



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ANNE SÜTÜ VE YENİDOĞAN BAĞIRSAK
FLORASININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE
TESPİTİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÜL GÜNER NAR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Münevver KAYNAK TÜRKMEN

AYDIN-2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ANNE SÜTÜ VE YENİDOĞAN BAĞIRSAK
FLORASININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE
TESPİTİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÜL GÜNER NAR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Münevver KAYNAK TÜRKMEN

AYDIN-2012

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-11005 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tezimin yürütülmesinde ve uzmanlık eğitimim süresince bana yol göstererek ilgi ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanı hocam Sayın Prof. Dr. Münevver Kaynak Türkmen'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, emeği geçen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ayşe Yenigün'e, Prof. Dr. Ferah Sönmez'e, Prof. Dr. Ali Rahmi Bakiler'e, Doç. Dr. Ayşe Tosun'a, Doç. Dr. Emre Çeçen'e, Yrd. Doç. Dr. Ayvaz Aydoğdu'ya, Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya Aral'a, Yrd. Doç. Dr. Tolga Ünüvar'a, Yrd. Doç. Dr. Bilin Çetinkaya Çakmak'a, Uzm. Dr. Murat Deveci'ye, Uzm. Dr. Nevin Semerci'ye, Uzm. Dr. Defne Engür'e, Uzm. Dr. Özlem Sancaklı'ya, Uzm. Dr. İlknur Girişgen'e, Uzm. Dr. Dilek Yılmaz'a, Uzm. Dr. Ayşen Çetemen'e teşekkür ederim.

Tezin mikrobiyolojik analizlerinin yapılmasında büyük emeği olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Bülent Bozdoğan'a, Sayın Ömer Yıldız'a, Sayın Erman Oryaşın'a ve Sayın Mehmet Öztürk'e teşekkür ederim.

Birlikte çalışmak, öğretmek ve öğrenmekten büyük mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, asistanlık sürecimde dostluklarını esirgemeyen Sayın Dr. Fulya Cengiz Erdem, Sayın Dr. Seda Erişen Karaca ve Sayın Dr. Nergiz Özcan Karayel'e şükranlarımı sunarım. Tezimde olguların toplanmasında büyük emeği olan Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi Sorumlu Hemşiresi Sayın Funda Güler ve ekibine, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Bebek Hemşiresi Sayın Hatice Karatepe'ye teşekkür ederim. Deneyimlerini bizimle paylaşmaktan çekinmeyen başta Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Sorumlu Hemşiresi Sayın İfakat Meşعلان olmak üzere tüm hemşire arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Kliniğimizde fedakarca çalışan tüm klinik personeline de ayrıca teşekkür ederim. Acil Servis Sorumlu Hemşiresi Sayın Ferda Özlü'ye, Çocuk Acil Servis Sorumlu Hemşiresi Sayın Ebru Aşık'a ve tüm acil servis personeli'ne özverili yardımlarından ötürü teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca ilgi ve desteğini her zaman gösteren, yokluğumu kızıma hissettirmeyen sevgili aileme, çok değerli Çobanyıldızı Ailesi'ne, varlığıyla eşim ve benim tamamlandığımızı hissettiren Defne'ye, yol arkadaşım sevgili eşim Özgür'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezi “*aresizliğin karanlığında bekleyen annelere umut ışığı olan tüm doktorlara* ” ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

1. ÖNSÖZ	
2. DİZİNLER	
3. SİMGELER VE KISALTMALAR	
4. GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
5. GENEL BİLGİLER	3-26

1. İNSAN BAĞIRSAĞI VE BAĞIŞIKLIK

- 1.1. Doğal bağışıklık sistemi
- 1.2. Kazanılmış bağışıklık sistemi
- 1.3. Bağışıklık sisteminin gelişimi
- 1.4. İnfanıl dönemde immün sistem gelişimi açısından bağırsak mikroflorasının rolü

1.4.1. Erken bağırsak kolonizasyonu ve bakteri türlerini etkileyen faktörler

- 1.4.1.1. Gelişmişlik düzeyi ve temizlik koşulları
- 1.4.1.2. Doğum Şekli
- 1.4.1.3. Beslenme şekli
- 1.4.1.4. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlem
- 1.4.1.5. Gebelik yaşı
- 1.4.1.6. Antibiyotikler
- 1.4.1.7. Aile yapısı ve ev içi çevre

1.5. Bağırsak kolonizasyonu ve mikroflora gelişimi

- 1.5.1. Erişkin Bağırsak Mikroflorası
- 1.5.2. Bağırsak mikroflora maturasyonu

1.6. Bağırsak Mikroflorasının Değerlendirilmesi

- 1.6.1. Kültürel Çalışmalar
- 1.6.2. DNA Metodolojisi Baz Alınan Çalışmalar

1.7. Bağırsak Mikrobiotasının Uzun Dönem Etkisi

2. ANNE SÜTÜ

- 2.1. Anne Sütünün Önemi
- 2.2. Anne Sütünün İçeriği

2.2.1. Anne Sütünde Bulunan Bakteri Grupları ve Önemi

2.2.1.1. Anne Sütündeki Bakterilerin Kaynağı

6. GEREÇVEYÖNTEM.....	27-35
7. BULGULAR.....	36-90
8. TARTIŞMA.....	91-106
9. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	107-112
10. ÖZET.....	113-114
11. İNGİLİZCE ÖZET.....	115-116
12. KAYNAKLAR.....	117-130
13. EKLER	

TABLO DİZİNİ

Tablo I. Bağışıklık sisteminin gelişimi

Tablo II. İnfant bağırsak kolonizasyonunun potansiyel kaynakları

Tablo III. Anne sütü ile beslenen infantlarda intestinal flora bakterileri

Tablo IV. DNA bazlı çalışmalarda intestinal florada saptanan farklılıklar

Tablo V. Sağlıklı anne sütünden izole edilen başlıca bakteri cins ve türleri

Tablo VI. Olguların demografik ve klinik özellikleri

Tablo VII. Annelerin gebelik ve sosyodemografik özellikleri

Tablo VIII. Olgulardan 1, 3, 7. günlerde elde edilen ampikon sayıları

Tablo IX. Sekans sonucuna göre saptanan bakteri cinsleri

ŞEKİL DİZİNİ

- Şekil 1.** İntestinal bakterilerin bağışıklık sistemi hücrelerince kontrolü
- Şekil 2.** Bakteriyel stimuluslara hücre sel cevaplar
- Şekil 3.** İnsanda doğum sonrası bağırsak ekolojisinin değişimi
- Şekil 4.** Süt/gayta örneklerinden elde edilen DNA'nın sekans analizine kadar olan sürecini gösteren şematik çizim.
- Şekil 5.** Sekans analizi sonucu tanımlanan bakterilerin filumlarına göre dağılımı
- Şekil 6.** Günlere göre toplam bakteri sayıları ve yüzdeleri
- Şekil 7.** Günlere göre filum dağılımı
- Şekil 8.** 1. gün cins dağılımı
- Şekil 9.** 1. gün tür dağılımı
- Şekil 10.** 3. gün cins dağılımı
- Şekil 11.** 3. gün bakteri tür dağılımı
- Şekil 12.** 7. gün cins dağılımı
- Şekil 13.** 7. gün bakteri tür dağılımı
- Şekil 14.** Vajinal doğan olgularda tüm günler için filum dağılımı
- Şekil 15.** Vajinal doğan olgularda tüm günler için cins dağılımı
- Şekil 16.** Vajinal doğan olgularda günlere göre tür dağılımı
- Şekil 17.** Sezaryen ile doğan olgularda tüm günler için filum dağılımı
- Şekil 18.** Sezaryen ile doğan olgularda tüm günler için cins dağılımı
- Şekil 19.** Sezaryen ile doğan olgularda günlere göre bakteri tür dağılımı
- Şekil 20.** Tüm günler için doğum şekline göre cins dağılımı
- Şekil 21.** Sadece anne sütü alan olgularda tüm günler için filum dağılımı
- Şekil 22.** Sadece anne sütü alanlarda tüm günler için cins dağılımı
- Şekil 23.** Sadece anne sütü alan olgularda tüm günler için tür dağılımı
- Şekil 24.** Olgu 5 ve 7'nin 7. gün filum dağılımları
- Şekil 25.** Olgu 5 ve 7'nin 7. gün cins dağılımları
- Şekil 26.** Olgu 5 ve 7'nin 7. gün bakteri tür dağılımları
- Şekil 27.** Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için filum dağılımı
- Şekil 28.** Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için cins dağılımı

Şekil 29. Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için bakteri tür dağılımı

Şekil 30. YYBÜ'nde izlenen olgularda tüm günler için filum dağılımı

Şekil 31. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda tüm günler için cins dağılımı

Şekil 32. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda tüm günler için bakteri tür dağılımı

Şekil 33. İzlem yerine göre tüm günler için cins dağılımı

Şekil 34. İzlem yerine göre tüm günler için tür dağılımı

Şekil 35. Antibiyotik alan olgularda 7. gün cins dağılımı

Şekil 36. Antibiyotik alan olgularda 7. gün bakteri tür dağılımı

Şekil 37. Antibiyotik almayan olgularda 1. gün filum dağılımı

Şekil 38. Antibiyotik almayan olgularda 1. gün cins dağılımı

Şekil 39. Antibiyotik almayan olgularda 1. gün bakteri tür dağılımı

Şekil 40. Antibiyotik almayan olgularda 3. gün filum dağılımı

Şekil 41. Antibiyotik almayan olgularda 3. gün cins dağılımı

Şekil 42. Antibiyotik almayan olgularda 3. gün bakteri tür dağılımı

Şekil 43. Antibiyotik almayan olgularda 7. gün filum dağılımı

Şekil 44. Antibiyotik almayan olgularda 7. gün cins dağılımı

Şekil 45. Antibiyotik almayan olgularda 7. gün tür dağılımı

Şekil 46. Antibiyotik alan ve almayan olgularda 7. gün cins dağılımı

Şekil 47. Antibiyotik alan ve almayan olgularda 7. gün bakteri tür dağılımı

Şekil 48. Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda filum dağılımı

Şekil 49. Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda tüm günler için cins dağılımı

Şekil 50. Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda tüm günler için tür dağılımı

Şekil 51. Anneleri şehirde yaşayan olgularda tüm günler için cins dağılımı

Şekil 52. Anneleri şehirde yaşayan olgularda tüm günler için tür dağılımı

Şekil 53. Yerleşim yerine göre tüm günler için cins dağılımı

Şekil 54. Bakterilerin oksijen kullanımlarına göre dağılımı

Şekil 55. Tüm günler için bakterilerin oksijen kullanımlarının dağılımı

Şekil 56. Vajinal doğan olgularda bakterilerin oksijen kullanımlarına göre dağılımı

Şekil 57. Sezaryen ile doğan olgularda bakterilerin oksijen kullanımlarına göre dağılımı

Şekil 58. Doğum şekline göre tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Şekil 59. Sadece anne sütü alan olgularda tüm günler için oksijen kullanımlarına göre dağılım

Şekil 60. Anne sütü ve mama alan olgularda tüm günler için oksijen kullanımının dağılımı

Şekil 61. Beslenme şekline göre tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Şekil 62. Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Şekil 63. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Şekil 64. Antibiyotik alan ve almayan olgularda 7. gün oksijen kullanımına göre dağılım

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AD	: Anabilim Dalı
AE	: Homojenizasyon çözeltisi
AL Buffer	: Homojenizasyon çözeltisi
APCs	:Antijen sunan hücreler
APRİL	: Antijen proliferasyonu indükleyici ligand (Antigen Proliferation Inducing Ligand)
ASL	: Homojenizasyon çözeltisi
AW1	: Homojenizasyon çözeltisi
AW2	: Homojenizasyon çözeltisi
BAFF	:B hücre aktivasyon faktörü
BHIA	:Beyin kalp infüzyon agar (Brain Heart Infusion Agar)
CFU	:Koloni oluşturan üniteler (Colony Forming Unit)
cm	: Santimetre
CIAP	: Alkalen Fosfataz
C/S	: Sezaryen/Seksiyo
DAB	: Diyabetik anne bebeği
DGGE	:Denatüre Edici Gradient Jel Elektroforezi (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)
DM	:Diyabetes mellitus
DNA	:Deoksiribonükleik asit
EGF	:Epidermal büyüme faktörü
ETEC	:Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
FISH	:Floresan İn Situ Hibridizasyon (Fluorescence <i>In Situ</i> Hybridization)
g	:Gram
GALT	:Gut Associated Lymphoid Tissue; Bağırsak ilişkili lenfoid doku
GDMA	:Gestasyonel diyabetes mellituslu anne bebeği
GİK	:Gastrointestinal kanal
HTS	:Homojenizasyon çözeltisi (5 mM HEPES/4.5 mM Tris·Cl/320 mM Sucrose)

IFN- γ	:İnterferon gama
IGF	:İnsülin benzeri büyüme faktörü
IHB	:İndirekt hiperbilirubinemi
IPTG	:İzopropitiogalaktozid (Isopropylthiogalactosid)
ITS	:Transkribe edilen ayırıcı bölge (Internal transcribed spacer)
IUGG	:İntrauterin gelişim geriliği
kg	:Kilogram
KNS	:Koagülaz negatif stafilokok
L	:Litre
LAB	:Laktik asit bakterileri
M	:Mol
MA	:Mekonyum aspirasyonu
MHC	:Major histokompatibilite proteinleri
μ g	:Mikrogram
μ l	:Mikrolitre
ml	:Mililitre
mg:	:Miligram
MAMPs	:Mikrop ilişkili moleküler kalıplar (Microbes Associated Molecular Patterns)
miRNA	:Mikro ribonükleik asit
NP	:Neonatal pnömoni
NK	:Doğal öldürücü hücreler (Naturel Killer)
NEK	:Nekrotizan enterokolit
NSVD	:Normal spontan vajinal doğum
O/G	:Orogastrik
PAMPs	:Patojen ilişkili moleküler kalıp (Pathogen Associated Molecular Patterns)
PMNL	:Polimorfonükleer lökosit
PRRs	:Kalıp tanımlama reseptörleri (Pattern Recognition Receptos)
Q PCR	:Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Quantitative Polymerase Chain Reaction)
RAPD	:Random amplifiye polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA)
RDS	:Respiratuar distres sendromu

rRNA	:Ribozomal ribonükleik asit
rpm	:Dakikalık dönüş sayısı (Round per minute)
SD	:Standart Sapma
SDS	:Sodium dodecyl sulfate
TBE	:Tris-Borik Asit-EDTA
TGGE	:Isı Gradient Jel Elektroforezi (Temperature Gradient Gel Electrophoresis)
TLR	:Toll like reseptörleri
TNF	:Tümör nekrotize edici faktör
TGF	:Transforming growth factor
TPN	:Total parenteral nutrisyon
TSLP	:Timik stromal lenfopoietin (Thymic Stromal Lymphopoietin)
YYBÜ	:Yenidoğan yoğun bakım ünitesi

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Olgu 1, 4, 2, 6, 7’den alınan örneklerden elde edilen DNA’lardan PCR yöntemi ile spesifik primerler kullanılarak 16S rRNA fragmanının çoğaltılması

Resim 2. Beyaz ve renkli koloni seçimi

EKLER DİZİNİ

- Ek 1. Etik Kurul Onayı
- Ek 2. Bilgilendirilmiş Olur Metni
- Ek 3. Bilgilendirilmiş Olur Formu
- Ek 4. Olgu Rapor Formu
- Ek 5. Sekans analizi sonucunda olgularda 1, 3 ve 7. gün tespit edilen bakteriler ve yüzdeleri
- Ek 6. Sekans analizi sonucunda tespit edilen bakterilerin toplamdaki yüzdeleri
- Ek 7. Mikroorganizmaların taksonomik Sınıflaması

GİRİŞ VE AMAÇ

Fetüsün doğumdan önce steril olduğu, bağırsak, solunum yolu ve cildinde mikroorganizma bulunmadığı, doğum süreciyle birlikte yenidoğanın mikroorganizmalarla temas kurmaya ve florasını oluşturmaya başladığı fikri yakın zamana kadar üzerinde hemfikir olunan bir düşünceydi. Ancak son araştırmalar ile fetal kolonizasyonunun intrauterin dönemde başlayabileceği belirtilmiştir (1,2).

Doğum sonrasında yenidoğan bağırsak florasının oluşum ve gelişim süreci, florada saptanan mikroorganizmaların sayı ve çeşitliliği, mevcut floranın bireyin ileriki yaşamına etkisi ve mikrobiyotik çeşitliliğini etkileyen öğeler birçok araştırmaya konu olmuştur (3,4,5).

Yakın zamana kadar anne sütü steril olarak biliniyordu. Çeşitli çalışmalarda anne sütünde mikroorganizmaların tespit edilmesi, bu konuya giderek artan bir ilgi uyandırdı. Anne sütü, formula veya karışık beslenen yenidoğanların bağırsak florası konusunda yapılan çalışma sayısı ise son zamanlarda giderek artmaktadır. Çalışmalarda anne sütü içeriğindeki mikroorganizmalar sıklıkla kültürel yöntemlerle incelenmiş olup, anne sütü bakteriyel çeşitliliğine yönelik yapılan moleküler genetik çalışmalarda ise kültürü yapılamayan bakteriler saptanmış ve bu bakteri genomları yenidoğan bağırsak florasından da izole edilmiştir. Ancak, anne sütü ve yenidoğan gaitasının eş zamanlı moleküler yöntemler ile incelendiği çalışma sayısı son derece sınırlıdır (6,7).

Floraya etki eden faktörleri belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda sıklıkla beslenme, doğum şekli, hastanede yatış, prematürite, antibiyotik alımı, gelişmişlik düzeyi değerlendirilmiştir (6). Özellikle beslenmenin etkisinin incelendiği çalışmalarda, yakın zamana kadar steril olarak bilinen anne sütünde kommensal bakterilerin saptanması sonucu, anne sütünün besleyiciliğinden çok koruyucu etkisine dikkat çekilmiştir (7).

İntestinal florayı etkileyen değişkenler sadece florayla ilişkileri ile değil, aynı zamanda olgunun hayatında gelişebilecek atopi (8), diyabetes mellitus ve benzeri otoimmün ve metabolik hastalıklarla (9) ilişkileri açısından da tartışma konusu olmuştur. Mevcut çalışmalarda bahsedilen kronik hastalıkların, yenidoğan döneminde edinilen intestinal flora etkisiyle mukoza kaynaklı immün sistemi doğru veya yanlış tetiklemesi neticesinde ortaya çıktığı belirtilmiştir (8,9).

Açıklama [gg1]:

1-Jimenez, E., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? Research in Microbiology 159: 187-193.
2-Satokari, R., Gronroos, T., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2009. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. Letters in Applied Microbiology 48: 8-12.

Açıklama [gg2]:

3- Rotimi VO, Olowe SA, Ahmed I. The development of bacterial flora in premature neonates. J Hyg Camb 1985;94: 309-18.
4- Simon GL, Gorbach SL. intestinal flora in health and disease. Gastroenterology 1984; 86: 174-93
5- Bengmark S. Ecological control of gastrointestinal tract: the role of the probiotic flora. Gut, 1998; 42: 2-7

Açıklama [gg3]:

6-Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. Acta Paediatrica ISSN 0803-5253. 2008

Açıklama [gg4]:

7-Protection of the Neonate by the Innate Immune System of Developing Gut and of Human Milk David S. Newburg, and w. Allan Walker pediatric research Vol. 61, No. 1, 2007

Açıklama [gg5]:

8-Kalliomaki, M., Kirjavainen, P., Eerola, E., Kero, P., Salminen, S. and Isolauri, E., 2001b. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. The Journal of Allergy and Clinical Immunology 107: 129-134.

Açıklama [gg6]:

9-MUSSO G., GAMBINO R., CASSADER M. Obesity, Diabetes, and Gut Microbiota The hygiene hypothesis expanded? Diabetes Care 33:2277-2284, 2010

Yenidoğan döneminde dengeli bağırsak florasının anlamı, kommensal bakterilerce zengin anaerob bakterilerden oluşan flora anlamına gelir ki bu bakterilerin en önemlileri *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Lactococcus*'lardır (10). Floranın *Clostridium* veya *Bacteriodes* grubu bakteriler ile düzensiz kolonizasyonları sıklıkla doğal yaşama aykırı durumlarda görülmektedir. Anne sütü yerine formül mama alan, vajinal yol yerine sezaryen ile doğan, çok gelişmiş ülkelerde şehirde ve sıkı hijyenik kurallara bağlı yaşayan olgular özellikle doğum sonrası ilk haftalarda edindikleri yanlış flora ve bu floranın getireceği sonuçlarla ömürleri boyunca yaşamak zorunda kaldığı ileri sürülmüştür (6,11).

