC Microbiol;* 2008;8(143):1-11
- [99]. Wall, R., Ross RP, Ryan CA, ve ark. Role of Gut Microbiota in Early Infant Development, *Clinical Medicine Pediatr.* 2009;3:45–54.
- [100]. Reale, A., Di Renzo, T., Rossi, F., Zotta T., Lacumin, L., Preziuso, M., Parente, E., Sorrentino, E., Coppola, R., 2015, Tolerance of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* strains to stress factors encountered in food processing and in the gastro-intestinal tract, *LWT - Food Science and Technology*, 60 (2), 721-728.
- [101]. Kalui, M.C., Mathara, J.M., Kutima, P.M., Kiiyuka, C., Wongo, L.E., 2009, Functional characteristics of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* from Ikii, A Kenyan Traditional Fermented Maize Porridge, *African Journal of Biotechnology*, 8 (18), 4363-4373.
- [102]. Verdenelli, M.C., Ghelfi, F., Silvi, S., Orpianesi, C., Cecchini, C., Cresci, A., 2009, Probiotic Properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* Isolated from Human Faeces, *Eur J Nutr*, 48, 355–363.
- [103]. Nueno- Palop, C., Narbad A., 2011, Probiotic Assessment of *Enterococcus faecalis* CP58 Isolated from Human Gut, *International Journal of Food Microbiology*, 145(2-3), 390-394.

- [104]. Oh, N.S., Joung, JY., Lee, JY., Kim, Y., 2018, Probiotic and Anti-inflammatory Potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces, PLOS ONE, 13 (2), 1-15.
- [105]. Mandal, V, Sen S.K., Mandal, N.C., 2009, Effect of Prebiotics on Bacteriocin Production and Cholesterol Lowering Activity of *Pediococcus acidilactici* LAB 5, World J Microbiol Biotechno, 25, 1837-1847.
- [106]. Al Atya, A.K., Drider- Hadiouche, K., Ravallec, R., Silvain, A., Vachee, A., Drider, D., 2015, Probiotic Potential of *Enterococcus faecalis* strains isolated from meconium, Frontiers in Microbiology, 6 (227), 1-9.
- [107]. Tokatlı, Demirok N. 2014, Bebeklerden İzole Edilen *Lactobacillus* spp.'nin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [108]. Kıray E, 2017, İnsan Kaynaklı Vajen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- [109]. Belviso, S., Giordano, M., Dolci, P., Zeppa, G., 2009, In Vitro Cholesterol-lowering Activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* Strains Isolated from the Italian Castelmagno PDO Cheese, Dairy Science Technology, 89 (2), 169-176.
- [110]. Marthur, S., Singh R., 2005, Antibiotic Resistance in Food Lactic Acid Bacteria, Int J Food Microbiol, 105 (3), 281-295
- [111]. Fugaban J.I.I., Vazquez Bucheli, J.E., Kim, B., Holzapfel, W.H., Todorov, S.D., 2021, Safety and Beneficial Properties of Bacteriocinogenic *Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus* Isolated from Silage, Lett Appl Microbiol, 73 (6), 725-734.
- [112]. Jan, W.J., Kim, C.E., Hyeon Jeon, M., Jeong Lee, S., Lee, J.M., Woo Lee, E., Hasan, T., 2021, Characterization of *Pediococcus acidilactici* FS2 Isolated from Korean Traditional Fermented Seafood and its Blood Cholesterol Reduction Effect in Mice, Journal of Functional Foods, 87, 1-81.
- [113]. Albano, H., Pinho, C., Leite D., Barbosa, J., Silva, J., Carneiro, L., Magalhães, R., Hogg, T., Teixeira P., Evaluation of A Bacteriocin-producing Strain of *Pediococcus acidilactici* as A Biopreservative for “Alheira”, A Fermented Meat Sausage, Food Control, 20 (8), 764-770.