Hayati öneme sahip olan bu mikro yapı önemine binaen "unutulmuş organ" şeklinde tanımlanmıştır (12). Kültürel çalışmalar ile değerlendirilmesi araştırmacılara kısıtlı bir bakış açısı sunduğu belirtilmiştir. Çünkü erişkin yani matür tip floraya sahip olan bağırsakta bulunan yaklaşık 10^{14} bakterinin %60-80'ni kültürü yapılamayan bakteriler oluşturmaktadır. Çoğunluğu mutlak anaerob ve fakültatif anaerob türlerden oluşan bu populasyonun kültürel çalışmalarda viabilitesini kaybettiği ve flora araştırma sonuçlarını kısıtladığı iddia edilmiştir (13).

Kültürel çalışmalardaki bu yetersizlik, araştırmacıları alternatif yöntemler uygulamaya yönlendirmiş ve günümüz gelişen teknolojisiyle birlikte moleküler yöntemler daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Genetik çalışmalarda en sık tercih edilen yöntemler Floresan İn Situ Hibridizasyon (Fluorescence *In Situ* Hybridization=FISH) (14), 16S rRNA (15), Denatüre Edici Gradient Jel Elektroforezi (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis=DGGE) (16), Isı Gradient Jel Elektroforezi (Temperature Gradient Gel Electrophoresis=TGGE) (17) ve Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Quantitative Polymerase Chain Reaction=Q PCR) (18) olup, 16S rRNA dışında belirtilen metodlarda maliyetin düşük olması nedeniyle olgu sayıları fazla olsa da, ayrıntılı taksonomik sınıflama yapılamamakta ve çoğu zaman tanımlayıcı özgün kültür yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (19,20). 16S rRNA amplifikasyon ve klonlama sonrası sekans analizi kullanılan çalışmalarda ise yüksek maliyet nedeniyle ya olgu sayıları düşük tutulmuş (21) veya spesifik primerler kullanılarak (22) araştırılan bakteri türlerinde kısıtlamaya gidilmiştir.

Bu çalışmada amacımız; hasta ve sağlıklı term yenidoğanların gayta ve anne sütü bakteri dağılımının moleküler yöntemler ile tespit edilerek anne sütü ve çevresel etkenlerle yenidoğan bağırsak florasında ilk haftada oluşan kolonizasyon değişikliklerinin belirlenmesidir.

Açıklama [gg7]:

10-Solis G. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe* 16 (2010). 307-310

Açıklama [gg8]:

6-Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatrica* ISSN 0803-5253. 2008 11- Huurre A., Kalliomäki M., Rautava S, Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity, *Neonatology* 2008;93:236-240

Açıklama [gg9]:

12-O' Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7:688-693

Açıklama [gg10]:

13-O' Sullivan D. J. Methods for Analysis of the Intestinal Microflora. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* (2000) 1(2): 39-50.

Açıklama [gg11]:

14-Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nutr* 2 ... [1]

Açıklama [gg12]:

15-Dominguez-Bello M. G., Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across mu ... [2]

Açıklama [gg13]:

16-Favier C. Molecular Monitoring of succession of Bacterial Communities in Human Neonates. *Microbiology, Ja* ... [3]

Açıklama [gg14]:

17-Biasucci G. Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacteria. *J. Nutr.* 138: 1796S-1800S, 2008. ... [4]

Açıklama [gg15]:

18-Songjinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastroint ... [5]

Açıklama [gg16]:

19-Babalola O.O. Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. *African Journal of* ... [6]

Açıklama [gg17]:

21-Park H K., Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant. *The journal of microbiology*, August 2005 ... [7]

Açıklama [gg18]:

22-Gueimonde, M., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2007. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut ... [8]

GENEL BİLGİLER

1. İNSAN BAĞIRSAĞI VE BAĞIŞIKLIK

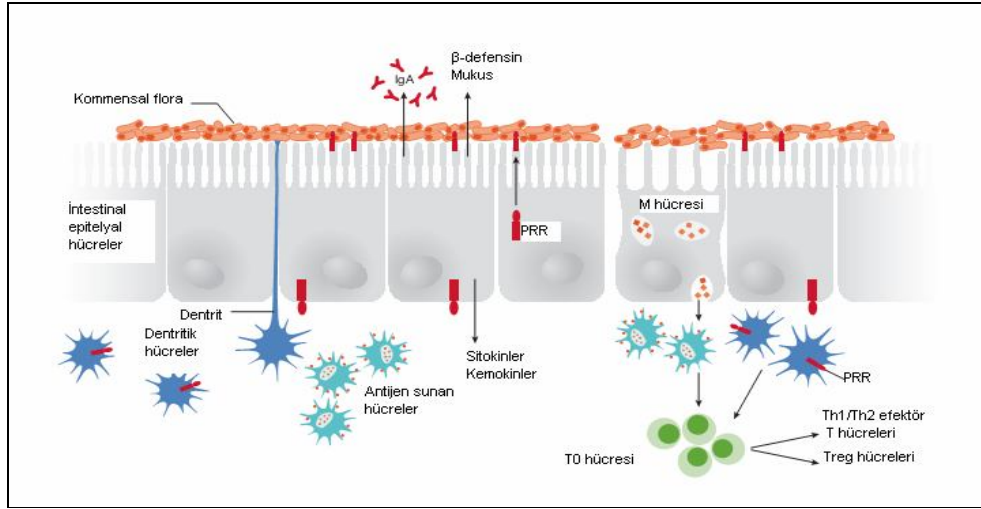
Bağışıklık sisteminin esas görevi, bireyi zararlı mikroorganizmalar ve zedeleyici etkenlere karşı korumaktır. Ek olarak, tümör hücre yayılım ve gelişimini de engeller. Bu savunmayı yaparken dikkat edilmesi gereken anahtar nokta, bireyin kendine karşı oluşabilecek bağışık yanıtların düzenlenmesidir (23).

Bağışıklık sisteminin vücuttaki en geniş dağılım gösteren komponenti, mukozal bağışıklık sistemidir. Bağırsak ilişkili lenfoid doku (Gut Associated Lymphoid Tissue =GALT) mukozal bağışıklık sisteminin ana bileşenidir (24). GALT, uyarılabilir bağışık yanıt oluşturan lenfoid doku (Peyer Plakları), lamina propria ve epitelyal kompartmanları içeren etkin kısımlardan meydana gelir. Lenfoid ilişkili dokuyu oluşturan M hücreleri, küçük moleküllerden örnekler toplayarak bağırsak lümeninden organize lenfoid dokulara taşır (25). Koruyucu mukozal cevapların gelişimi açısından yabancı maddelerin M hücreleri tarafından taşınması hayati olsa da, mukozaya direkt giriş yolu oluşturması itibariyle epitelyal bariyerin zayıf noktasıdır (24,26) (Şekil 1).

Açıklama [gg19]:
24-Mason, K.L., Huffnagle, G.B., Nover, M.C. and Kao, J.Y., 2008. Overview of gut immunology. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 635: 1-14.

Açıklama [gg20]:
25-Neutra, M.R., Mantis, N.J. and Kraehenbuhl, J.P., 2001. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nature Immunology* 2: 1004-1009.

Açıklama [gg21]:
26-Neutra, M.R., Frey, A. and Kraehenbuhl, J.P., 1996. Epithelial M cells: gateways for mucosal infection and immunization. *Cell* 86: 345-348.



Şekil 1. İntestinal bakterilerin bağışıklık sistemi hücrelerince kontrolü (12)

Bağırsaklardaki yabancı antijenlerin en geniş kısmını gıdalar ve kommensal bakteriler oluşturur. Bağırsak mukozası mikroçevre ile yakın temastadır. Simbiyotik ekosistemdeki 450'den fazla mutualist ve kommensal mikroorganizma ile oportunistik ve zorunlu patojeni barındırır. Sindirim sistemi, başta patojenler olmak üzere tüm bu mikroorganizmaları sınırlar (7).

Kommensal bakterilerin kendisi direkt immün yanıt oluşturmayıp "oral toleransa" neden olmaktadır (27). Oral tolerans ile ilgili mekanizmalar tartışmalı olsa da epitel-lenfoid doku etkileşimlerinin rol oynadığı bilinmektedir. Bu sayede bağırsaktan geçen zararlı mikroorganizmalara karşı gerçekleşen bağışık yanıtın abartılması önlenir (23,28).

Yabancı antijenlere karşı memeli savunması doğal ve kazanılmış bağışıklık ile silahlandırılmıştır. Doğal bağışıklık sistemi multisellüler mikroorganizmalara karşı saatler içinde cevap verecek şekilde gelişmişken, kazanılmış bağışıklık sistemi antijene özgün cevapları birkaç günde oluşturur (23,29).

1.1. Doğal Bağışıklık Sistemi

Doğal bağışıklık sistemi savunması, fonksiyonel olarak birkaç düzeyde tanımlanır. İlk düzey mekanik, kimyasal ve mikrobiyolojik bariyerleri içerir. Mekanik bariyerler respiratuar ve gastrointestinal bölgeden sekrete edilen mukus olup invaziv mikroorganizmalara karşı fiziksel bariyer oluşturur. Cilt tarafından sekrete edilen antimikrobiyal peptidler, bağırsak ve solunum sistemi epiteli, midedeki düşük pH ve proteazlar da kimyasal bariyerlere diğer örneklerdir (23).

Bağırsaklarda bulunan kommensal bakteriler, konakla beraber gelişim gösteren yüksek derecede selektif bir ekosistem oluşturur (30). Bu kommensal bakteriler gerek salgıladıkları antimikrobiyal faktörler ve gerekse de istenmeyen bakterilerin gelişim ve çoğalması için yarışmalı inhibisyon uygulamalarıyla konak savunması için güçlü bir bariyerdir (29).

Vücuda giren mikroorganizmalar doğal bağışıklık hücreleri ve mekanizmaları tarafından hızlıca tanınır, ayrıca bağışık yanıtın diğer seviyelerinin de uyarılmasını sağlar (31). Bu sistemin diğer bileşenleri; kompleman sistemi ve defensin gibi çözünebilir proteinler, sitokinler, kemokinler, doğal öldürücü hücreler (Naturel Killer = NK) ve dentritik hücreler ve bu hücrelerin membrana bağlanma reseptörleridir (23).

Açıklama [gg22]:
7-Protection of the Neonate by the Innate Immune System of Developing Gut and of Human Milk
DAVID S. NEWBURG, AND W. ALLAN WALKER
PEDIATRIC RESEARCH
Vol. 61, No. 1, 2007

Açıklama [gg23]:
27-Strober, W., Kelsall, B. and Marth, T., 1998. Oral tolerance. Journal of Clinical Immunology 18: 1-30.

Açıklama [gg24]:
28-Mowat, A.M., 2003. Anatomical basis of tolerance and immunity to bağırsak antigens. Nature Reviews Immunology 3: 331-341.

Açıklama [gg25]:
23-Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nauta1, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Açıklama [gg26]:
23-Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nauta1, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Açıklama [gg27]:
29-Calder, P.C., 2007. Immunological parameters: what do they mean? Journal of Nutrition 137: 773S-780S.

Açıklama [gg28]:
Backhed, F., Ley, R.E., Sonnenburg, J.L., Peterson, D.A. and Gordon, J.I., 2005. Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science 307: 1915-1920.

Açıklama [gg29]:
<http://www.roitt.com/els.asp>
Roitt, I.B., Brostoff, J. and Male, D., 1996. Immunology. Diane Zack, London, UK.

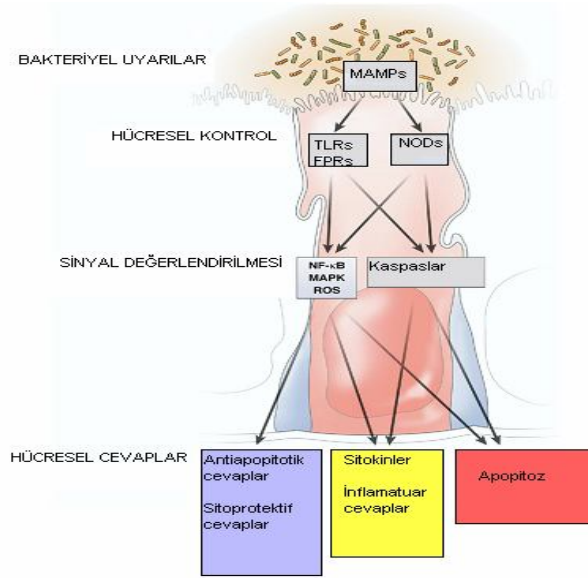
NK hücreleri, ciddi doku hasarına neden olabilecek birçok tümör ve mikrobiyal enfeksiyonun gelişimini baskılar. IFN- γ benzeri efektör sitokinlerin hızlıca salınımını sağlayarak sitotoksositeye neden olur (23).

Açıklama [gg30]:
23-Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nautal, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Dentritik hücreler ise kalıp tanımlama reseptörleri (Pattern Recognition Receptors=PRRs) olarak adlandırılan yüzey reseptörleri ki bunların içinde en önemlisi Toll like reseptörleridir, birçok mikroorganizmada yer alan patojen ilişkili moleküler kalıp (Pathogen Associated Molecular Patterns = PAMPs) adı verilen yüzey reseptörlerini tanır ve bağlanır (32). Bu yapılar mikrop ilişkili moleküler kalıplar (Microbes Associated Molecular Patterns = MAMPs) adıyla patojenik olmayan kommensal mikroorganizmaların hücre yüzeyinde de bulunur. İnvaziv patojen veya toksin maruziyeti sonrasında büyük miktarlarda üretilen tanımlama molekülleri doğal bağışıklık sisteminin hızlıca aktive olmasını sağlar. Major fagositik hücre olan makrofajlara PRRs moleküllerinin bağlanmasıyla hücresel aktivasyon sağlanır, sitokin salınımı ve diğer fagositer hücrelerin aktivasyonu ile sonradan gelecek olan mikroorganizmalar yok edilebilir. Bu bağlanma bir kez gerçekleştiğinde, artık hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemi, invaziv mikroorganizmalar veya toksik ajanlara karşı özgün cevaplar oluşturur. Kommensal bakteriler, probiotikler ve patojen bakterilerde bulunan yüzey moleküllerindeki küçük değişiklikler konağın son cevabını oluşturmasında büyük önem taşır (23,33) (Şekil 2).

Açıklama [gg31]:
32-Janeway, C.A. and Medzhitov, R., 2002. Innate immune recognition. Annual Reviews of Immunology 20: 197-216.

Açıklama [gg32]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nautal, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382



Açıklama [gg33]:
33-Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease Gastroenterology 2009; 136: 65-80

Şekil 2. Bakteriye stimuluslara hücreye cevaplar (33)

1.2. Kazanılmış Bağışıklık Sistemi

Kazanılmış bağışıklık sisteminin ana elemanı olan lenfositlerin cevapları kendilerini uyarıcı mikroorganizmalara karşı yüksek düzeyde özgünlük gösterir. Kazanılmış bağışık yanıtın anahtar özelliği, immünolojik hafızaya sahip uzun ömürlü hücreler içermesidir. Bağışıklık yanıtı, B ve T hücrelerin fonksiyonel özellikleri ve antijene özgün yüzey reseptörleri aracılığı ile gerçekleşir. B hücreleri, plazma hücrelerine dönüşerek karakteristik antikorlarını üretir. Mikroorganizmanın antikorlar ile bağlanması sonucu etkisizleşmesiyle beraber hem konak hücreye saldırması önlenir, hem de kompleman proteinleri aktive olur. Ayrıca mikroorganizmanın fagositlerce yok edilmesi sağlanır (23).

İntestinal bakteriler, epitelyal hücreleri uyarak sitokinler ve antijen proliferasyonu indükleyici ligand (Antigen Proliferation Inducing Ligand=APRIL) denilen proliferasyon indükleyici ligand üretimine neden olur. Bu sayede T hücre aracılığı ile B hücrelerinden IgA üretimi sağlanır (34). Ek olarak, bakteriyel etkenlere karşı bağırsak epitel hücrelerinden timik stromal lenfopoietin (Thymic Stromal Lymphopoietin=TSLP) ve IL-10 üretilir ve büyük olasılıkla B hücrelerin lokal cevapları da bu sayede düzenlenmektedir (23).

Açıklama [gg34]:
34-He, B., Xu, W., Santini, P.A., Polydorides, A.D., Chiu, A., Estrella, J., Shan, M., Chadburn, A., Villanacci, V., Plebani, A., Knowles, D.M., Rescigno, M. and Cerutti, A., 2007a. Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. Immunity 26: 812-826.

Açıklama [gg35]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin, A.J. Nautal, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

B hücrelerinin aksine T hücreleri sadece antijen sunan hücrelerce (APCs) işlenen antijenleri tanıyabilir. Antijenleri yüzeylerinde bulunan major histokompatibilite proteinleri (MHC) aracılığı ile tanır. T hücreleri her biri önceki immün cevaplarını repertuarında taşıyan birtakım alt gruplara ayrılmıştır. Yardımcı T hücreleri (Th) hem humoral hem de hücrel immün cevapları aktive ederken, sitotoksik T hücreleri (Tc) tümör hücrelerince işgal edilmiş veya intrasellüler mikropolarca enfekte olan hücrelere sitotoksik etki eder. T hücre alt popülasyonunda, oluşmuş immün yanıtları baskılayan düzenleyici T hücreleri (Treg) de bulunmaktadır. Genel olarak Th1 lenfositler hücrel immünite için çalışırken Th2 lenfositler humoral ve alerjik yanıtları destekler. Th1 hücreler virüslere ve makrofaj içinde yerleşen bakterilere karşı IFN- γ üretimi ve Tc aktivasyonu ile sitotoksik etki gösterir. Th2 lenfositler ise hücre dışı parazitlere karşı etkili olan IL-4, IL-5 ve IL-13 üretimini gerçekleştirir. Yapılan çalışmalarda Th1/Th2 oranındaki değişikliklerin T hücre farklılaşmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Otörler, T hücre farklılaşmasının, değişik hastalıklarda farklı inflamatuvar yanıtlar oluşturmak üzere, doku düzeyinde esnek bir şekilde düzenlenebildiği yönünde hemfikirler (23).

1.3. Bağışıklık Sisteminin Gelişimi

Yenidoğanlarda hem bağışıklık sistemi gelişmemiş, hem de inflamatuvar yanıtlar geç ve yetersiz oluşmaktadır. Dolayısıyla, yetişkinlerin aksine enfeksiyona açıktır. Bunun iki sebebi vardır; ilki doğal ve kazanılmış bağışıklık sistem arasındaki dengelerin doğum sonrası bulunmaması, ikincisi ise doğuma kadar bağışıklık sisteminin az miktarda antijene maruz kalması. Ek olarak yenidoğan bağışıklık sistemi, gebelik boyunca anne ve bebek arasında oluşabilecek ters cevaplar açısından baskılanmıştır (23) (Tablo I).

Tablo I. Bağışıklık sisteminin gelişimi (23)

	Doğum	6 ay	1 yıl	2 yıl	3 yıl	4 yıl	5 yıl	5-15 yıl	Erişkin
Asidik münlerin									
Mikroflora kompozisyonu									Yaşla devam eder
NK hücreleri		> Erişkin düzeyi	> Erişkin düzeyi	> Erişkin düzeyi	> Erişkin düzeyi	> Erişkin düzeyi			
IgG									
IgM									
IgA									
Th 1 aracılı bağışıklık									Yaşla azalır
T hücre bağımlı antikor cevabı									

Bağışıklık sisteminin olgunlaşma süreci değişik renklerde gösterilmiştir (koyu gri: immatür, açık gri: gelişim süreci, beyaz: erişkin)

Açıklama [gg36]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy
R. Martin1, A.J. Nautal
Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Yenidoğanlarda respiratuar ve gastrointestinal sistem epiteli yüksek oranda geçirgenlik gösterir. Mide pH'sı göreceli olarak yüksektir. Proteaz türü enzimler ile antimikrobiyal peptidler gelişmediğinden kimyasal bariyerleri zayıftır. Ayrıca mukus tabaka glikolizasyon ve kompozisyonu ile bağırsak anatomik yapılanması, yenidoğan ve erişkinlerde farklılık göstermektedir. Tüm bu etkenlerin sonucunda yenidoğanın bağışıklık sisteminin ilk düzeyi yetersizdir (23).