- [114]. Rathnayake, I.U., Hargreaves, M., Huygens, F., Antibiotic Resistance and Virulence Traits in Clinical and Environmental *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolates, *Syst Appl Microbiol*, 35 (2), 326-333.
- [115]. Toğay, S.O., Keskin, A.C., Açıık, L., Temiz, A., 2010, Virulence Genes, Antibiotic Resistance and Plasmid Profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from Naturally Fermented Turkish Foods, *J Appl Microbiol*, 109 (3), 1084-1092.
- [116]. Baccouri, O., Ben Farhat, L., Zébré, A., Zimmermann, K., Cambrone, M., Barreau, M., Maillot, O., Rincé, I., Muller, C., Nejib M., Marzouki, M.N., Feuilleux, M., Abidi F., and Connil, N., Probiotic Potential and Safety Evaluation of *Enterococcus faecalis* OB14 and OB15, Isolated From Traditional Tunisian Testouri Cheese and Rigouta, Using Physiological and Genomic Analysis, *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10 (881), 1-15.
- [117]. Martín, R., Olivares, M., Marín, M.L., Fernández, L., Xaus, J., Rodríguez, J.M., 2005, Probiotic Potential of 3 Lactobacilli Strains Isolated From Breast Milk, *Journal of Human Lactation*, 21 (11), 8-17.
- [118]. Pascual, L.M., Daniele, M.B., Ruiz, F., Giordano W., Pájaro C., Berberis, L., 2008, *J Gen Appl Microbiol*, 54 (3), 141-148.
- [119]. Arici, M., Bilgin, B., Sagdic, O., Ozdemir, C., Some Characteristics of *Lactobacillus* Isolates from Infant Faeces, *Food Microbiology*. 2004;21(1):19-24.
- [120]. Altuntas, E.G., Cosansu, S., Ayhan K., Some Growth Parameters and Antimicrobial Activity of A Bacteriocin-producing Strain *Pediococcus acidilactici* 13, *International Journal of Food Microbiology*, 141 (1-2), 28-31.
- [121]. Anderson, J.W and Gilliland SE, 1999, Effect of Fermented Milk (Yogurt) Containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on Serum Cholesterol in Hypercholesterolemic Humans. *J Am Coll Nutr* 18, 43–50.
- [122]. Chou, L.S., and Weimer, B., 1999, Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*, *J Dairy Sci*, 82, 23–31.
- [123]. Tomaro-Duchesneau, C., Jones, M.L., Shah, D., Jain, P., Saha, S. and Parakash S., 2014, Cholesterol Assimilation by *Lactobacillus* Probiotic Bacteria: An In Vitro Investigation, *Biomed Research International*, 1-9.
- [124]. Castorena-Alba, M.M., Vázquez-Rodríguez, J.A., Cabanillas Lomelí, M.L., González-Martínez, B.E., 2017, Cholesterol Assimilation, Acid and Bile Survival of Probiotic Bacteria Isolated from Food and Reference Strains, *CyTA - Journal of Food*, 16 (1), 36-41.

- [125]. Pithva, S.; Shekh, S.; Dave, J.; Rajiv, B.; Vyas, M. *Probiotic Attributes of Autochthonous Lactobacillus rhamnosus Strains of Human Origin*, *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 173, 259–277.
- [126]. Eryılmaz, F. T. *Vajinal Sekresyondan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerine Ait Bazı Suşların Potansiyel Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi*, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2011.



7. EKLER

EK 1. BESİYERLERİNİN KİMYASAL BİLEŞİMLERİ

MRS (deMan Rogosa Sharpe) agar besiyerinin kimyasal bileşeni

Bileşen	Miktar (g/L)
Kazein pepton	10 g
Et ekstraktı	10 g
Maya ekstraktı	4 g
D(+) Glukoz	20 g
K ₂ HPO ₄	2 g
di-Ammonium hydrogen citrate	2 g
MgSO ₄	0,2 g
MnSO ₄	0,04 g
Tween 80	1 g
Sodyum asetat	5 g
Agar-agar	14 g
pH 5,7±0,2 (sterilizasyondan önce	

TSB (Tryptic Soy Broth)besiyerinin kimyasal bileşeni

Bileşen	Miktar (g/L)
Kazein pepton	17 g
Soya pepton	3 g
Glukoz	2,5 g
NaCl	5 g
K ₂ HPO ₄	2,5 g
pH 7.3 ±0,2 (sterilizasyondan önce)	

Gram Boyamada kullanılan çözeltilerin içerikleri Kristal Violet stok çözeltisi

Kristal Violet	1g
Etanol	%95
dH ₂ O	100 ml'ye tamamlanır
Bazik Fuksin stok çözeltisi	
Bazik fuksin	3g
Etanol	%95
dH ₂ O	100 ml'ye tamamlanır

EK 2. HASTA BİLGİ FORMU

Anne Sütü Alan ve Almayan Bebeklerde Lactobacillus spp. Bakterilerinin Araştırılması ve Bazı Probiyotik Karakterlerinin Belirlenmesi İsimli Araştırma için Gaita Örneği Almadan Önce Yanıtlanması Gereken Sorular:

1. Bebeğin kaç haftalık olduğunu belirtiniz.

.....

2. Bebeğin doğum şekli nedir?

Normal vajinal doğum ()

Sezeryan doğum ()

3. Bebek doğduğunda kaç haftalıktı?

.....

4. Bebeğin doğum ağırlığı ne kadar?

.....

5. Bebeğin son 3 ayda probiyotik takviyesi kullanımı var mı?

.....