Erişkinlere kıyasla yenidoğanlarda antijen sunan hücrelerin aktivitesi daha düşüktür ve bu durum sitokin salınımı, kemotaksi, MHC II moleküllerinin salımı ve fagositoz - endositoz için gerekli uyarıcı moleküllerin salınımında azalma ile kendini gösterir (35). Doğumda NK hücre aktivitesi düşük olmakla birlikte erken infantil dönemden çocukluk dönemine kadar baskın hücre grubunu oluşturur. NK hücrelerinin artmış sitotoksitesinin, olgunlaşmasını tamamlayamayan kazanılmış bağışıklık sistemini maskelemek için yapılandırıldığı düşünülmektedir (23).

Açıklama [gg37]:
Wong, O.H., Huang, F.P. and Chiang, A.K., 2005. Differential responses of cord and adult blood-derived dendritic cells to dying cells. Immunology 116: 13-20.

Yenidoğan T hücreleri çevresel antijenlere karşı cevap vermede duyarlıdır ancak genellikle T hücre aracılı antikor cevabı yoktur ve tamamen olgunlaşması için 3 ila 5 yıl geçmesi gerekmektedir. Erişkinler ile kıyaslandığında özellikle Th1 hücrelerde sitokin üretimi zayıftır (23). Yenidoğan T hücreleri artmış timik çıkışa işaret eden yüksek konsantrasyonda T

hücre reseptör eksizyon halkalarına ve çok sayıda Treg'e sahiptir (36). Ek olarak Tc fonksiyonları sınırlı olduğundan, daha az proliferasyon ve immatür sitokin profili gerçekleşir. IFN- γ üretiminin yaklaşık 5 yılda erişkin değerlere ulaştığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Genel olarak antijene özgü yanıtlar infantlarda gerçekleşebilmektedir (23).

Açıklama [gg38]:
Marchant, A. and Goldman, M., 2005. T cell-mediated immune responses in human newborns: ready to learn? Clinical and Experimental Immunology 141: 10-18.

Yenidoğanlarda B hücre sayısı çok yüksek olsa da plazma hücrelerine dönüşüm henüz yeterince olgunlaşmadığından, antikor üretimi yeterince olamamaktadır. Bu durum anneden geçen IgG dışında dolaşımda bulunan immünglobulinlerin düşük düzeylerde olmasına neden olur. IgA düzeyleri neredeyse ölçülemez ve IgM düzeyleri de çok düşüktür, ancak antijenik stimülasyona oldukça hızlı cevap verir (23). Yapılan çalışmalarda serum Ig düzeylerinin erişkin seviyelerine ulaşmasının yaklaşık 10 yıl sürdüğü de gösterilmiştir (37).

Açıklama [gg39]:
Aksu, G., Genel, F., Koturoglu, G., Kurugol, Z. and Kutukculer, N., 2006. Serum immunoglobulin (I, IgM, IgA) and I subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique. The Turkish Journal of Pediatrics 48: 19-24.

Bağırsak bağışıklık sistem hücreleri, bağırsak lümeninde karşılaştıkları bakteri sayısı ile doğru orantılı olarak gelişir. Kanıta dayalı veriler göstermiştir ki, bağırsak yüzey bariyerinin gelişim ve düzenlenmesinde bağırsak bakterileri hayati rol oynar. Bu bakterilerin oluşturduğu sinyal, lenfosit alt gruplarının gelişimi ve bağırsak B hücrelerinin antikor oluşturması için gerekli tetiği çeker. Ayrıca Th17 efektör T hücrelerinin gelişiminde ve Treg hücrelerin baskılanmasında da çalışır (23). Ek olarak bağırsak bakterileri, Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki dengeyi oluşturarak sistemik bağışık yanıtların düzenlenmesini sağlar (38). Bağırsakta bulunan dengeleyici mekanizmalar ile mevcut immün hücrelerin aşırı aktivasyonu, dolayısıyla abartılı bağışık yanıtlar önlenir. Bağırsak mukozasına penetre olan ve az sayıda bulunan kommensal bağırsak bakterilerine cevaben, mevcut antijen sunan hücreler sadece önemsiz bir miktar ve neredeyse etkisiz olan TLRs ve MAMPs üretirler (39).

Açıklama [gg40]:
Mazmanian, S.K., Liu, C.H., Tzianabos, A.O. and Kasper, D.L., 2005. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. Cell 122: 107-118.

İmmün sistem maturasyonunda mikropların önemi daha sonra "hijyen hipotezi" olarak anılan çalışmada belirtilmiştir (40). Birçok değişik epidemiyolojik çalışmanın desteklediği üzere, mikrobiyal temasın modifikasyonu ile atopik hastalık gelişimi belirgin ölçüde azalmaktadır. Ek olarak bu çalışmalar göstermiştir ki çocukluk çağı hastalıkları sırasında atopik hastalık gelişim riski azalır (41). Gerçekte, modernite ile birlikte infantlar uygun immünolojik uyarıdan mahrum kalmaktadır. Sonuçta, azalmış Th1 stimülasyonu ve buna bağlı yetersiz IFN- γ üretimi, dolayısıyla Th-2 cevaplarını indükleyen IgE düzeyinde yetersizlik ve Th2'den Th1'e geçişte yetersizlik (kayıp immün deviasyon) ortaya çıkmaktadır. Bağırsak mikroflora kompozisyonunun ve gıda kaynaklı veya orofekal patojenlere maruz kalınmasının, sIgA aracılı bağırsak yüzey bariyerini geliştirmek ve yenidoğan periyodu boyunca Th2 predominansından daha dengeli bir sitokin profiline geçişi sağlamak gibi çok

Açıklama [gg41]:
Macpherson, A.J., Geuking, M.B. and McKoy, K.D., 2005. Immune responses that adapt the bağırsak microbiota to commensal bağırsak bacteria. Immunology 115: 153-162.

Açıklama [gg42]:
Strachan, D.P., 1989. Hay fever, hygiene, and household size. British Medical Journal 299: 1259-1260.

Açıklama [gg43]:
Singh, M. and Ranjan Das, R., 2010. Probiotics for allergic respiratory diseases – putting it into perspective. Pediatric Allergy and Immunology 21: e368-e376.

önemli dengeleyici etkisi vardır (42). Son dönemde saptanan bir diğer mekanizma ise azalmış mikrobiyal yük ile birlikte regülatör T lenfosit (Treg) aktivitesinde azalmadır (azalmış immün deviasyon) (43,44). Mikrop kaynaklı immünolojik dengenin sağlanmasında Treg hücrelerin önemine işaret eden bu durum “genişletilmiş hijyen hipotezi” olarak tanımlanmaktadır. Genişletilmiş hijyen hipotezine göre, Treg hücrelerin baskılayıcı özellikleri nedeniyle, çok sayıdaki fetal mononükleer lenfositin sistemik tolerans kazanmasına, dolayısıyla da otoreaktif efektör T hücrelere karşı sistemik tolerans gelişmesi suretiyle, inflamasyon ve doku hasarının önlenmesine neden olmaktadır (23).

Doğum sonrasındaki değişken bir dönem içerisinde bağırsak epitel sıklığı ve immünoregülatör bağlantılar çok hassastır. Hayvan deneylerinde bu dönemde oluşacak dengenin sağlanması için, endojen bağırsak mikroflorasının dengeli olması ve diyetel antijenlerin zamanında ve uygun dozlarda alınması gerekliliği vurgulanmıştır. Hayatın ilk yılı, immün programlama için anahtar dönem olmakla birlikte, beslenme (ör; anne sütü) ve yenidoğan dönemi boyunca alınan faktörler (ör; antibiyotikler), endojen bağırsak mikroflorası ve bağırsak epitel bütünlüğünü etkiler. Hem hayvan hem de insan modellerinde yapılan çalışmalarda, mikrobiyal maruziyet tipinin immün hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığı da gösterilmiştir. Bu bağlamda, mikroorganizmalara maruziyet bağışıklık sisteminin olgunlaşmasında öncü rol oynarken, konakta ileriki yaşamda gelişebilecek enfeksiyonlara karşı korumakta, alerji ve/veya atopi gelişimini de azaltmaktadır (23).

Açıklama [gg44]:
Brandtzaeg, P., 2010. Food allergy: separating the science from the mythology. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 7: 380-400, erratum: 478.
BULAMADIM!!!

Açıklama [gg45]:
Romagnani, S., 2007. Coming back to a missing immune deviation as the main explanatory mechanism for the hygiene hypothesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 119: 1511-1513

Yazdanbakhsh, M., Kremsner, P.G. and Van Ree, R., 2002. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 296: 490-494.

Açıklama [gg46]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin, A.J. Nauta, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

1.4. İnfantil Dönemde İmmün Sistem Gelişimi Açısından Bağırsak Mikroflorasının Rolü

1.4.1. Erken Bağırsak Kolonizasyonu ve Bakteri Türlerini Etkileyen Faktörler

Bebekliğin ilk günlerindeki kolonizasyonu ve kolonize olan bakteri türlerini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar; genetik yatkınlık, gebelik yaşı, maternal mikrofloranın kompozisyonu, doğum şekli (vajinal/sezaryen seksiyon), beslenme şekli (anne sütü, formül mama), hastaneye yatırılıp yatırılmadığı, kullanılan antibiyotikler, gebeliğin son döneminde annenin beslenmesi, annenin doğum sonrası diyeti, probiyotiklerin kullanılıp kullanılmadığı, bebeğin kendi sağlık durumu, immünolojik durumu, bağırsağın anatomik gelişimi, peristaltizm, safra asitleri, bağırsak transit zamanı, pH'sı, mukozal reseptörler,

stresin olup olmadığı ve yaşanan bölgenin gelişmişlik düzeyi veya mikroflorası'dır (11,17,45-49) (Tablo II).

Tablo II. İnfant Bağırsak Kolonizasyonunun Potansiyel Kaynakları (6)

1.4.1
.1.
Geli
şmiş
lik
düze
yi ve
temi
zlik
koşu
lları

ağırs
ak
flora
sına
yöne

Bakteri kaynağı	Bakteri türleri	Geçiş kanıtlanmış	Geçtiği kuvvetle düşünülen	Olası geçiş
Anne bağırsağı	<i>Escherichia coli</i>	*		
	<i>Bifidobacteria</i>	*		
	<i>Bacteroides</i>		*	
	<i>Enterococcus</i>			*
	Çeşitli Anaerob		*	
Annenin genital sistemi	<i>Lactobacillus</i>	*		
	GBS	*		
Ebeveyn cilt	<i>S. aureus</i>	*		
	KNS			*
YYBÜ	<i>Escherichia coli</i>	*		
	<i>E.coli</i> harici <i>Enterobacter</i>	*		
	<i>C. difficile</i>	*		
	<i>Enterococcus</i>	*		
	<i>Bifidobacteria</i>		*	
Anne sütü	<i>Lactobacillus</i>	*		
	<i>Enterococcus</i>	*		
	<i>S. aureus</i>	*		
	KNS		*	
	<i>Bifidobacteria</i>			*
	<i>Streptococcus</i>			*
	<i>Enterobacter, Pseudomonas</i>			*
Formül mama	<i>E.coli</i> harici <i>Enterobacter</i>	*		
	<i>Lactobacillus</i>			*
Çevre	<i>C. difficile</i>	*		
	<i>Enterococcus</i>			*
	<i>Clostridia</i>			*

lik araştırmalarda, ülkelerin gelişmişlik düzeyinin yenidoğanlarda farklı mikroflora oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir. Tespit edilen bu farklılıklar yenidoğanın doğum sırasında karşılaştığı bakteri tür ve sayısı, hijyen politikaları, anne sütü kompozisyonu,

Açıklama [gg47]:

Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahm ' e S, Orfei L, ° Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007;120:343–50.

Biasucci, G., Benenati, B., Morelli, L., Bessi, E. and Boehm, G., 2008. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. Journal of Nutrition 138: 1796S-1800S.

Grönlund, M.M., Lehtonen, O.P., Eerola, E., and Kero, P., 1999. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 28: 19-25

Huurre A., Kalliomäki M., Rautava S., Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity, Neonatology 2008;93:236–240

Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F.F., Snijders, B., Kummeling, I., Van den Brandt, P.A. and Stobbering, E.E., 2006b. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics 118: 511-521.

Heikkilä, M.P. and Saris, P.E., 2003. Inhibition of Staphylococcus aureus by the commensal bacteria of human milk. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Kirjavainen, P.V., Kalliomäki, M., Salminen, S.J. and Isolauri, E., 2007. Postnatal effects of obstetrical epidural anesthesia on allergic sensitization. Allergy 62: 88-89. Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin, A.J. Nautal, K. Beneficial Microbes, BULAMADIM!!!! December 2010; 1(4): 367-382 (adlerberth 2007, Biasucci 2008, Grönlund 1999, huurre 2008, penders 2006 b). heikkilä ve saris 2003, kirjavainen 2007

kullanılan formül mama içerikleri, gıda ve suyla alınan bakterilerin farklılığı ile açıklanmaya çalışılmaktadır (50,51).

Nijerya ve Londra'daki infantlar kıyaslandığında, Nijerya'lı infantlarda *Bifidobacter* predominansı gözlenirken, Londra'daki yenidoğanlarda ise *Enterobacter* ve *Bacteriodes* spp. baskınlığı saptanmıştır (52). 1997'de 1 yaşındaki Estonya'lı infantlar incelendiğinde *Lactobasil* ve *Eubacteria* sayısının yüksek olduğu, %4 olgunun *C.difficile* ile kolonize olduğu belirtilmiş, bu durum batı Avrupa'daki infantların 1960'lı yıllarda yapılan çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur (53). Hayatın 2. haftasında Etyopya ve İsveç'li infantlar incelendiğinde *Enterococcus* ve *Lactobacil* kolonizasyonunun Etyopya'lı olgularda daha fazla olduğu, *Bifidobacter* ve *E.coli* 'nin her iki grupta benzer düzeylerde bulunduğu ve antibiyotik tedavisinin Etyopya'lı bebeklerde mikroflora üzerine çok az etkisi olduğu tespit edilmiştir (54).

Dolayısıyla, gelişmekte olan ülkelerde kirli ve kalabalık koşullarda doğan yenidoğanlar, batılı toplumlarda zenginlik ve refah içinde doğan yaşlılarına kıyasla *E.coli* ve diğer *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* ve *Lactobasillus* 'a daha erken maruz kalır (3,54-57). Bu ülkelerde karmaşık mikrobiota oluşma olasılığı, gelişmiş ülkelere göre daha yüksektir ve bu yenidoğanlarda *E. coli* dışındaki *Enterobacteriaceae* türlerine ilk haftada daha sık rastlanırken, zamanla mikrofloradan kaybolduğu belirtilmiştir (57). KNS ve *S.aureus* 'a gelişmekte olan ülkelerdeki yenidoğanların bakteri florasında sık rastlanmaz (55). Gelişmiş ülkelerdeki yenidoğanlarda bu grup bakterilerin yerleşimi altı ayı alırken, ülkeler arasında bile kolonizasyon farklılıkları gözlenebilmektedir (58).

1.4.1.2. Doğum Şekli

Doğum şeklinin yenidoğan mikroflorasına etkisi de birçok araştırmaya konu olmuştur (59). Vajinal doğan olgular anne vajen ve intestinal florasıyla erken dönemde karşılaştıklarından çevre florasının baskın etkisi bu olgularda genellikle izlenmemektedir. Aynı olgularda intestinal *Lactobacil* ve *Bacteriodes* kolonizasyonu ilk haftada gözlenirken, *Bacteriodes* kolonizasyonunun sezaryen ile doğanlara kıyasla daha hızlı ve stabil olduğu gösterilmiştir (54,60).

Açıklama [gg48]:
Orhage K. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. Acta Paediatr suppl 1999;430:47-57

Açıklama [gg49]: 29. Simhon A, Douglas JR, Drasar BS, Soothill JF. Effect of feeding on infant's faecal flora. Arch Dis Child 1982; 57: 54-8

Açıklama [gg50]:
30. Naaber P, Klaus K, Sepp E, Björkstén B, Mikelsaar M. Colonization of infants and hospitalized patients with *Clostridium difficile* and *Lactobacilli*. Clin Infect Dis 1997; 25: 189-90

Açıklama [gg51]:
31. Bennet R, Eriksson M, Tafari N, Nord CE. Intestinal bacteria of newborn Ethiopian infants in relation to antibiotic treatment and colonisation by potentially pathogenic Gram-negative bacteria. Scand J Infect Dis 1991; 23: 63-9

Açıklama [gg52]:
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak kolonizasyonu of breastfed children in a rural area of low socioeconomic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93-109.
26. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Bağırsak kolonizasyonu with *Enterobacteriaceae* in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. Acta Paediatr Scand 1991;80:602-10.
42. Adlerberth I, Jalil F, Carlsson B, et al. [9]

Açıklama [gg53]:
42. Adlerberth I, Jalil F, Carlsson B, Mellaender L, Hanson L, et al. High turnover rate of *Escherichia coli* strains in the faecal flora of infants in Pakistan. Epidemiol Infect 1991;107:101-10 [10]

Açıklama [gg54]:
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak kolonizasyonu of breastfed children in a rural area of low socioeconomic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93-109.
52. [11]

Açıklama [gg55]:
Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal *Lactobacilli* on early infancy. Arch Dis Child 1990;65:185-88.

40. Bennet R, Nord CE. [12]

Moleküler temelli çalışmalarda *Escherichia coli*, *Veillonella dispar*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus raffinosus*, *Ruminococcus gnavus*, *Enterococcus avium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Bacteroides*, *Streptococcus salivarius*, *Clostridium paraputrificum* vajinal doğan olguların intestinal floralarında doğum sonrası 1. haftada tespit edilmiş, üstelik bu olgularda ilk 2 hafta boyunca *Bifidobacterium*, *Enterobacter*, *Clostridium* ve *Streptococcus* cinsleri predominant izlenmiştir (16). Başka bir çalışmada vajinal doğumların hepsinde *Klebsiella oxytoca* ve *Bifidobacterium pseudolongum* saptanmış, *Escherichia coli* oranının vajinal doğumlarda daha fazla olduğu belirtilmiştir. *Bacteriodes*'e, vajinal doğan olgularda %8,7 oranında rastlanmıştır (17). 1. ayda analiz edilen gayta örneklerinde vajinal doğumlarda *Bifidobacter* ve total bakteri yükü oranı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (11). Vajinal yol ile doğan olguların erken dönemde karşılaştıkları yoğun bakteriyel yükün artmış yarışmalı inhibisyonu da beraberinde getirdiği ve bu sayede anaerobik intestinal floranın daha erken oluştuğu belirtilmektedir (59).

Sezaryen ile doğan olgular ise, annenin vajinal ve fekal florası ile direkt temas kurmamakta ve uzun süre annelerinden ayrı kalmalarından dolayı çevresel bakteriler ile daha yoğun temas etmektedir (61). Sezaryen ile doğan bebekler vajinal yolla doğanlar ile kıyaslandığında, *Bacteriodes*, *Bifidobacteria* ve *E. coli* ile karşılaşmalarının geciktiği birçok çalışmada gösterilmiştir (45,47,60,62). Bu olgularda, doğum sonrasında 1 yıla kadar daha düşük anaerobik fakültatif bakteri izlenmektedir. Ayrıca, azalmış yarışmaya bağlı olarak *Enterobacteriaceae* (*E. coli* hariç), *Klebsiella*, *Clostridia* (*C.difficile* dahil) artmaktadır (45). Vajinal doğan olgular ile kıyaslandıklarında ise beklenen *E. coli* ve *Bacteriodes* kolonizasyonlarını sırasıyla 6 ve 12. ayda yakaladıkları gösterilmiştir (62).

Ülkelerin gelişmişlik düzeyinin doğum şekliyle birlikte değerlendirildiği çalışmalarda ise gelişmekte olan ülkelerde sezaryen ile doğan infantların fekal bakteriyel floranın çevrelerinde olmasından dolayı *E. coli*, *Bifidobacteria* ve *Bacteriodes* ile gelişmiş ülkelerdeki yaşlılarından daha erken karşılaştığı gösterilmiştir (3,56). Başka bir çalışmada sezaryen ile doğan Pakistan'lı infantlarda *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* kolonizasyonu doğumun ilk saatlerinde saptanmış, ilerleyen günlerde anne sütü ile beslenmenin bu bakterilerin kolonizasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bu infantların birçoğunda, 6. ayda hala durağan bir *E. coli* florası tespit edilemezken her *E. coli* tipi değişken sayı ve yoğunlukta bulunmuştur (56).

Açıklama [gg56]:
Favier C. F. Molecular Monitoring of Succession of Bacterial Communities in Human Neonates. Appl Environ Microbiol. 2002 January; 68(1): 219–226

Açıklama [gg57]:
Biasucci G. Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacteria. J. Nutr. 138: 1796S–1800S, 2008.

Açıklama [gg58]:
Huurre A. Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity. Neonatology 2008;93:236–240

Açıklama [gg59]:
Huurre A. Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity. Neonatology 2008;93:236–240

Açıklama [gg60]:
Fanaro S, Chierici R. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr. Suppl 441: 48–55. 2003

Açıklama [gg61]:
Muroto K, Fujita K, Yoshikawa M, Saijo M, Inyaku F, Kakehashi H, et al. Acquisition of nonmaternal Enterobac-teriaceae by infants delivered in hospitals. J Pediatr 1993; 122: 120–5

Açıklama [gg62]:
Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli in early infancy. Arch Dis Child 1990; 65: 185–88. ... [13]

Açıklama [gg63]:
Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrn'e S, Orfei L, Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema. ... [14]

Açıklama [gg64]:
Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, et al. Reduced enterobacterial and increased ... [15]

Açıklama [gg65]:
51. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Bağırsak kolonizasyonu ile Enterobacteriaceae in Pakistani ... [16]

Açıklama [gg66]:
Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani ... [17]

1.4.1.3. Beslenme Şekli

Beslenmenin kolonizasyona etkisi birçok çalışmada belirtilmiştir. Bebeğin ilk gıdası olan anne sütü ile her 800 ml için ortalama $10^5 - 10^7$ kommensal bakteri aldığı tahmin edilmektedir. Anne sütünün içeriğindeki *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacter* ve laktik asit bakterileri (LAB) ile infant bağırsağı için sürekli bakteri kaynağı olduğu da gösterilmiştir (23). *Staphylococcus*'lar, anne sütüyle beslenen yenidoğanların bağırsaklarından yüksek oranda izole edilmiştir (56,63).

Anne sütü alan infantların bağırsak florasında en büyük farklılığın *Bifidobacter* ve LAB açısından olduğu düşünülen 1980 öncesi dönemin aksine, 1980 sonrası yapılan çalışmalarda, *Bifidobacter*'in anne sütü veya formül mama alan olgularda benzer düzeylerde olduğu saptanmış, LAB açısından ise fark olmadığı, hatta bazı çalışmalarda anne sütü alanlarda daha nadir görüldüğü, ancak *Lactobacillus* türlerinin, özellikle *L. rhamnosus*'un anne sütü alanlarda süten kesilenlere kıyasla daha sık kolonize olduğu bulunmuştur (64).

Formül mama alan bebeklerde ise *C. difficile*, *Bacteriodes*, *Enterococcus* ve *Enterobacteriaceae*, özellikle *Klebsiella* ve *Enterobacter* kolonizasyonu yüksek oranda olmaktadır (65) (Tablo III)

Tablo III. Anne sütü ile beslenen infantlarda intestinal flora bakterileri (65)

En fazla	Eşit oranda	En az
<i>Staphylococcus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Clostridium (C. difficile)</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ^a	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bacteriodes</i>
		<i>Enterobacteriaceae</i>
		<i>Enterococcus</i>

Formül mama ile beslenen infantların bağırsak mikrobiotası ile karşılaştırılmıştır.

^aDiğer *Lactobacillus* cinsleri hariç.

Açıklama [gg67]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin I, A.J. Nauta I, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Açıklama [gg68]:
26. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Bağırsak kolonizasyonu ile Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. Acta Paediatr Scand 1991;80:602-10.
27. Adlerberth I, Hanson L. A, Wold AE. The ontogeny of the bağırsak flora. In: Sanderson IR, Walker WA, editors. Development of the gastrointestinal tract. Hamilton, Ontario: B.C. Decker, Inc., 1999:279-92
BULAMADIM İNTERNET KİTAP OLARAK VAR, EKSIK

Açıklama [gg69]:
60. Ahrne S, Lonnermark E, Wold AE, Abberg N, Hesselmar B, Saalman R, et al. Lactobacilli in the bağırsak mikrobiota of Swedish infants. Microbes Infect 2005;7:1256-62.

Açıklama [gg70]:
The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy

1.4.1.4. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde İzlem

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde bakteri yayılımını önlemek ve tedavi amacıyla antibiyotiklerin yoğun kullanımı sonucunda, infantların mikroflorası seyrek ve

neredeyse anaeroblardan yoksundur. KNS, *Enterococcus* ve *Enterobacteriaceae* florada yaygındır, mayalara da sık rastlanır. Bu mikroorganizmaların varlığı, kullanılan antibiyotiklere karşı dirençleri doğrultusunda değişkenlik gösterir (66,67).

1.4.1.5. Gebelik yaşı

Sıkı hijyenik kontrol sağlanmış kliniklerde izlenen ve antibiyotik kullanımı gerektiren erken doğan bebekler, gecikmiş ve sınırlı sayıda bakteri kolonizasyonu göstermektedir (68). Hall ve ark. (60) yaptığı bir çalışmada, matür ve prematür bebekler kıyaslanmış, preterm infantlarda daha az koliform ve lactobasil kolonizasyonu izlenmiş, ancak median değerleri arasında fark saptanmamıştır. Hayatlarının 10.gününde kotta izlenen olgularda küvözde izlenenlere kıyasla laktobasil kolonizasyon prevelansının daha yüksek olduğu ve bu farklılığın antibiyotik tedavisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Bu olgularda, gestasyonel yaşlarından çok agresif antibiyotik tedavileri, doğum ve beslenme şekline bağlı olarak *Klebsiella* ve *Enterobacter spp.* izole edilmiş ve bu bakterilerin *E.coli*'den daha baskın olduğu sonucuna varılmış. Sık antibiyotik kullanımı birçok anaerobik bakteriyi baskımlarken, artan tek anaerob *Clostridia* türleri olmaktadır (69). Başka bir çalışmada, pretermelerde *Enterobacter spp.* ve *Streptokok* düzeylerinde yükseklik, *Bifidobacter* tespitinde gecikme olduğu görülmüş. Term infantlardaki *Bifidobacter* predominansının daha erken tespiti, prematürlerin anne sütü almasında gecikmeyle ilişkilendirilmiştir (70). YYBÜ'de anne sütü alımının, preterm infantlarda *S.epidermis* varlığını arttırdığı da kanıtlanmıştır (66).

Başka bir çalışmada YYBÜ'de izlenen çok düşük doğum ağırlıklı (ÇDDA) bebeklerde uzamış antibiyotik tedavisi, parenteral beslenme, oral beslenmede gecikme ve entübasyon gibi durumlar incelenmiş, sonuçta durağan flora oluşumunda gecikme, bakteri türlerinde yetersizlik ve özellikle *Bifidobacter* olmak üzere anaerob sayılarında azalma bulunmuştur (71). Aynı çalışmada, yetersiz anne sütü alımı ve antibiyotik kullanımının da bağırsak mikroflora gelişim ve dağılımını olumsuz etkilediği belirtilmiştir. Bu durumda antibiyotik kullanımına bağlı patojenik bakterilerdeki aşırı çoğalmanın, anne sütünün erken alınmasıyla azaltılabileceği de gösterilmiş. İmmatür bağırsağın yetersiz bakteri türleriyle seyrek kolonizasyonu, koruyucu Gram pozitif bakterilerin eksikliğine, dolayısıyla da nekrotizan enterokolite (NEK) neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Anne sütünün erken

Açıklama [gg71]:

55. MohandesAE, KeiserJF, JohnsonLA, RefatM, JacksonBJ. Aerobesisolatedinfecalmicroflora ofinfantsintheintensive carenursery:relationship tohuman milkuseand systemic sepsis. AmJInfectControl 1993;21:231-4, 56. HallstromM, EerolaE, VuentoR, JanasM, TammelaO. Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. EurJ Clin Microbiol Infect Dis 2004;23:463-70.

Açıklama [gg72]:

52. BennettR, ErikssonM, NordCE, ZetterstromR. Fecal bacterial micro?ora of newborn infants during intensive care management and treatment with?ventilator antibiotics. Pediatr Infect Dis J 1986;5:533-9.

Açıklama [gg73]:

44. HallMA, ColeCB, SmithSL, FullerR, RollesCJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli in early infancy. Arch Dis Child 1990;65:185-8.

Açıklama [gg74]:

6. AdlerberthI. Establishment of normal bacterial micro?ora in the newborn infant. In: HansonLA, YolkenRH, editors. Probiotics, other nutritional factors and bacterial micro?ora. Nestle Nutrition Workshop Series, no 42. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999:63-78.

Açıklama [gg75]:

25. SakataH, YoshiokaH, FujitaK. Development of the bacterial micro?ora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. Eur J Pediatr 1985;144:186-90.

Açıklama [gg76]:

43. EL-MohandesAE, KeiserJF, JohnsonLA, RefatM, JacksonBJ. Aerobesisolatedinfecalmicro?ora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. AmJ Infect Control 1993;21:231-4.

kullanımının, rutin antibiyoterapi uygulamalarının azaltılması ve bazı nazokomiyal enfeksiyonlara yönelik tedavi süresinin kısaltılması, GİS mikroflorasının daha az etkilenmesine, fekal mikrobiyal dağılımın gelişmesine ve NEK insidansında azalmaya neden olabileceği belirtilmiştir (71). Anne sütü ile kommensal mikroorganizmaların kolonizasyonu indüklenerek zararlı mikroflora oluşumunun önlenebileceği gösterilmiştir (72).

1.4.1.6. Antibiyotikler

Anne ve yenidoğanlarda bakteriyel yayılmayı önlemek için kullanılan antibiyotikler, yenidoğandaki kolonizasyon paternini güçlü şekilde etkiler.

Yenidoğanlarda yoğun antibiyotik kullanımı ile *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Pseudomonas* kolonizasyonunda artma, *Clostridia* dışında tüm anaeroblarda baskılanma ve *E. coli* düzeylerinde azalma izlenmekte, olgularda bağırsak mikroflorasındaki etkilenme, tedavi kesilse bile devam etmektedir (73).

1.4.1.7. Aile Yapısı ve Ev İçi Çevre

Bağırsak florasına yönelik çalışmalarda, aile yapısı ve yaşam şekli az çalışılan faktörlerdendir. Bir yaş civarında kardeşi olmayan bebeklerde daha fazla enterobakter (*E. coli* olmayan) ve *Clostridia* görülürken, daha az oranda anaerobik ve fakültatif bakteri görülmektedir. Dolayısıyla, tek çocuklar, C/S ile doğan çocuklara benzer şekilde daha az matur kolonizasyon paternine sahiptir (45). Yine tek çocukların bağırsağında 1. ayda, kardeşi olanlara kıyasla daha az sayıda *Bifidobacter* saptanmıştır. Kardeşler arasında ise *S. aureus* geçişinin olduğu ancak kardeşlerin birbirine birçok bakteri geçişine neden olarak *S. aureus* üremesini engelleyen karmaşık bir flora oluşturduğu gösterilmiştir (47).

Kardeş etkisine bir diğer açıklama ise, çoğul doğumlarda ilk doğanların sonradan doğana kıyasla daha steril olduğu yönündedir. Çünkü sonradan doğanların doğumları daha uzun sürmüştür, enema ve antibiyotik sonrası daha uzun bir süre geçmiştir, bu sebeple fekal flora ile kontaminasyon, ikinci ve üçüncü doğanlarda daha fazladır (55).

Evde hayvan beslemenin infantil kolonizasyona etkisi ise saptanmamış, ancak ev hayvanı besleyenlerde *S. aureus* daha az görülmüştür (45,74).

Açıklama [gg77]:
53. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool micro? or in extremely low birth weight infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1999; 80: F16 7-73.

Açıklama [gg78]:
54. Claud EC, Allan Walker A. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. FASEB J 2001; 15: 139 8-403.

Açıklama [gg79]:
18. Mackie RI, Sghir A, Gaskin HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr 1999; 69 Suppl: 103S-45S.

Açıklama [gg80]:
52. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahm ' eS, Orfei L, ° Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007; 120: 343-50.

Açıklama [gg81]:
34. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the gut microbiota in early infancy. Pediatrics 2006; 118: 511-21

Açıklama [gg82]:
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak kolonizasyonu of breastfed children in a rural area of low socioeconomic level. Ann NY Acad Sci 1971; 176: 93-109.

Açıklama [gg83]:
35. Wang M, Ahm eS, Antonsson M, Molin G, T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of fecal microbiota in infants of different ages. J Microbiol Methods 2004; 59: 53-69.
52. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahm ' eS, Orfei L, ° Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007; 120: 343-50.

1.5. Bağırsak Kolonizasyonu ve Mikroflora Gelişimi

1.5.1. Erişkin Bağırsak Mikroflorası

İnsan bağırsak florası doğadaki en karmaşık ekosistemlerden biridir (65). İntestinal flora, tüm vücutta bulunan 10^{13} insan hücresine kıyasla 10^{14} bakteri hücresi barındırır. Bu karmaşık bakteriyel kompozisyonun sahip olduğu gen hacmi, insan vücudundaki toplam gen sayısının 100 katıdır. Mikrobiyom olarak da adlandırılan bu gen havuzu, konak genomunun depolama gücünün çok üzerinde bir genetik bilgi deposudur (59). Bu bakteriler, hem kendi aralarında hem de bulunduğu konakla ilişkileri açısından özgün ve dinamik bir ekosistem oluşturur (12).

Mikrobiyomun konağa sağladığı özellikleri araştırmaya yönelik yapılan hayvan modelli bir çalışmada, steril deneklerde enfeksiyonlara yatkınlık, intestinal vasküleritede azalma, sindirim enzimlerinde yetersizlik, intestinal bariyerde zayıflık, sitokin ve immünglobulin üretiminde azalma, küçük Peyer plakları ve intraepitelyal lenfositlerde azalma tespit edilmiştir (75). Benzer yöntemlerle yapılan başka bir çalışmada ise, tek tür (*Bacteroides thetaiotaomicron*) ile kolonize olan deneklerde konak gen aktivasyonu sonucu sindirimsel aktivite, metabolizma, anjiogenez, mukozal bariyer fonksiyonları ve enterik sinir sistemi gelişiminde artış gözlenmiştir (76). Farklı araştırmalarda da intestinal flora bakterilerinin bağırsak kaynaklı immünizasyona ve glukoz sindirimine yardımcı olduğu gösterilmiştir (75,77,78).

Sıklıkla kültürel yöntemler ile saptanan intestinal flora yıllar içinde değişerek aşağıdaki bakteri grupları ile donatılır: *Bacteriodes*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Veillonella*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* ve *Peptococcus* (23). Erişkinlerde 16S ribozomal RNA temelli çalışmalar göstermiştir ki, *Bacteriodes* ve *Firmicutes* ailesi GİK'daki tüm bakteri topluluklarıyla kıyaslandığında %90 ile en yüksek oranda yer alır. Erişkin bağırsağında anaerob/fakültatif aerob türlerin oranı 100-1000:1'dir ve 1 yaş civarında infantil bağırsak sistemi "erişkin benzeri" yapıya kavuşur (23).

Kaynağı ne olursa olsun, özellikle kolonda ve ince bağırsak distalinde yerleşen bu mikroflora, çok önemli biyolojik aktivitesi nedeniyle "unutulmuş organ" olarak tanımlanmaktadır (12,33,80).

1.5.2. Bağırsak Mikroflora Matürasyonu

Açıklama [gg84]:
3-Simon GL, Gorbach SL. Intestinal flora in health and disease. Gastroenterology 1984; 86: 174-93.

4-Bengmark S. Ecological control of gastrointestinal tract: the role of the probiotic flora. Gut, 1998; 42: 2-7

Açıklama [gg85]:
The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. Carl Vaela and Kristine Desagerb Curr Opin Pediatr 21:794-800 2009

Açıklama [gg86]:
O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep 2006; 7:688-693

Açıklama [gg87]:
Shanahan F (2002) The host-microbe interface within the gut. Best Pract Res Clin Gastroenterol 16: 915-931

Açıklama [gg88]:
Xu J, Gordon JI (2003) Inaugural Article: Honor thy symbionts. Proc Natl Acad Sci USA 100: 10452-10459

Açıklama [gg89]:
Weinstein PD, Cebra JJ (1991) The preference for switching to IgA expression by Peyer's patch germinal center B cells is likely due to the intrinsic influence of their microenvironment. J Immunol 147: 4126-4135

Cebra JJ (1999) Influences of microbiota on intestinal immune system development. Am J Clin Nutr 69: 1046S-1051S ... [18]

Açıklama [gg90]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nautal, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Açıklama [gg91]:
Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant gut microbiota. PLoS Biol 2007; 5:e177.

Açıklama [gg92]:
6-Saevedra JM. Nutrition in clinical practice 2007; 22: 351-65
Tezcan FI. İntestinal immün sistem. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2007; 3(6): 65-7. ... [19]

Doğum öncesinde fetusun maternal kaynaklı bakterilere maruz kaldığını belirten bazı deneysel çalışmalar (1,2,81) olsa da sıklıkla yenidoğan bağırsaklarının doğumda steril olduğu kabul edilmektedir.

Doğum şekli, genetik özellikler, beslenme şekli ve diğer kaynaklarda bulunan bakterilerle karşılaşması sonucunda zaman içinde her bireye özgü yaklaşık 500 den fazla tür ve 10^{14} bakteriyi içeren gastrointestinal mikrobiyotadır (82).

İnfant gaytasının oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin düşük (0-200 mV) olması, aerobik mikroorganizmaların gelişimini kolaylaştırır. Doğumu takip eden ilk günlerde, infant mikrobiyotasında *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Streptococcus* ve *Stafilococcus* gibi aerob/fakültatif anaerob bakterilerin hakimiyeti gözlenirken, bu bakterilerin bağırsaktaki oksijeni tüketmesi neticesinde, *Bacteroides*, *Clostridium* ve *Eubacterium* gibi anaeroblar baskın hale gelir. Yapılan çalışmalarda özellikle anne sütü alan olgularda ilerleyen günlerde *Bifidobacter*, *Bacteroides* ve *Laktobacillus*'ların sayıca üstünlüğü gösterilmiştir (83).

6. aydan itibaren ek gıdaya geçişin sağlanmasıyla, aerob bakteriler içinde *Enterobacteria* ve *Enterococcus* artışı görülürken anaerobik mikroorganizmalardan *Bifidobacter*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* ve *Clostridia* daha sık izole edilmektedir (23,79).

Zamanla süttten kesme ve yetişkin gıdaları ile beslenme sonucunda karmaşık anaerobik mikrobiyotadır oluşup gelişmeye devam ederek hayatın ilk birkaç yılında olgunlaşma tamamlanır. İnfant bağırsağında anaerobik türlerde artışla ortaya çıkan yarışmaya fakültatif bakteriler dayanamaz ve çevresel değişiklikler anaeroblar tarafından oluşturulur (6,33) (Şekil 3). İlk yılın sonuna doğru, *C. difficile* büyüyen karmaşık mikrobiyotada daha az görülür (6,84). Zorunlu anaeroblarca zengin olan karmaşık mikrobiyota, yeni bakteri türlerinin gelişimi için güçlü bir bariyer oluşturur ve bu fenomene "kolonizasyon direnci" adı verilir. Kolonizasyon direnci, yenidoğanlarda zayıftır ve yaşla beraber artış gösterir (6,23). Bu dönem, bağışıklık sisteminin gelişim ve olgunlaşması açısından oldukça kritiktir (69).

Açıklama [gg93]:
Satokari, R., Gronroos, T., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2009. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. Letters in Applied Microbiology 48: 8-12.

Jimenez, E., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? Research in Microbiology 159: 187-193.

Jimenez E. Fernandez L. (... [20])

Açıklama [gg94]:
Hong, P.Y., Lee, B.W., Aw, M., Shek, L.P., Yap, G.C., Chua, K.Y. and Liu, W.T., 2010. Comparative analysis of fecal microbiota in infants with and without (... [21])

Açıklama [gg95]:
10. Brook I, Barrett C, Brinkman C, Martin W, Finegold S. Aerobic and anaerobic bacterial flora of the maternal cervix and newborn gastric fluid and conjunctiva (... [22])

Açıklama [gg96]:
Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant gut microbiota. PLoS Biol 2007; 5:e177.