6. Bebek son 3 ayda antibiyotik tedavisi aldı mı?

EVET ()

HAYIR ()

7. Bebeğin daha önce herhangi bir sağlık sorunu nedeniyle hastanede yatışı var mı?

EVET ()

HAYIR ()

8. Bebek anne sütü alıyor mu?

EVET ()

HAYIR ()

9. Aşağıdaki seçeneklerden uygun olanı işaretleyiniz.

Sadece anne sütü alıyor. ()

Anne sütü almıyor. Sadece bebek maması alıyor.()

Anne sütü almıyor. Sadece ek besin alıyor. ()

Anne sütünün yanısıra bebek maması ve ek besin alıyor. ()

Anne sütünün yanısıra ek besin tüketiyor.

Anne sütünün yanısıra hem bebek maması hem de ek besin tüketiyor. ()

10. Anne sütü haricinde ek besin veya mama tüketinmi varsa hangi mama olduğunu belirtiniz.

.....

11. Bebeğin dışkı sıklığını belirtiniz. (sayı/gün)

.....



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Anne Sütü Alan ve Almayan Bebeklerde Lactobacillus spp. Bakterilerinin Araştırılması ve Bazı Probiyotik Karakterlerin Belirlenmesi"
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Bağbaşı Yerleşkesi Merkez/KIRŞEHİR
	TELEFON	0386 280 3924
	FAKS	0386 280 5007
	E-POSTA	tipetikkurul@ahievran.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırşehir			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gölemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
		Diğer ise belirtiniz: Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Sayfa 1/3

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Raşit KILIÇ
İmza:

Not: Etik kurulu başkanının, sınıfı yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Anne Sütü Alan ve Almayan Bebeklerde Lactobacillus spp. Bakterilerinin Araştırılması ve Bazı Probiyotik Karakterlerin Belirlenmesi"		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	17.09.2019	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	02.09.2019	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	SIGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2019-16/165	Tarih: 24/09/2019		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, toplantı yeter sayısı sağlandığı için katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.			

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Raşit KILIÇ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Sayfa 2/3

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Anne Sütü Alan ve Almayan Bebeklerde Lactobacillus spp. Bakterilerinin Araştırılması ve Bazı Probiyotik Karakterlerin Belirlenmesi"
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Raşit KILIÇ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç. Dr. Raşit KILIÇ	Göz Hastalıkları	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Recai DAĞLI	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Dilek KUZAY	Fizyoloji	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Gülhan ÖNLÜ	Tıbbi Farmakoloji	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Fatma ÇELİK	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Fatmanur Aybala KOÇAK	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk ELMAS	Deri ve Zührevi Hastalıklar	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Arş. Gör. Dr. Naime Meriç KONAR	Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi	Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzm. Dr. Uğur GÖNÜL	Halk Sağlığı	Petlas A.Ş.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzm. Dr. Servet Uğur ÇELEK	Aile Hekimi	Neşet Ertaş Halk Sağlığı Merkezi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzm. Dr. Aysu YETİŞ	Nöroloji	Ahi Evran Ün. Eğitim ve Araş. Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Öğr. Gör. Murat TURPÇU	Hukuk	Ahi Evran Ün. Sosyal Bilimler MYO	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
V.H.K.İ Yasin KILIÇ	Memur	Ahi Evran Ün. TÖMER Merkezi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Raşit KILIÇ

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer olmadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Sayfa 3/3



T.C.
AMASYA VALİLİĞİ
İl Sağlık Müdürlüğü



Sayı : E-68724985-044
Konu : Tuğçe MUSLU ATA

Sayın Tuğçe MUSLU ATA
(Amasya Üniversitesi Sağlık Kültür Spor Dairesi Başkanlığı)

İlgi : 08/03/2021 tarihli ve 91734550 sayılı dilekçeniz.

Müdürlüğümüze vermiş olduğunuz "Anne Sütü Alan ve Almayan Bebeklerde Lactobacillus spp. Bakterilerinin Araştırılması ve Bazı Probiyotik Karakterlerin Belirlenmesi" konulu çalışmanız 31.03.2021 tarihinde Bilimsel Araştırma Danışma kurulu tarafından değerlendirilerek uygun görülmüştür.

Bilgilerinize sunulur.

Dr. Öner NERGİZ
İl Sağlık Müdürü

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu: 65d3d47e-d5d7-4500-80c9-7ab149101830 — Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/saglik-bakanligi-cbys>
S.B. Amasya İl Sağlık Müdürlüğü Eğitim ve Organizasyon Birimi
Fethiye Mah. Çelebi Mehmet Cad. No. 10/1/05100 Amasya-Merkez
Telefon: 0 358 218 40 17 Faks No:
e-Posta: nagihan.kose@saglik.gov.tr İnternet Adresi: nagihan.kose@saglik.gov.tr
Bilgi için: Nagihan KÖSE
Veri Hazırlama ve Kontrol İşlt.
Telefon No: (0 358) 218 12 04



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Tuğçe MUSLU ÇAĞAL
Uyruğu	T.C.

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Gümüşhane Üniversitesi
Fakülte	Sağlık Yüksekokulu
Bölümü	Beslenme ve Diyetetik
Mezuniyet Yılı	2014