Açıklama [gg97]:
Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease Gastroenterology 2009; 136: 65-80

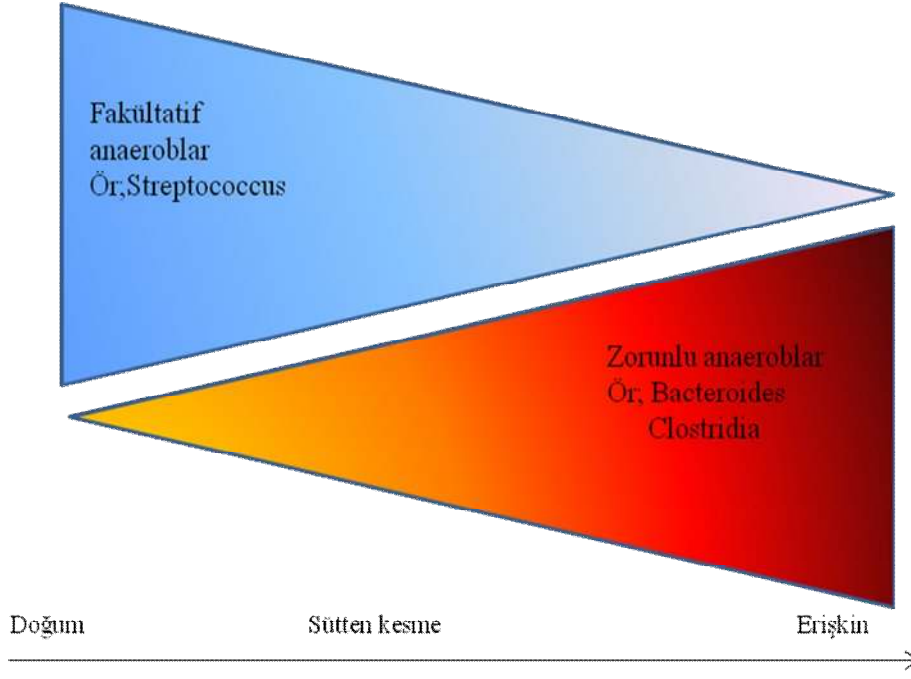
Açıklama [gg98]:
38. Orskov F, Sorenson KB. Escherichia coli serotypes in breast-fed and bottle-fed infants. Acta Pathol Microbiol Scand 1975; 83: 25-30.

Açıklama [gg99]:
Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. Acta Paediatrica ISSN 0803-5253. 2008

Açıklama [gg100]:
27. Balmer SE, Wharton BA. Diet and faecal flora in the newborn: breast milk and infant formula. Arch Dis Child 1989; 64: 1672-7.

Açıklama [gg101]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin I, A.J. Nauta I, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382 (... [23])

Açıklama [gg102]:
6. Adlerberth I. Establishment of the infant gut microbiota. In: Hanson LA, Yolkner RH, editors. Probiotics, other nutritional (... [24])



Şekil 3. İnsanda doğum sonrası bağırsak ekolojisinin değişimi (92)

1.6. Bağırsak Mikroflorasının Değerlendirilmesi

1.6.1. Kültürel Çalışmalar

1970 ve 1980’lerde infant bağırsak mikroflorası hakkında bilinenler dikkatlice yapılmış bir dizi kültür temelli çalışmaya dayanmaktaydı. Bu çalışmalara göre; infantil bağırsak mikroflorası yetişkiye göre daha az karmaşıktı ve daha yüksek oranda fakültatif bakteri içermekteydi (50,55,85- 87). Yaşamın ilk günlerinde, fakültatif anaerobların yayılması ile tükenen oksijene bağlı olarak anaerobik çevre oluşması ve zorunlu anaerobik bakterilerin üremesiyle erişkin tip flora oluşuyordu (55,86).

Klasik tip olarak adlandırılan kültürel çalışmalarda infanttaki ilk kolonizer *E. coli* ve enterokoklar (*E. faecalis* ve *E. faecium*) şeklinde tanımlandı. Üstelik bu bakterilerin populasyon düzeyleri yetişkinden daha yüksekti (55,85,86). Bu oksijen içeriğinin bol olduğu dönemde *Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* geçici olarak kolonize olabilen diğer Gram negatif aerobik/fakültatif anaerobik bakterilerdi (50,56,85).

Açıklama [gg103]:

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The bağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedandbottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.
22. MatalLJ,UrrutiaJJ.Bağırsakcolonizationofbreastfed childreninaruralareaoflowsocio-economiclevel. AnnNY AcadSci 1971;176:93–109.
23. RotimiVO,DuerdenBI.The developmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
24. StarkPL, LeeA. Themicrobialecologyofthelargebowelof breast...

[25]

Açıklama [gg104]:

22. MatalLJ,UrrutiaJJ. Intestinal colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. AnnNY AcadSci 1971;176:93–109.
24. StarkPL, LeeA. Themicrobialecologyofthelargebowelof breast-fedandformula-fedinfantsduringthefirstyearof life. J MedMicrobiol 1982;15:189–203.

Açıklama [gg105]:

22. MatalLJ,UrrutiaJJ.Bağırsakcolonizationofbreastfed childreninaruralareaoflowsocio-economiclevel. AnnNY AcadSci 1971;176:93–109.
23. RotimiVO,DuerdenBI.The developmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
24. StarkPL, LeeA. Themicrobialecologyofthelargebowelof breast-fedandformula-fedinfantsduringthefirstyearoflife. J MedMicrobiol 1982;15:189–203.

Açıklama [gg106]:

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The bağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedandbottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.
23. RotimiVO,DuerdenBI.The developmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
26. AdlerberthI,CarlssonB,deManP,JalilF,KhanSR,Larsson P,etal.Bağırsakcolonization...

[26]

Alfa hemolitik streptokoklardan olan *S. mitis*, *S. intermedius* ve *S. salivarius*'un yenidoğanda ilk haftada %20-30 kolonize olduğu görülmüş, neonatal sepsisin sık nedenlerinden olan Grup B streptokoklar ise yenidoğanlarda %5 kolonize bulunmuştu (88).

Staphylococcus cinsi bakterilerin yenidoğan kolonizasyonları klasik çalışmalarda farklılık göstermektedir. Yenidoğanların ilk haftada genellikle KNS ile kolonize olduğu (50,80,85,87), *S. aureus* kolonizasyonunun nispeten daha az olduğu belirtilmiştir (55,86).

1970 ve 1980'lerde *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ve *Clostridium spp*, hayatın ilk haftasında araştırılan yenidoğanların en az %50'nde $\leq 10^{11}$ CFU/g feçes düzeyinde tespit edilmiştir (55). *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. adolescentis* ve *B. infantis*'i içeren *Bifidobacter* türlerine infantta da yetişkinde olduğu gibi sık rastlanmıştır (50,89,90). *Bacteroides*'ler içinde *B. fragilis* grubuna (*B. fragilis*, *B. vulgatus* ve *B. thetaiotamicron*) hem infant hem de yetişkinlerde sık tespit edilmiştir (50,85,90,91). Clostridial küme I ve XI'e ait *C. perfringens* ve *C. difficile* de genç infantlarda sık tespit edilmiş, bunları küme I'e ait olan *C. paraputrificum* ve *C. tertium*'un izlediği gösterilmiştir (46). *C. difficile* genç infantlarda nedeni bilinmeyen bir şekilde semptomlara neden olmadan göreceli olarak yüksek seyrettiği belirtilmiştir (50,85,90). Klasik çalışmalarda *Lactobasillus spp.* kolonizasyonunun ilk yılda sık olmadığı ve bu bakterilerin infantlarda stabil bir popülasyon oluşturmadığı fikri hakimdi öne sürülmüştür (55,69,86). Ancak bazı çalışmalar yüksek izolasyon oranları vermiştir (60). Bu çalışmalarda diğer anaerobların araştırılması hedeflenmese de *Veillonella* %40-90, *Eubacterium* <%50 ve *Ruminococcus* < %10 oranında bulunmuştur. Peptostreptokoklar ise katı gıda alımıyla beraber ortaya çıkmış, oksijene çok hassas olduğundan kültürü zor yapılan *Fusobacteria*, 1 aylık infantların <%5'nde tespit edilmiştir (50,55).

1.6.2. DNA Metodolojisi Baz Alınan Çalışmalar

Son dekatta infant bağırsak mikroflorasını incelemek için kültürel yöntemlere alternatif olarak FISH, DGGE, 16S rRNA klonlama ve sekanslama, Q PCR gibi yöntemler kullanılmıştır. Bu teknikler kültürel yöntemler ile benzer özellik gösterse de yeni bulgular da eklenmiştir (14,92) (Tablo IV).

Açıklama [gg107]:

28.
PerssonKM,BjerreB,ElfstromL,Pol
bergerS,ForsgrenA.
FaecalcarriageofgroupBstreptococ
ci. EurJ ClinMicrobiol 1986;5:156-
9.

Açıklama [gg108]:

6-Saevedra JM. Nutrition in
clinical practice 2007; 22: 351-65
Tezcan F.I. Intestinal immun
sistem. Türkiye Klinikleri J Pediatr
Sci
2007; 3(6): 65-7.
21.
BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The
bağırsakmicrofloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.
MicrobiolImmunol 1984;27:1-10

Açıklama [gg109]:

22.
MatalJ,UrrutiaJJ.Bağırsakcoloniza
tionofbreastfed
childreninaruralareaoflow
income

Açıklama [gg110]:

21.
BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The
bağırsakmicrofloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.

Açıklama [gg111]:

3.
FinegoldSM,SutterVL,MathisenG
E.Normalindigenous
bağırsakflora. In: HentgesD, editor. *Handbook of normal flora*. New York: Plenum Press; 1983. p. 1-10.

Açıklama [gg112]:

21.
BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The
bağırsakmicrofloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.

Açıklama [gg113]:

6-AdlerberthI.Establishmentofo
malbağırsakmicroflorain
thenewborninfant. In: HansonLA, °
YolkenRH, editors. *Handbook of normal flora*. New York: Plenum Press; 1983. p. 1-10.

Açıklama [gg114]:

32.
HallMA,ColeCB,SmithSL,FullerR,
RollersCJ.Factors
influencingthepresenceofthefecal
microfloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.

Açıklama [gg115]:

21.
BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The
bağırsakmicrofloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.

Açıklama [gg116]:

21.
BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The
bağırsakmicrofloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.

Açıklama [gg117]:

21.
BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The
bağırsakmicrofloraof
infants:compositionofthefecalflorai
nbreastfedandbottlefedinfants.

Tablo IV. DNA bazlı çalışmalarda intestinal florada saptanan farklılıklar (92)

Örnek Sayısı	Referans	Sonuçlar	Analiz metodu
12	93	Kültür ile kıyaslandığında <i>Bacteriodes</i> 100-1000 kat daha fazla	FISH
14	92	Bazı türlerde önemli kolonizasyon değişiklikleri. Ör; <i>Bacteroides</i>	16S rRNA
2	16	<i>Clostridia</i> infanttaki ilk kolonizer	DGGE
12+2	94	AS alanlarda <i>Ruminococcus</i> <i>Bifidobacterium</i> kadar yaygın	DGGE, Q PCR
40	95	Formula alanlarda <i>Desulfovibrio</i> tespit edildi	Q PCR
12	96	Formula alanlarda <i>Coriobacterium</i> tespit edildi	FISH
40+14	92,97	Archaea (<1 yaş, ilk haftada düşük prevalans), <i>Methanobrevibacter smithii</i>	Q PCR
14	92	<i>Bifidobacterium</i> bağırsak mikrobiotasında çok az	16S rRNA, Q PCR

Açıklama [gg118]: Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. J Nutr 2008; 138:1791S-1795S. An interesting summary of the results obtained with DNA methods on faecal samples of infants including the limitations of these data and the potential bias introduced by these molecular techniques.

Açıklama [gg119]: Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol 2007; 5:e177.

Açıklama [gg120]: Morelli

Açıklama [gg121]: Morelli

Açıklama [gg122]: Morelli

Açıklama [gg123]: Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. J Nutr 2008; 138:1791S-1795S. An interesting summary of the results obtained with DNA methods on faecal samples of infants including the limitations of these data and the potential bias intro (... [37])

Açıklama [gg124]: Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microb (... [38])

Açıklama [gg125]: Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal (... [39])

Açıklama [gg126]: 33. HopkinsMJ,MacfarlaneGT,FurrieE ,FiteA,MacfarlaneS. (... [40])

Açıklama [gg127]: 33. HopkinsMJ,MacfarlaneG (... [41])

Açıklama [gg128]: 35. WangM,AhrneS,AntonssonM,Mol inG.T-RFLPcombined (... [42])

Açıklama [gg129]: Hopkins MJ, Macfarlane GT, Furrie E, et al. Characterisation of bağırsak bacteria in infant (... [43])

Açıklama [gg130]: 35. WangM,AhrneS,AntonssonM,Mol inG.T-RFLPcombined (... [44])

Moleküler yöntemlerle yapılan çalışmalarda *Clostridia* cinsi bakterilerin infanttaki belki de ilk kolonizer olduğu belirtilmiştir. Ek olarak erken mikroflorada *Bifidobacterium*, *Clostridium* ve *Bacteriodes* cinsinin baskın olduğu ifade edilmiştir (47,74,95). *Clostridia* küme XIVA'ya ait üyeler ve *Faecalibacterium prausnitzii* gibi anaeroblar ise daha nadir görülür (74,95,98). Hayatın ilk ayında *Ruminococcus* spp. gibi kültürü zor yapılan anaeroblara DNA temelli çalışmalarda daha sık rastlanırken, önceki çalışmalarla kıyaslandığında kolonizasyon oranının daha fazla olabileceği belirtilmektedir (16,74). Formül mama alan bebeklerin gaytalarında *Coriobacterium* grubu (*Atopobium* ve *Collinsella*), inflamatuvar bağırsak hastalıkları ile ilişkili, sülfat indirgeyici bir grup bakteri olan *Desulfovibrio* da saptanmıştır (95).

FISH ile yapılan çalışmalarda kültürel yöntemler ile kıyaslandığında *Bacteriodes* türlerinin 100-1000 kat daha fazla saptanmıştır (96). Metanojenik Archea türlerine (*Methanobrevibacter smithii*) ilk haftada düşük düzeyde rastlanmıştır (92,97).

Klonlama ve sekanslama ile ilk yılda infantil fekal örneklerin %30'unda tanımlanamayan bakteri saptanmış, bu oranın ilk 2 ayda %10 olduğu belirtilmiştir (74).

DNA teknolojileri kullanılarak yapılan çalışmaların kültür temelli çalışmalara üstünlüğü olsa da çözümü gerektiren birtakım sorunları mevcuttur. İlki, çalışılan örnek sayısının az olmasıdır ki bu durumun en büyük nedeni maliyet yüksekliğidir. Diğer problemler; yüksek düzeyde guanozin ve sitidin (G-C) içeren bakteri gruplarının suboptimal

amplifikasyonu, problemlerden kaynaklı yalancı pozitif hibridizasyon, PCR ile saptanan rekombinant DNA örneklerinin primer nükleotidlerinin eşleşmemesi ve DNA ekstraksiyon zorluklarıdır (19,21,99).

Açıklama [gg131]:
Turroni F, Ribbera A, Foroni E, et al. Human gut microbiota and bifidobacteria: from composition to functionality. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 94: 35–50.

1.7. Bağırsak Mikrobiotasının Uzun Dönem Etkisi

Bağırsak mikroflorası bağışıklık sisteminin gelişim ve düzenlenmesi için gereklidir. Bakteriyel kolonizasyon paterni, immün gelişim sonuçlarını ve ileriki yaşamda gelişebilecek alerji, obezite veya DM gibi bağışıklık bağımlı hastalıkların oluşumunu etkiler. Sağlıklı ve atopik çocuklardaki mikroflora kompozisyonu ve aktivitesi birçok kesitsel çalışmada gösterilmiştir (65,100-102). Alerjik infantların allerjik olmayanlara kıyasla bifidobakter kolonizasyonunun daha az olduğu yönünde veriler elde edilmiştir. Üstelik bu olgularda *B. adolescentis* gibi erişkin tip *Bifidobacterium* türlerine daha sık rastlanmıştır (103).

Mikroflorada gözlemlenen bu değişimler allerjik süreçleri başlatıyor mu yoksa allerjinin sonucunda mı ortaya çıkıyor sorusu hala belirsizliğini korumaktadır. Kalliomaki ve ark. (8) ilk kez bu konu hakkında somut verilere ulaşmış, bağırsak mikroflorasındaki değişikliklerin atopi gelişiminden önce olduğunu ve yenidoğan döneminde *Bifidobacter/Clostridia* oranında gerileme ile kendini gösterdiğini tespit etmiştir (8,104).

Ly ve ark. (105) C/S ile doğan infantlarda değişken mikroflora kompozisyonu olduğunu ve kord kanı hücrelerinin stimülasyonu sonrası IL-13 sitokininde artış olduğunu göstermiş, bu durumun infantlarda ciddi atopi ve astım gelişimi için yüksek oranda anlamlı olduğu bulunmuştur. Farklı çalışmalarda annenin probiotik alımının infant mikroflorasını etkilediği ve egzema riskini azalttığı gösterilmiştir (106, 107).

Giongo ve ark. (108) yapmış olduğu başka bir çalışmada ise sağlıklı ve Tip 1 DM geliştiren otoimmün çocukların mikrobiyomları moleküler yöntemler ile karşılaştırıldığında, zaman içinde otoimmünite geliştiren çocuklarda *Firmicutes* türlerinin azaldığı, *Bacteroides*’lerin ise arttığı saptanmıştır. *Bacteroides* ailesindeki değişiklik en fazla *B.ovatus*’da, *Firmicutes* ailesindeki en büyük artış ise *Clostridiales: Human intestinal Firmicute CO19*’da olduğu görülmüştür. Bu çalışmada otoimmün olmayan çocuklarda, bağırsak mikrobiotasının zaman içinde dengeli ve durağan; otoimmünite geliştiren çocuklarda ise daha dar ve süregen olduğu gösterilmiştir.

2. ANNE SÜTÜ

2.1. Anne Sütünün Önemi

İnsanoğlu, immatür ve sonradan kazanılacak bir bağışıklık sistemi, mikrofloraca fakir bağırsaklar ve patojenleri kovma yetisinin azlığı ile doğar. Doğumu takiben çok sayıda mikroorganizma, yabancı protein ve kimyasala maruz kalan mukozal yapılar pek çok patojen, allerjen ve karsinojen için giriş kapısı işlevi görür. Yenidoğanlarda bağışıklığın bileşenleri tam olarak gelişmediğinden içsel ve dışsal birçok tehlikeye maruz kalır. Kazanılmış bağışıklık doğumdan sonra değişken bir süre boyunca neredeyse yoktur. Yenidoğan için doğal bağışıklığın hızlı ve etkin gelişimi büyük önem taşımaktadır. Çünkü yenidoğan ve kazanılmış bağışıklık arasındaki başarılı etkileşim sağlıklı bir yaşam için gereklidir (109,110).

Anne sütü, yenidoğanın ilk besini olması, bağışıklık oluşturan faktörler içermesi, doğal immünolojik terapi ve pasif aşılama özelliği nedeniyle doğal bağışıklık sistemini geliştirecek olan bağırsak mukoza bariyeri için önemli bir tamamlayıcıdır (110).

Anne sütü alanlarda gastrointestinal enfeksiyonlar ve bu enfeksiyonlara ikincil mortalite sıklığı, almayanlara göre daha düşüktür. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde emzirme ile diyare ve solunumsal hastalıklara bağlı ölümlerde azalma gösterilmiştir (111).

Prematüre bebeklerde anne sütünün nekrotizan enterokolit insidansında azalmaya neden olduğu anlamlı olarak gösterilmiştir. Bu nedenledir ki birçok yenidoğan yoğun bakım ünitesinde prematürelere, hayatın ilk birkaç gününde minimal enteral beslenme ile anne sütü verilmesi standart uygulama haline gelmiştir (111).

Birçok epidemiyolojik çalışmada yeterli anne sütü alan çocuklarda uzun dönemde astım, atopik hastalıklar ve obezite gelişiminde belirgin azalma olduğu, anne sütünün Çölyak Hastalığı'na karşı da koruyucu olduğu belirtilmiştir (111).

Gelişmiş ülkelere obezite ile bağlantılı tip 2 diyabetes mellitus gibi hastalıklar büyük sorun oluşturmaktadır. Anne sütü alan olgular yaşamın ilk altı ayında almayanlara kıyasla belirgin kilo artışı gösterse de sonraki yaşlarında obezite riski daha azdır. ABD'de 15000 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada anne sütünün çocuk ve adolesan obezitesinden koruyucu etkisi gösterilmiştir. Ek olarak düzenli anne sütü alımı, erişkin dönemde serum kolesterolünde düşüklüğe neden olmaktadır (111).

Özetle, anne sütü; fizyolojik, immünolojik, enfeksiyondan koruyucu ve besleyici özellikleri nedeniyle bebek için çok önemlidir. Miyadında ve prematüre doğmuş bebekler için

Açıklama [gg132]:
Newburg, D. S., 2005. Innate Immunity and Human Milk.: *American Society for Nutritional Sciences*, 135, s.1308-1312.
Per Brandtzaeg, 2003, Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant: *Vaccine*, 21, s.3382-3388.

Açıklama [gg133]:
Per Brandtzaeg, 2003, Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant: *Vaccine*, 21, s.3382-3388.

Açıklama [gg134]:
Academy of Breastfeeding Medicine Founder's Lecture 2008: Breastfeeding—An Extrauterine Link Between Mother and Child Samuli Rautava1,2 and W. Allan Walker
BREASTFEEDING MEDICINE Volume 4, Number 1, 2009

Açıklama [gg135]:
Academy of Breastfeeding Medicine Founder's Lecture 2008: Breastfeeding—An Extrauterine Link Between Mother and Child Samuli Rautava1,2 and W. Allan Walker
BREASTFEEDING MEDICINE Volume 4, Number 1, 2009

Açıklama [gg136]:
Academy of Breastfeeding Medicine Founder's Lecture 2008: Breastfeeding—An Extrauterine Link Between Mother and Child Samuli Rautava1,2 and W. Allan Walker
BREASTFEEDING MEDICINE Volume 4, Number 1, 2009

Açıklama [gg137]:
Academy of Breastfeeding Medicine Founder's Lecture 2008: Breastfeeding—An Extrauterine Link Between Mother and Child Samuli Rautava1,2 and W. Allan Walker
BREASTFEEDING MEDICINE Volume 4, Number 1, 2009

besin kaynağı olması yanı sıra, gastrik boşalmayı hızlandırır, enfeksiyon sıklığını azaltır ve daha iyi nörobilişsel gelişim sağlar (112,113). İmmün cevabı düzenleyerek yaşamın ileri dönemlerinde kanser ve otoimmün hastalık gelişimini engeller (112,114).

Anne sütünün içeriği bebeğin yaşına ve fizyolojik özelliklerine göre değişir (113). Matür süte kıyasla daha fazla koruyucu faktör içeren kolostrumun bebeğe ilk besin olarak verilmesi, hayatın ilk altı ayında sadece anne sütü ile beslenilmesi bu nedenle çok önemlidir (114).

2.2. Anne Sütünün İçeriği

Anne sütü yenidoğan bebek için en uygun olan ve pek çok farklı bileşiği bir arada bulunduran biyolojik olarak karmaşık bir sıvıdır. Mikroorganizmalar (*Lactobacillus*, *Bifidobacter*), bağışıklık sağlayan ajanlar (sIgA, glikanlar ve oligosakkaritler, K-kazein ve α -laktoalbumin), besin maddeleri, antiinflamatuvar bileşenler (laktoferrin, haptokorrin, α - ve β -defensin, lizozim, trigliseridler, Solubl TNF- α reseptör antagonisti, ve IL-1RA, IL-10, TNF- β , antioksidanlar, proteaz inhibitörleri, prostaglandinler, sCD-14, TGF- β , adiponektin), hormonlar, büyüme faktörleri (EGF, IGF), kalsiyum, demir, B12 vitamini gibi hayati nutrient ve enzimler içermektedir. Bu eşsiz içerik, anne sütünü besin maddesi olmanın çok daha ötesine taşımaktadır (111,115).

2.2.1. Anne Sütünde Bulunan Bakteri Grupları ve Önemi

2000’li yıllarla başlayan birkaç araştırma sonucunda, anne sütü olarak bilinen biyolojik salgıdan izole edilen bakterilerin genellikle *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* oldukları saptanmış, anne sütünün infant bağırsağı için kommensal ve potansiyel probiyotik bakteriler açısından mükemmel ve sürekli kaynağı olduğu gösterilmiştir. Bu bakteri grupları, bakteriyoterapötik ya da potansiyel probiyotik suşları içermektedir. Doğumu izleyen birçok hafta boyunca, insan sütü, bebek bağırsak mikrobiyotasının sürekli mikroorganizma kaynağıdır ve bu nedenle yenidoğan bağırsak mikrobiyotasının başlaması ve gelişiminde önemli bir faktördür (48,116).

Günde 800 ml süt tüketen bir bebek yaklaşık 10^5 – 10^7 adet (10^3 – 10^5 CFU/ml) bakteriyi de birlikte almaktadır. Başka bir deyişle, bebek fekal florası anne sütü bakteri

Açıklama [gg138]:
Atkinson SA. Human milk feeding of the micropremie. Clin Perinatol 2000; 27(1):235-47
Spear HJ. Breastfeeding & support. AWHONN Lifelines. 2005; 9:181-3

Açıklama [gg139]:
Atkinson SA. Human milk feeding of the micropremie. Clin Perinatol 2000; 27(1):235-47
2. American Academy of Pediatrics. Human milk. In : Pickering LK, Baker CJ, Long SS, McMillan JA, Red Book : Report of the Committee on Infectious Diseases. 26th ed. Elk Grove Village, IL : American Academy of Pediatrics; 2003: p117

Açıklama [gg140]:
Spear HJ. Breastfeeding & support. AWHONN Lifelines. 2005; 9:181-3

Açıklama [gg141]:
American Academy of Pediatrics, Work group on breastfeeding. Breastfeeding and the use of Human milk, Pediatrics 1997; 100:1035-9.

Açıklama [gg142]:
Darragh, A., 2002, Human Milk., Massey University, Palmerston North, New Zealand Elsevier Science, s.1350-1360
Academy of Breastfeeding Medicine Founder’s Lecture 2008: Breastfeeding—An Extraterine Link Between Mother and Child Samuli Rautava1,2 and W. Allan Walker BREASTFEEDING MEDICINE Volume 4, Number 1, 2009

Açıklama [gg143]:
[12] M.P. Heikkilä, P.E.J. Saris, Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. J. Appl. Microbiol. 95(2003) 471-478.
[22] R. Marti, S. Langa, C. Reviriego, E. Jimenez, M.L. Mari, J. Xaus, L. Fernandez, J.M. Rodrıguez, Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. J. Pediatr. 143(2003) 754-758.

kompozisyonunun bir yansımasıdır (48,117). Tablo V’de sağlıklı anne sütünden izole edilen başlıca bakteri grup ve türleri gösterilmiştir.

Tablo V. Sağlıklı anne sütünden izole edilen başlıca bakteri cins ve türleri (117)

<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>S. epidermis, S. Hominis, S. capitis, S. aureus</i>
<i>Streptococcus sp.</i>	<i>S. salivarius, S. mitis, S. parasanguis, S. peroris</i>
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>L. gasseri, L. rhamnosus, L. acidophilus, L. plantarum, L. fermentum</i>
<i>Enterococcus sp.</i>	<i>E. faecium, E. faecalis</i>

Yukarıdaki türlere ait bakteriler, birbirinden çok uzak ülkelerde sağlıklı annelerin taze sütlerinden izole edilebilmektedir. Bu durum bakterilerin anne sütündeki varlığının yaygınlığına işaret eder. Böylelikle, anne sütünün doğal mikroflorasının bileşenleri olarak görülebilirler (117).

Değişik çalışmalarda hem anne sütü hem de infant barsağında *Laktobacillus*, *Enterococcus* ve *S.aureus*’un benzer tipleri izole edilmiştir (116,118). Bu araştırmalarda saptanan bakterilerin birçoğunun anne sütünde olduğu ve emzirme sırasında bebeğe geçtiği öngörülmüştür (16).

2.2.1.1. Anne Sütündeki Bakterilerin Kaynağı

Emzirmeye hazırlık döneminde meme bezleri bir dizi değişim geçirir. Gebelik boyunca, meme alveol ve kanallarının hormonal etkilerle çoğalması, meme dokusundaki artışı da beraberinde getirir. Doğum öncesinde meme lobcuk sayısı en üst düzeydedir. Meme ucu, yağ bezleri ve areola genişler. Meme bezinin artmış lenf ve kan stoğu, meme alveolünü kuşatan mioepitel hücrelerin doğum sırasında salgılanan oksitosin ile artan hareketi sonucunda anne sütünde endojen bakterilerin varlığı kolaylaşır. Mevcut değişiklikler meme başını çevreleyen bölge ve meme kanal sisteminde biyofilm oluşumuna, dolayısıyla mikroorganizmaların tutunmasına elverişli koşulları sağlar. Emzirme döneminde, bağışıklık sistem hücreleri de anne sütünde bol miktarda bulunur ve bu durum hormonal olarak düzenlenir (117).

Açıklama [gg144]:
2003, Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk: *Journal of Applied Microbiology*, 95, s.471–478.
Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J. ve Rodríguez M.J., 2004, The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: *Trends in Food Science and Technology*, 15, s.12–27.

Açıklama [gg145]:
(Diaz: Ropero ve Ark., 2006; 1993; Heikkilä ve Saris, 2003; Wright ve Fenny,1998; Martín ve Ark., 2004; Martín ve Ark., 2005; Guemonde ve Ark., 2007)

Açıklama [gg146]:
Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J. ve Rodríguez M.J., 2004, The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: *Trends in Food Science and Technology*, 15, s.12–27

Açıklama [gg147]:
50.
Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Xaus J., et al. Human milk as a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 2003;143:754–8.
51.
Kawada M., Okuzumi K., Hitomi S., Sugishita C. Transmission of *Staphylococcus aureus* between healthy lactating mothers ... [45]

Açıklama [gg148]:
[7] C. F. Favier, E. E. Vaughan, W. M. de Vos, A. D. L. Akkermans, Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates, *Appl. Environ. Microbiol.* 68(2002)219e226.

Açıklama [gg149]:
Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J. ve Rodríguez M.J., 2004, The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: *Trends in Food Science and Technology*, 15, s.12–27 ... [46]

Son yıllarda yapılan araştırmalar, doğum öncesi anne bağırsak ve süt doğal floralarının, fetus ve yenidoğan bağırsak florasının oluşumunda iki önemli kaynak olduğuna işaret etmektedir (48,117). Genel olarak kabul gördüğü üzere, infant doğum kanalından geçerken annenin fekal mikroflorası ile tanışır ve oral yolla bu mikroflorayı önce meme cildine ardından emme esnasında süt kanallarına taşır. Ancak yapılan çalışmalar ile bu durum tartışmalı bir hal almıştır, zira annenin meme cildindeki bakteriler ile anne sütündeki bakterilerin çeşitliliği birbirinden farklıdır (116,119).

Anne sütüne geçiş kaynaklarını saptamak adına çeşitli çalışmalar planlanmıştır; bir çalışmada, *S. typhimurium* DT 104'ün bebeklere iletiminin anne sütü ile olduğu rapor edilmiş, bakterinin başlangıçta maternal bağırsakta yerleştiği ve içsel bir yol izleyerek meme bezine ulaştığı da gösterilmiştir. Anne bağırsağı ve meme dokusu arasındaki bu döngüye "enteromammarik siklus" adı verilmiş, bakterilerin anne bağırsağından dentritik hücreler ve makrofajlar yardımı ile meme bezlerine taşındığı savunulmuştur (117).

Bu hipotez Perez (120) tarafından da doğrulanmış, anne sütünün ml'de <3 log CFU canlı bakteri ve geniş oranda özellikle Bifidobakteriyel DNA'yı içeren serbest bakteriyel DNA örnekleri içerdiğini ve bunların neonatal immün sistemi programlamada çalışabileceğini bulmuştur. Havyan modellerinde de bağırsaktan meme dokusu ve mezenterik lenf nodlarına bakteri translokasyonu gösterilmiştir (120,121). Mevcut çalışmalarda süte bakteri geçişinde özellikle dentritik hücrelerin rolü olduğu bildirilmiştir (117).

Anne sütünde bulunan bakterilerin, anne bağırsağından endojen yollar ile meme bezlerine geçişinin doğrulanması halinde, anne bağırsak mikroflorasının modüle edilebilmesi gibi bakteriyoterapi (kommensal veya yararlı bakterilerin, konağın patojenler tarafından kolonizasyonunu önlemek için kullanılması) ve probiyotiklerin çok amaçlı kullanımı konusunda yeni ufuklar açılabilir (122). Bu bağlamda sağlıklı anne sütü, enfeksiyon hastalıklarına karşı hem anneyi hem de bebeği korumadaki rolü ile biyoterapötik LAB veya potansiyel probiyotiklerin önemli bir kaynağı olmaktadır (117).

Açıklama [gg150]:
Martin, R., Jimenez, E., Heilig, H., Fernandez, L., Marin, M.L., Zoetendal, E.G. and Rodriguez, J.M., 2009. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. Applied and Environmental Microbiology 75: 965-969.

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic a... [47]

Açıklama [gg151]:
Martin R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin M.L., Olivares M., Boza J., Jimenez J., Fernandez L., Xaus J. ve Rodriguez M.J., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: Trends in Food... [48]

Açıklama [gg152]:
Perez, P.F., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., Segura-Roggero, I., Schiffrin, E.J. and Donnet-Hughes, A., 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 119: e724-e732.

Açıklama [gg153]:
Perez, P.F., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., Segura-Roggero, I., Schiffrin, E.J. and Donnet-Hughes, A., 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 119: e724-e732... [49]

Açıklama [gg154]:
Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Olivares, M., Boza, J., Jimenez, J., Fernandez, L., Xaus, J. and Rodriguez, J., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics... [50]

Açıklama [gg155]:
Reid, G., Howard, J., ve Gan, B. C., 2001, Can bacterial interference prevent infection? Trends in Microbiology, 9, s. 424-428.

Açıklama [gg156]:
Martin R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin M.L., Olivares M., Boza J., Jimenez J., Fernandez L., Xaus J. ve Rodriguez M.J., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: Trends in Food... [51]

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Etik Kurul Karar No: 2010/022) (Ek 1) ve Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklendi (Proje No: TPF-11005). Olguların seçim ve izlemi 1 Kasım 2011- 1 Şubat 2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Yenidoğan BD Yoğun Bakım Ünitesi'nde ve Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD Kliniği'nde yapıldı. Alınan örneklerin moleküler incelemeleri 1 Şubat 2012- 1Ağustos 2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD tarafından ADÜ BİLTEM Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Örneklem Sayısı

Toplam 10 yenidoğan- anne çifti çalışmaya dahil edildi. Her yenidoğandan doğumunun 1, 3 ve 7.günlerinde gayta örnekleri alındı. Her yenidoğanın annesinden de 7.günde anne sütü alındı. Ve böylece toplam 30 gayta ve 10 anne sütü örneği çalışıldı.

Çalışmaya Kabul Edilme Kriterleri

1 Kasım 2011 ile 1 Şubat 2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'ne doğumunun 0-24. saatinde kabul edilen hasta yenidoğanlar ve bu yenidoğanların anneleri ile Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde anne yanında tarafımızdan izlenen 38. gebelik haftasını doldurmuş sağlıklı yenidoğan olgular ve bu olguların anneleri çalışmaya dahil edildi.

Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

38. gestasyon haftasından önce doğan yenidoğanlar, 0- 7. gün arasında sadece formül mama veya total parenteral nutrisyon ile beslenen yenidoğanlar, annenin operasyon

öncesi kullandığı profilaktik antibiyotik haricinde antibiyotik kullanımı, annede meme dokusunu ilgilendiren enfeksiyon olması çalışmadan dışlanma kriteri olarak kabul edildi.

Çalışmanın Yapılması

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Yenidoğan BD Yoğun Bakım Kliniği'nden 6 term yenidoğan ve annesi ile Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde anne yanında sağlıklı olarak izlenen 4 term yenidoğan ve anneleri olmak üzere toplam 10 bebek- anne çifti çalışmaya alındı. Olguların belirlenmesi çalışmanın başladığı tarihten itibaren dahil edilme kriterlerine uyan ilk 10 örneğin ilgili kliniklere yatış sırasına göre yapılmıştır.

Yenidoğan bebeklerin annelerine çalışma hakkında yazılı bilgi veren bilgilendirilmiş olur metni (Ek 2) verildi ve yazılı izinlerinin olduğu bilgilendirilmiş olur formu (Ek 3) okutularak imzalatıldı.

Her olgunun adı, soyadı, adres, telefon numarası, doğum tarihi ve yeri, gestasyon haftası, doğum şekli, cinsiyeti, doğum ağırlığı, beslenme şekli, antibiyotik kullanımları sorgulandı. Gebelik yaşları son adet tarihine göre belirlendi. Anne adı-soyadı, yaşı, eğitim durumu, gelir düzeyi, son adet tarihi, gebelik sayısı, gebelikte geçirdiği hastalıklar, erken veya uzamış erken membran rüptürü, gebelik öncesi ve sonrasında probiyotik tüketim bilgileri kaydedildi. Moleküler yöntemler ile ilgili yenidoğan gaytası ve anne sütünden elde edilen bakteri DNA'larının sınıflandırılması da yapılarak tüm bu bilgileri içeren olgu rapor formu (Ek 4) dolduruldu.

Örneklerin Toplanması

Tüm yenidoğanlardan gayta örnekleri doğumu izleyen 1 (≥ 24 . saat), 3 (≥ 72 . saat) ve 7.günlerde bebek bezlerinden steril kültür çubuğu ile alınıp, steril gayta kaplarına konuldu. Olguların annelerinden doğum sonrası 7.günde aseptik koşullarda anne sütü alındı. Aseptik koşulların sağlanması ve annenin cilt florasından kontaminasyonun önlenmesi amacıyla meme başı ve çevresi önce polivinilpirolidon iyot (Polividon-iyot) %10 çözeltisi ile silinerek bir dakika beklendikten sonra steril su ile tekrar silindi. Araştırmacı tarafından steril eldiven giyilerek sağma sonrası ilk gelen anne sütünden 2 cc atıldı. Steril kaplara yaklaşık 5

cc anne sütü sağıldı. Gayta ve süt örnekleri ADÜ BİLTEM Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda yapılacak olan DNA izolasyonuna kadar -18°C'de bekletildi. Örneklerden elde edilen DNA'lerden üniversal primerlerle 16S rRNA çoğaltıldı ve ampliconlar klonlanarak sekanslandı. Sekans analizine göre mikroorganizma tiplendirilmesi yapılarak, her bir örnekten elde edilen sekans profillerinin karşılaştırılması yapıldı.

Anne Sütünden ve Gaytadan DNA Ekstraksiyonu

Sütten ve gaytadan DNA ekstraksiyonu için iki ayrı yöntem denendi; fenol kloroform yöntemi ve kit yöntemi.

Fenol kloroform ile DNA ekstraksiyonu:

Toplam 50 mg gayta ve 400 µl anne sütü 0,5 ml HTS (5 mM HEPES/4.5 mM Tris·Cl/320 mM sucrose, pH 7.4) ile homojen hale getirildi. Proteaz ve diğer enzimlerin

inaktivasyonu için 10 dk 99°C'de inkübe edildi ve 10 dk oda ısısında bırakıldı. Homojenata 5 µl 100 mg/ml lizozim, 5 µl 1 µg/ml lizostafin eklendi ve 30 dk 37°C'de inkübe edildi. Lizata 0,25 M EDTA'dan 60 µl, %10 SDS'den (Sodium dodecyl sulfate) 40 µl eklendi. Karıştırıldıktan sonra 10 µl 20 mg/ml konsantrasyonda proteinaz K eklenerek 50°C'de 30 dk inkübe edildi. 500 µl fenolkloroform eklendi, karıştırılıp 5 dk 10000 rpm'de santrifüj edildi. Üst faz yeni bir eppendorf tüpüne aktarıldı. 50 µl pH'ı 5,2 olan 3M sodyum asetat eklendi. Karıştırılarak 500 µl isopropil alkol eklendi. 30 dk -20°C'de inkübasyon ardından 30 dk +4°C'de 13000 rpm santrifüj uygulandı. Süpernatant atıldı. Pelet 500 µl %70'lik etanol ile yıkandı. +4°C'de 5 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı. Süpernatant atıldı. Pelet kurutularak 50 µl distile su eklendi.

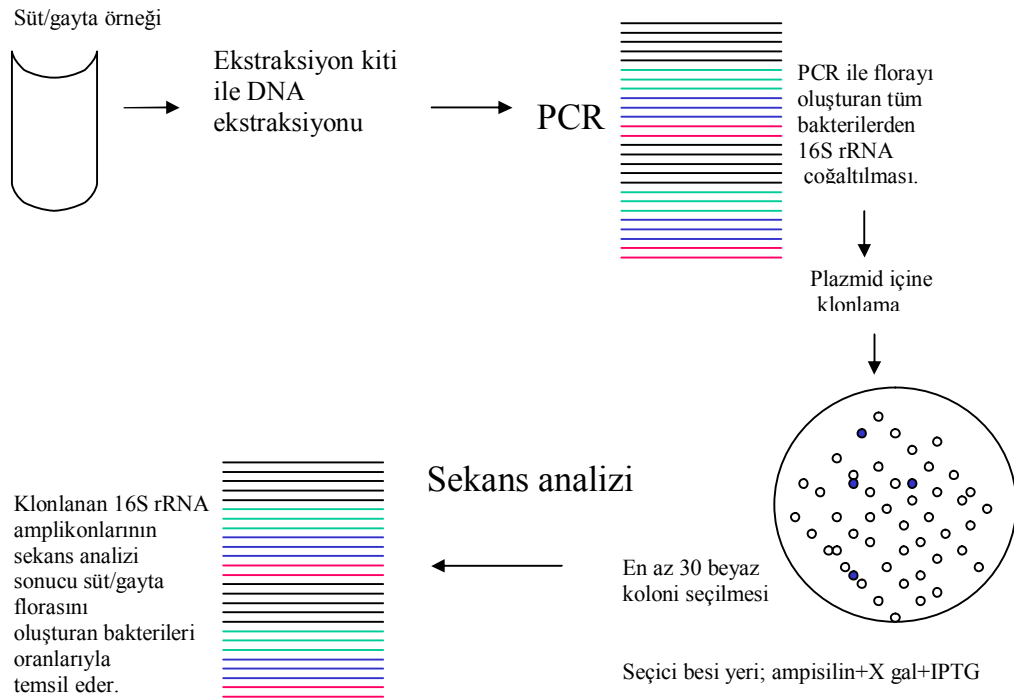
Kit ile DNA ekstraksiyonu:

QIAamp® DNA Stool Mini Kit (Qiagen) *extraction kit* kullanılarak üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. DNA ekstraksiyonu için 180-220 mg gayta ve 400 µl anne sütü santrifüj tüpünde tartılarak buzda bekletildi. Gayta için 1,4 ml, anne sütü için 1,2 ml ASL eklendi, 1 dk boyunca (gayta homojenize olana kadar) vortexlendi. 5 dk, +95°C’de inkübe edildi. 15 sn vortex sonrasında oda ısısında (+24°C’de) 1 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı. Süpernatant 1,2 ml alınarak yeni bir santrifüj tüpüne kondu. 1 adet *Inhibit Ex* tablet eklenerek vortexlendi, 1 dk oda ısısında beklenerek gayta veya anne sütündeki inhibitörlerin matrice bağlanması sağlandı. Süpernatant alınarak 3 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı. Süpernatant yeni bir 1,5 ml’lik tüpe aktarıldı, 3 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı. 15 µl proteinaz K yeni bir 1,5 ml’lik tüpe konuldu. Süpernatant 200 µl alınarak proteinaz K’nın üzerine eklendi. 200 µl AL Buffer eklenerek 15 sn vortexlendi. +70°C’de 10 dk inkübe edildi. 200 µl saf etanol lizat üzerine eklenerek vortexlendi. Minikit tüplerine örnek adları yazıldıktan sonra elde edilen lizatın hepsi kenarlarına gelmeyecek şekilde tüpe konuldu. 1 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı, altta biriken sıvı atıldı. Üzerine 500 µl AW1 solusyonu eklendi ve 13000 rpm santrifüj uygulandı. Spin kolon alınarak yeni bir toplayıcı tüpe konuldu. Üzerine 500 µl AW2 buffer eklendi ve 3 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı, süzöntü atıldı. Spin kolon yeni toplayıcı tüpe aktararak 1 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı. Spin kolon 1,5 ml’lik santrifüj tüpüne aktarıldı, anne sütü için 100 µl, gayta için 200 µl AE buffer membran üzerine eklendi. 1 dk 13000 rpm santrifüj uygulandı.

16S rRNA çoğaltılması ve klonlama

Gayta ve süt örneklerinden elde edilen DNA’lardan 16S rRNA çoğaltmak için S-D-Bact-0008-a-S-20 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3' ve 16S1390 5' GAC GGG CGG TGT GTA CAA 3 primer çifti kullanıldı. 94°C’de 5 dakikalık denatürasyonu takiben 35 siklus 94°C’de 30 saniye, 50°C’de 30 saniye ve 72°C’de 1 dakika olarak tamamlandıktan sonra, 72°C’de 15 dakika ile sona erdirildi. Elde edilen amplikonlar “*PCR purification kit*” ile saflaştırılıp (Invitrogen) ve *InsTAclone PCR Cloning Kit* (Fermentas) ile pTZ57R/T vektörü içerisine ligasyon yoluyla yerleştirildi. Hazırlanan rekombinant plazmidler fenol kloroform etanol presipitasyon yöntemiyle saflaştırıldı ve kompetan *Escherichia coli DH10B* içine elektro-transformasyon yoluyla aktarıldı.

Transformantlar ampisilin (100µg/ml), IPTG (0.5mM) ve X-Gal (%0.005) içeren Brain-Hearth İnfüsion agar seçici besiyerine ekildi. Inkubasyon sonunda gelişen mavi ve beyaz koloniler içerisinde yaklaşık 30 beyaz koloni seçildi ve plazmidin insert bölgesi çoğaltılacak şekilde M13 5' GTAAAACGACGGCAAGT 3' ve M13R 5' GAGCGGATAACAATTTTCACAC 3' primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı (amplifiye edildi). 16S rRNA inserti içeren ampikonlar sekans analizine tabi tutuldu ve elde edilen 16S rRNA ampikonlarına ait sekanslar gen bankası ile karşılaştırıldı (Şekil 4). Bu amaçla *National Center of Biotechnology Information* 'ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) *Nucleotide-nucleotide BLAST* programı kullanıldı.



Şekil 4. Süt/gayta örneklerinden elde edilen DNA'nın sekans analizine kadar olan sürecini gösteren şematik çizim

Elektroforez

1 g agaroz tartıldı ve 100 ml 0.5X Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) tamponu ekledi. Mikrodalga fırında iyice homojen hale getirildikten sonra 50-60°C'ye kadar soğuması beklendi. Jel kalıbı içine dökülüp tarak yerleştirilerek, agaroz katılaşmaya dek beklendi.

Elektroforez tankına alınan jeldeki kuyucuklara 1 µl Loading Dye ile karıştırılan 5 µl amplikon pipet yardımı ile konuldu. 100 Amperi geçmeyecek elektrik akımı verilerek 30 dk yürütüldü. Sonra 500 ml 0.5X TBE tamponu içerisine 100 µl (10mg/ml) Etidiyum Bromür'den eklenerek hazırlanmış tank içerisinde elektroforez jeli 10 dk. kadar boyanarak görüntüleme sisteminde incelendi.

Ligasyon

5 µl amplikon	}	1 saat oda sıcaklığında beklettikten sonra gece boyunca buzdolabında inkübasyona bırakıldı.
5 µl plazmid		
2 µl Ligaz Tamponu		
1 µl Ligaz Enzimi		

Ligasyon sonrası presipitasyon yerine ligasyon karışımı 70°C'de 15 dk tutularak enzim aktivitesinin giderilmesi sağlandı.

Presipitasyon

Ligasyon reaksiyonuna 80 µl distile su eklendi. 100 µl fenol kloroform izoamilalkol eklenip karıştırılarak 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Üst fazlar yeni bir ependorfa alınarak (DNA ve plazmid bu aşamada birleştirildi) 10 µl 3 M Na Asetat (pH:5.2) eklenip karıştırıldıktan sonra 600 µl %95-100 ethanol eklenerek karıştırıldı. 20 dk -20°C'de bekletildi. 20-30 dk >10 000 rpm'de +4°C'de santrifüj edildi. Üst sıvı atılarak pellet üzerine 300 µl %70'lik ethanol eklendi ve >10000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Sıvı atılarak pellet kuruduktan sonra 17 µl steril distile suda çözüldü.

TRANSFORMASYON, TRANSFORMANTLARIN SEÇİMİ ve ANALİZİ

Elektrokompetan E. coli hücrelerinin hazırlanması

E. coli DH10B ekilmiş plaktan tek bir koloni alınarak 5 ml BHI (Brain-Heart Infusion) broth besiyerine inoküle edilerek 37°C'de gecelik kültüre bırakıldı. Ertesi gün 50 ml BHI broth içeren tüpe, 1 ml gecelik kültürden inoküle edildi. 37°C'de yaklaşık 3 saat inkübe edilerek OD₆₀₀ 'deki absorbans değeri OD 0.6-0.8 oluncaya kadar inkübe edildi. Sonraki tüm

işlemler soğuk zincirde sürdürüldü. Absorbansı 0.6-0.8'e erişen 50 ml bakteri kültürünü içeren tüp 5000 rpm'de 10 dakika +4°C'de santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırılarak pellete 10 ml soğuk steril distile su eklenerek homojenize edildi ve 5 dk buz içerisinde bekletildi. +4°C'de 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek üst sıvı atıldı ve pellet üzerine tekrar 10 ml steril soğuk distile su eklenerek +4°C'de 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırılarak 10 ml soğuk %10 gliserol içeren steril distile sudan eklenip karıştırılarak +4°C'de 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi ve üst sıvı atıldı. Tekrar üzerine 10 ml soğuk %10 gliserol içeren steril distile sudan eklenerek karıştırıldı ve +4°C'de 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilip üst sıvı atıldı. Pellet üzerine %10 gliserol içeren steril distile sudan eklenerek karıştırıldı ve 100 µl'lik bölümlere ayrıldı. Hücreler sıvı nitrojenle dondurularak -80°C'de yaklaşık 6 ay kadar saklanarak transformasyon için kullanılabilir hale getirildi.

Ampisilin-Xgal-IPTG Seçici Besiyerinin Hazırlanması

BHIA (Brain Heart Infusion Agar)'dan 49 g tartıldı ve 1 L distile suda eritilip otoklavlandı. Otoklavdan çıkan besiyeri 50-60°C'ye kadar soğutuldu. Petriler içerisine 1 ml steril distile su dağıtıldı. Bu suyun üzerine 100 µl IPTG (2mM), 50 µl %2'lik Xgal ve 20 µl 100 mg/ml'lik ampisilin solüsyonları eklendi. Bunun üzerine 19 ml BHI Agar dökülüp hafifçe karıştırıldı. Oluşan hava kabarcıkları alev geçirilerek patlatıldı.

Elektrotransformasyon

10 µl'lik ligant 100 µl kopetant hücre pipet yardımıyla karıştırıldı. 5 dk buz içerisinde bekletildi. Kompetan hücre-Ligant karışımı kompetan hücre küvetine aktarıldı. Elektroporatörde *E. coli* programı kullanılarak elektrik şoku verildi. Şoktan hemen sonra 1 ml BHI sıvı besiyeri eklendi ve ependorf tüpü içerisinde 1 saat 37°C'de inkübe edildi. Sonrasında Ampisin-Xgal-IPTG içeren besiyerlerinden birine 50 µl, diğerine 200 µl olacak şekilde yayıldı.

Plakların İncelenmesi

Ampisin-Xgal-IPTG içeren plaklarda pUC18 içinde yabancı DNA yoksa koloniler mavi, insert varsa beyaz renk verdi. Plazmid ekstraksiyonu için beyaz kolonilerden 5-10 koloni seçilerek, 100 µg/ml ampisilin içeren 2 ml BHI tüplerine ekildi ve 37°C'de inkübe

edildi. Tüpte gelişen hücrelerden daha önce belirtildiği şekilde plazmid ekstraksiyonu yapıldı. Plazmid restriksiyon enzimleriyle kesilip, elektroforezi yapılarak plazmid ve insert incelendi.

Kolonilerin PCR ile Analizi

M13 Forward ve M13 Reverse primerleri kullanılarak veya klonlanmaya çalışılan gene spesifik primerler kullanılarak pUC18 içerisindeki insert çoğaltılmaya çalışıldı. PCR için 0,2 ‘lik tüplere 30 µl dağıtılacak şekilde PCR miski hazırlanıp dağıtıldı. Her tüp içerisine beyaz kolonilerden bir tanesi petri üzerinde yeri numaralandırılarak alındı ve tüpte homojenize edildi.

Amplifikasyon Programı:

94°C	5 dk	}	35 siklus
94°C	30 sn		
50°C	30 sn		
72°C	60 sn		
72°C	5 dk		

Amplikonların İncelenmesi

Amplifikasyondan sonra %2’lik jelde elektroforez yapılarak amplikonların büyüklüğü incelendi.

Plazmid Ekstraksiyonu ve Restriksiyonu

2 ml BHI brothda çoğalan koloniler plazmid ekstraksiyonuna tabi tutuldu. Ekstraksiyondan sonra EcoRI enzimi ile rekombinant plazmidler kesildi. Elektroforez yapılarak plazmid ve insert incelendi.

Amplikon sekansının eldesi

Elde edilen 16S rRNA ampliconları, Güney Kore'deki Macrogen firmasına gönderilmiştir. Örnekler, 96 kuyucuklu pleytler içine konulmuş ve özel kargo sistemi ile Güney Kore'ye ulaştırılmıştır. Örneklerin iletimi sırasında ısı kontrolü uygulanmamıştır. Sekans sonuçları baz dizilimi halinde tarafımıza elektronik posta ile ulaştırılmıştır. Macrogen firmasının sekans analizi için *dye terminator* sistemini ve *3730XL DNA sequencer (Applied Biosystem)* cihazını kullanmaktadır (www.macrogen.com).

Sekans analizlerinin yapılması

Güney Kore'den gönderilen sekans dizilerinin analizi *National Center of Biotechnology Information* 'ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) *Nucleotide-nucleotide BLAST* programı kullanılarak yapılmıştır. İlgili örneğin isimlendirilmesi 16S rRNA'sına ait sekans dizisi gen bankasıyla karşılaştırıldıktan sonra en yakın homoloji gösteren bakteri türüne göre yapılmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamız tanımlayıcı çalışma olup, bulguların analizinde yüzde, ortanca, ortalama ve standart sapma kullanılmıştır.

BULGULAR

OLGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Toplam 10 bebek-anne çifti çalışmaya dahil edildi. Olguların üçü kız, yedisi erkekti. Tümü term ve tekil gebelik olarak doğmuştu. Doğum ağırlıkları ortalama 3209±677,3 (2040- 4500) g arasındaydı. Altı olgu doğumlarının 0- 24. saatinde çeşitli tanılarla YYBÜ'ne yatırıldı, bu olgulardan üçü antibiyotik tedavisi almıştı. Tüm olgulara doğumlarını takiben emzirmeyle veya O/G kateter ile anne sütü verilmişti. İki olguda yeterli anne sütü gelmediğinden dolayı formül mama da verilmiş, üç olguya YYBÜ'ne kabul edilmelerini takiben total parenteral nutrisyon (TPN) başlanmıştı. TPN alan olgulara da ilk 24 saatte O/G kateter ile anne sütü verilmişti (Tablo VI).

Açıklama [gg157]:

Açıklama [gg158]:

Açıklama [gg159]:

Tablo VI. Olguların demografik ve klinik özellikleri

(E: Erkek,
K: Kız,
C/S:
Sezaryen
seksiyo,
NSVD:
Normal
spontan
vajinal
doğum,
AY: Anne
yanı,
YYBÜ:
Yenidoğ
n yoğun
bakım
ünitesi,
DAB:
Diyabetik
anne

Olgu	Doğum şekli	Cinsiyet	Doğum ağırlığı (g)	İzlem yeri	YYBÜ kalış süresi	Tanı	Antibiyotik	Anne sütü alımı	Formula alımı	TPN alımı
1	C/S	K	3000	AY	0	Sağlıklı	-	+	-	-
2	C/S	E	3780	AY	0	Sağlıklı	-	+	-	-
3	C/S	E	3470	AY	0	Sağlıklı	-	+	-	-
4	NSVD	E	3080	AY	0	Sağlıklı	-	+	-	-
5	C/S	K	4500	YYBÜ	6 Saat	DAB	-	+	+	-
6	C/S	K	2540	YYBÜ	12gün	Pnömotoraks	Ampisilin, Gentamisin, Sefotaksim	+	-	+
7	C/S	E	3580	YYBÜ	15gün	DAB, RDS	Ampisilin, Gentamisin, Sefotaksim, Klaritromisin	+	+	+
8	C/S	E	3000	YYBÜ	3gün	MA	Ampisilin, Gentamisin	+	-	+
9	C/S	E	2040	YYBÜ	2gün	IUGG,	-	+	-	-
10	NSVD	E	3100	YYBÜ	6 Saat	Rh uyumsuzluğu, İHB	-	+	-	-

bebeği, RDS: Respiratuar distres sendromu, MA: Mekonyum aspirasyonu, IUGG: İntrauterin gelişme geriliği, İHB: İndirekt hiperbilirubinemi)

Olguların anne yaşları ortalama 27,4±4,6 (21- 35) yıl idi. Üç olgunun annesinin ilk doğumu idi. Annelerin gebelik sayıları ortanca değeri 2 (1- 3) idi. Tüm anneler gebelik boyunca profilaktik olarak demir tedavisi almış, bir anne haricinde tamamı folik asit kullanmıştı. Dokuz anne hamilelik boyunca ve doğum sonrasında probiyotik gıdalar (yoğurt, kefir, boza) almışken bir anne almamıştı. Bir annede gebeliğe bağlı diyabetes mellitus ve hipertansiyon gelişmiş ve diyet ile düzenlenmişti. Bir annede de yine diyet ile düzenlenen gestasyonel diyabetes mellitus ve ek olarak polihidramnios mevcuttu. C/S ile doğum yapan sekiz anneye doğum sırasında ve doğum sonrası altıncı saatte cerrahi profilaksi için parenteral sefazolin uygulanmıştı (TabloVII).

Tablo VII. Annelerin gebelik, doğum ve sosyodemografik özellikleri

Olgu	AY (Yıl)	DŞ	GS	Demir	Vitamin	HPB	DSPB	Hastalık	Antibiyotik	ED	YY	Akrabalık
1	25	C/S	4	Evet	Hayır	Evet	Evet	Yok	Sefazolin	İOO	Şehir	Yok
2	28	C/S	1	Evet	FA	Evet	Evet	Yok	Sefazolin	Lise	Şehir	Yok
3	29	C/S	2	Evet	FA	Hayır	Hayır	Yok	Sefazolin	İOO	Şehir	Yok
4	24	NSVD	2	Evet	FA	Evet	Evet	Yok	Yok	İOO	Köy	Var
5	35	C/S	3	Evet	FA	Evet	Evet	GDM, GHT	Sefazolin	Ünv	İlçe	Yok
6	21	C/S	1	Evet	FA	Evet	Evet	Yok	Sefazolin	Lise	Şehir	Yok
7	25	C/S	2	Evet	FA	Evet	Evet	GDM	Sefazolin	Lise	İlçe	Yok
8	34	C/S	3	Evet	FA	Evet	Evet	Yok	Sefazolin	İOO	İlçe	Yok
9	23	C/S	1	Evet	FA	Evet	Evet	Yok	Sefazolin	İOO	İlçe	Yok
10	30	NSVD	2	Evet	FA	Evet	Evet	Yok	Yok	İOO	İlçe	Var

(AY: Anne yaşı, DŞ: Doğum şekli, C/S: Sezaryen seksiyö, NSVD: Normal spontan vajinal doğum, GS: Gebelik sayısı, FA: Folik asit, HPB: Hamilelik boyunca probiyotik alımı, DSPB: Doğum sonrası probiyotik alımı, GHT: Gestasyonel hipertansiyon GDM: Gestasyonel diyabetes mellitus ED: Eğitim durumu, İOO: İlköğretim okulu, Ünv: Üniversite)

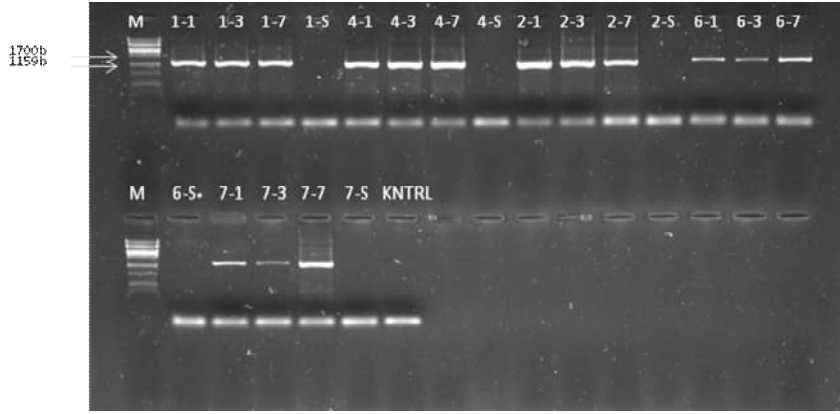
MOLEKÜLER DEĞERLENDİRME

DNA ekstraksiyonu ve 16S rRNA amplifikasyonu

Fenolkloroform yöntemiyle süt ve gayta örneklerinden DNA ekstraksiyonu gerçekleşmemesi nedeniyle tüm örneklerden kit yöntemi kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmaya çalışılmış, ancak süt örneklerinde bu yöntemle de DNA amplifikasyonu gerçekleşmemiştir.

Çalışılan 10 süt örneği ve 30 gayta olmak üzere toplam 40 örnekten 17'sinde 16S rRNA fragmanı çoğalmamıştır. On süt örneği ile Olgu 6'nın gayta örneklerinin hiçbirinden DNA amplifikasyonu gerçekleşmedi. Ek olarak Olgu 3'ün 1.gün, Olgu 7'nin 1 ve 3.gün ve Olgu 8'in 1.gün gayta örneğinden DNA ekstraksiyonu yapılmasına rağmen 16S rRNA amplifikasyonunun kullanılan yöntemlerle negatif sonuç verdi. Süt örneklerinde amplifikasyon olmaması bu örneklerden izole edilen DNA'larda bakteri DNA miktarının amplifikasyon için yeterli olmamasına veya ekstraksiyon sırasında inhibitör varlığına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Resim 1'de DNA örneklerinin PCR sonrası jel elektroforezdeki görüntüsü izlenmektedir. Elektroforez sonrasında tespit edilen DNA'lar kullanılarak 16S rRNA geni çoğaltılmıştır. Beklenen boyda DNA fragmanı çoğaltılan örneklerde, DNA Marker olarak PstI enzimiyle kesilmiş lambda faj DNA'sı kullanılmıştır. Amplikon boyutu yaklaşık 1,3 kb olarak belirlenmiştir.

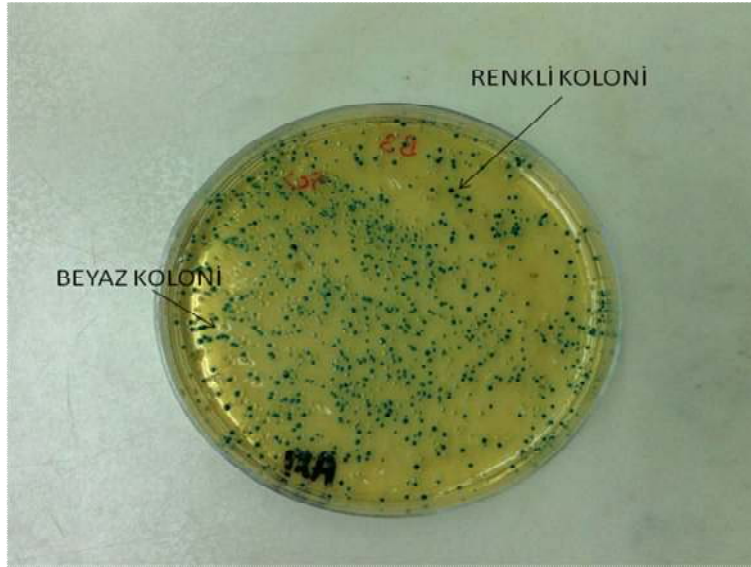


Resim 1. Olgu 1, 4, 2, 6, 7'nin süt ve gayta örneklerinin PCR sonrası jel elektroforez görünümü

(DNA fragmanları, %2'lik agaroz jelde 100 amp'de 30 dk elektroforeze tabi tutularak ayrılmıştır. M: Lambda PstI marker, KNTRL: Kontrol negatif, gayta örnekleri olgu numaraları ve alınan gün olarak gösterilmiş, süt örneği ise olgu numarasını takiben S harfiyle belirtilmiştir. Süt örnekleri ve Olgu 6'nın gayta örneklerinde DNA ekstraksiyonu sağlanamadığından, Olgu 7'nin 1 ve 3.gün gayta örneğinde yeterli uzunlukta ampikon elde edilemediğinden elektroforezde band oluşumu gözlenmemiştir.)

Klonlama

Ligasyon işleminden sonra elektroporasyon yöntemi ile rekombinant DNA *E.coli* DH10B suşuna aktarıldı. Plazmidi alan bakteriler ampisilin, Xgal ve IPTG içeren seçici besiyerine ekildi. Bir günlük inkübasyondan sonra oluşan kolonilerin bazıları mavi, bazıları ise beyaz renkteydi. Mavi koloniler insert almamış, beyaz koloniler ise insert almış; yani PCR ile çoğaltılan fragmanların plazmid içerisine yerleştiği koloniler olarak tanımlanmıştır (Resim 2).



Resim 2. Beyaz ve renkli koloni seçimi

Her bir örnek için klonlanan ve sekanslanan ampikon sayısı Tablo VIII’de verilmiştir. Ampikon elde edilemeyen süt örnekleri ve 7 gayta örneği dışında tüm örneklerden 23- 40 arasıl klonlanmış 16S rRNA fragmanı elde edilmiştir.

Tablo VIII. Olgulardan 1, 3, 7.günlerde elde edilen ampikon sayıları

	1.Gün n	3.Gün n	7.Gün n	Toplam*
Olgu 1	26	23	24	73
Olgu 2	27	25	23	75
Olgu 3	0	27	26	53
Olgu 4	29	31	40	100
Olgu 5	30	30	32	92
Olgu 6	0	0	0	0
Olgu 7	0	0	32	32
Olgu 8	0	30	29	59
Olgu 9	40	29	27	96
Olgu 10	36	30	30	96
Toplam**	188	225	263	676

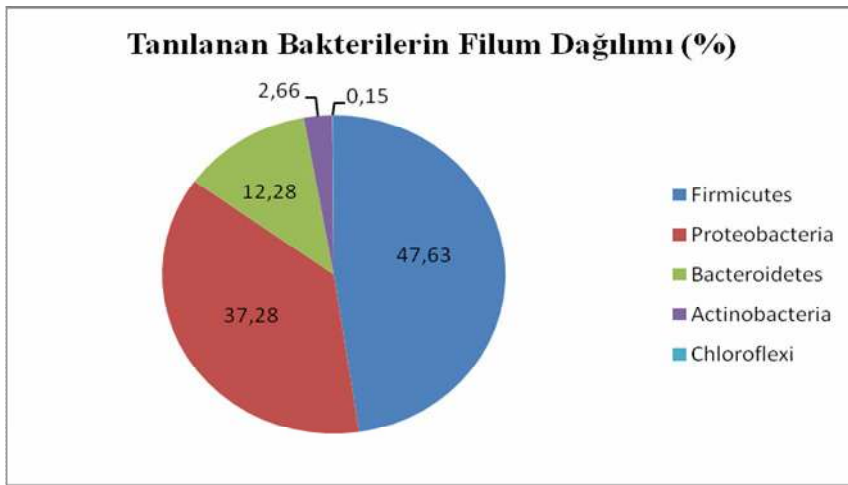
*Satır toplamı

**Sütun toplamı

BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

10 anne-bebek çiftinden her bebek için 1, 3 ve 7.günlerde alınan üç gayta örneği çalışmaya alındı. Bir olgunun hiçbir gayta örneğinden (Olgu 6) amplikon elde edilemezken üç olguda (Olgu 3, 7, 8) birinci gün gayta örneğinde ve bir olguda (Olgu 7) üçüncü gün gayta örneğinden amplikon elde edilemedi.

Tüm bulgular değerlendirildiğinde sekans analizi sonucunda 5 filum, 32 cins ve 80 türe ait 676 bakteri bulundu. 676 bakterinin 322'si (%47,6) *Firmicutes*, 252'si (%37,3) *Proteobacteria*, 83'ü (%12,3) *Bacteroidetes*, 18'i (%2,7) *Actinobacteria* ve 1 tanesi (%0,1) *Chloroflexi* filumuna aitti (Şekil 5).



Şekil 5. Sekans analizi sonucu tanılanan bakterilerin filumlarına göre dağılımı

En sık rastlanan bakteri cinsi *Streptococcus* (%26) olup bunu sırasıyla *Escherichia* (%15,83), *Enterobacter* (%10,95), *Bacteroides* (%10,65) ve *Enterococcus* (%10,5) izliyordu (Tablo IX).

Tablo IX. Sekans sonucuna göre saptanan bakteri cinsleri (n=32) ve toplam ampikon sayıları

Cins Adı	Sayı *	Yüzde** (%)	Cins Adı	Sayı	Yüzde (%)
<i>Streptococcus</i>	176	26,04	<i>Rothia</i>	3	0,44
<i>Escherichia</i>	107	15,83	<i>Shigella</i>	3	0,44
<i>Enterobacter</i>	74	10,95	<i>Salmonella</i>	2	0,3
<i>Bacteroides</i>	72	10,65	<i>Corynebacterium</i>	2	0,3
<i>Enterococcus</i>	71	10,5	<i>Blautia</i>	1	0,15
<i>Veillonella</i>	36	5,33	<i>Averyella</i>	1	0,15
<i>Staphylococcus</i>	23	3,4	<i>Sphaerobacter</i>	1	0,15
<i>Klebsiella</i>	20	2,96	<i>Janibacter</i>	1	0,15
<i>Raoultella</i>	12	1,78	<i>Micrococcus</i>	1	0,15
<i>Propionibacterium</i>	11	1,63	<i>Gemella</i>	1	0,15
<i>Parabacteroides</i>	11	1,63	<i>Lactococcus</i>	1	0,15
<i>Citrobacter</i>	11	1,63	<i>Edwardsiella</i>	1	0,15
<i>Clostridium</i>	9	1,33	<i>Erwinia</i>	1	0,15
<i>Haemophilus</i>	9	1,33	<i>Kluyvera</i>	1	0,15
<i>Acinetobacter</i>	8	1,18	<i>Paracoccus</i>	1	0,15
<i>Lactobacillus</i>	4	0,59	<i>Serratia</i>	1	0,15

*İlgili cinsin toplam ampikon sayısı

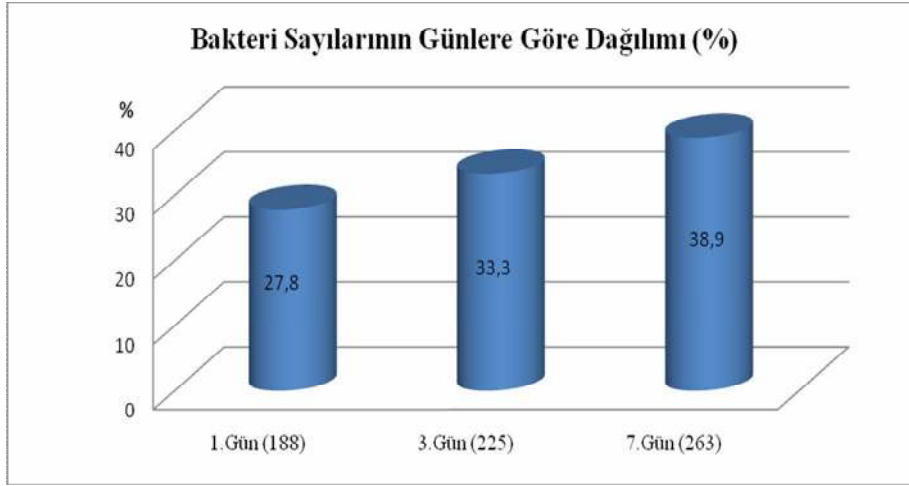
**İlgili cinsin toplam ampikondaki (n=676) yüzdesi

Sekans sonuçlarına göre 676 adet bakteri türü saptandı ve Ek 5’de ait oldukları olgularla birlikte gösterildi.

Örneklerin toplamına bakıldığında en sık rastlanan bakteriler; *Escherichia coli* (%15,4), *Streptococcus salivarius* (%15,1), *Enterococcus faecalis* (%9,9), *Bacteroides vulgatus* (%9,3) ve *Enterobacter aerogenes* (%8,2) idi (Ek 6).

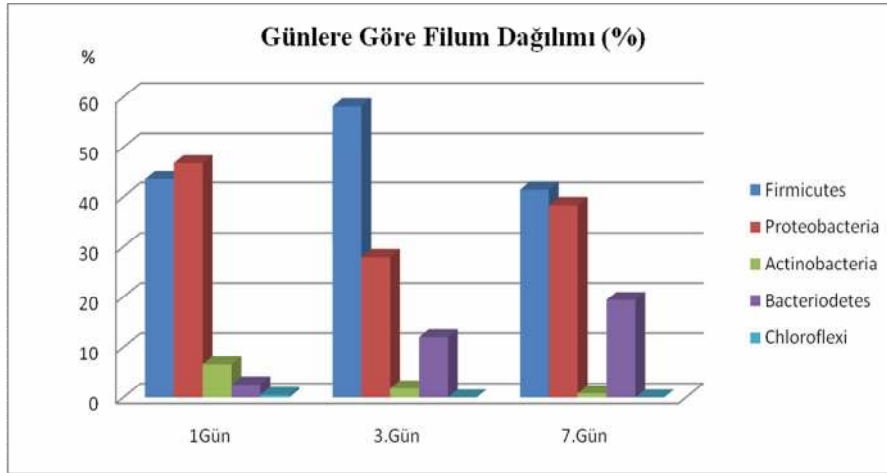
ÖRNEK ALIM GÜNLERİNE GÖRE DEĞERLENDİRME

Amplifikasyon ve klonlama yapılan 23 gayta örneğinde, 1.gün 6 olguda 188, 3.gün 8 olguda 225 ve 7.gün 9 olguda 263 adet bakteri tespit edildi (Şekil 6). Örnek alım günleri ilerledikçe bakteri sayılarında artış gözlemlendi.



Şekil 6. Günlere göre toplam bakteri sayıları ve yüzdeleri

Günlere göre filumlara ait bakterilere baktığımızda, 1.gün *Firmicutes* (%43,6), *Proteobacteria* (%46,8), *Actinobacteria* (%6,5), *Bacteroidetes* (%6,5), *Chloroflexi* (%0,5); 3.gün *Firmicutes* (%58,2), *Proteobacteria* (%28), *Bacteroidetes* (%12), *Actinobacteria* (%1,8); 7.gün *Firmicutes* (%41,4), *Proteobacteria* (%38,4), *Bacteroidetes* (%19,4), *Actinobacteria* (%0,8) saptandı (Şekil 7).

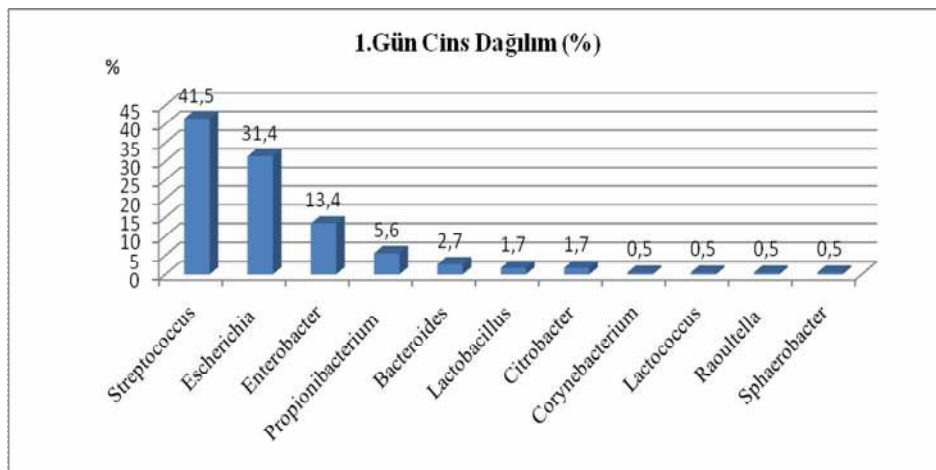


Şekil 7. Günlere göre filum dağılımı

1.Gün

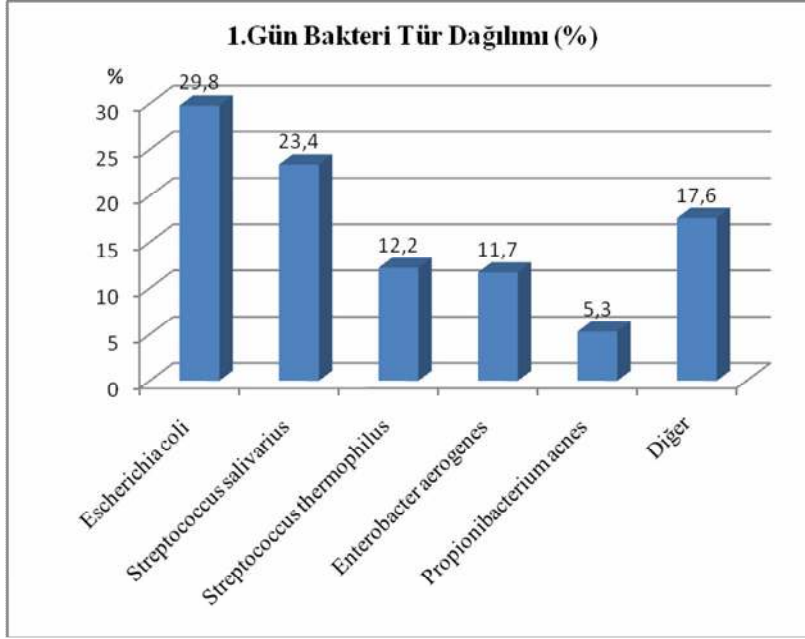
Doğum sonrası 24. saatini tamamlayan 10 olgunun 6'sının gayta örneğinde toplam 5 filum (Şekil 5) ve 11 cinse ait 188 bakteri saptandı (Şekil 6).

Tanımlanan cinsler sırasıyla; *Streptococcus* (%41,5), *Escherichia* (%31,4), *Enterobacter* (%13,4), *Propionibacterium* (%5,6), *Bacteroides* (% 2,7), *Lactobacillus* (%1,7), *Citrobacter* (%1,7), *Corynebacterium* (%0,5), *Lactococcus* (%0,5), *Raoultella* (%0,5), *Sphaerobacter* (%0,5) idi (Şekil 8).



Şekil 8. 1.gün cins dağılımı

Olguları bakteri düzeyinde incelediğimizde; *Escherichia coli* (%29,8), *Streptococcus salivarius* (%23,4), *Streptococcus thermophilus* (%12,2), *Enterobacter aerogenes* (%11,7), *Propionibacterium acns* (%5,3), *Streptococcus vestibularis* (%4,2), *Bacteroides vulgatus* (%2,6), *Citrobacter freundii* (%1,6), *Escherichia fergusonii* (%1,1), *Enterobacter cloacae* (%0,54), *Enterobacter hormaechei* (%0,54), *Enterobacter ludwigii* (%0,54), *Corynebacterium accolens* (%0,54), *Escherichia hermannii* (%0,54), *Lactobacillus murinus* (%0,54), *Lactobacillus paracase* (%0,54), *Lactobacillus rhamnosus* (%0,54), *Lactococcus garvieae* (%0,54), *Propionibacterium granulosum* (%0,54), *Raoultella planticola* (%0,54), *Sphaerobacter thermophilus* (%0,54), *Streptococcus anginosus* (%0,54), *Streptococcus infantis* (%0,54), *Streptococcus sanguinis* (%0,54) tespit edildi (Şekil 9).

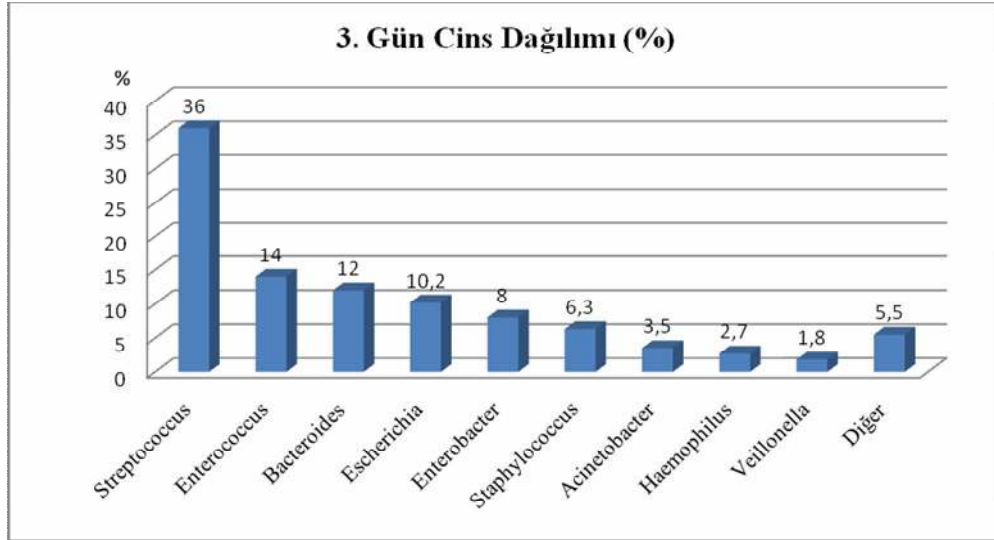


Şekil 9. 1.gün bakteri tür dağılımı

3.Gün

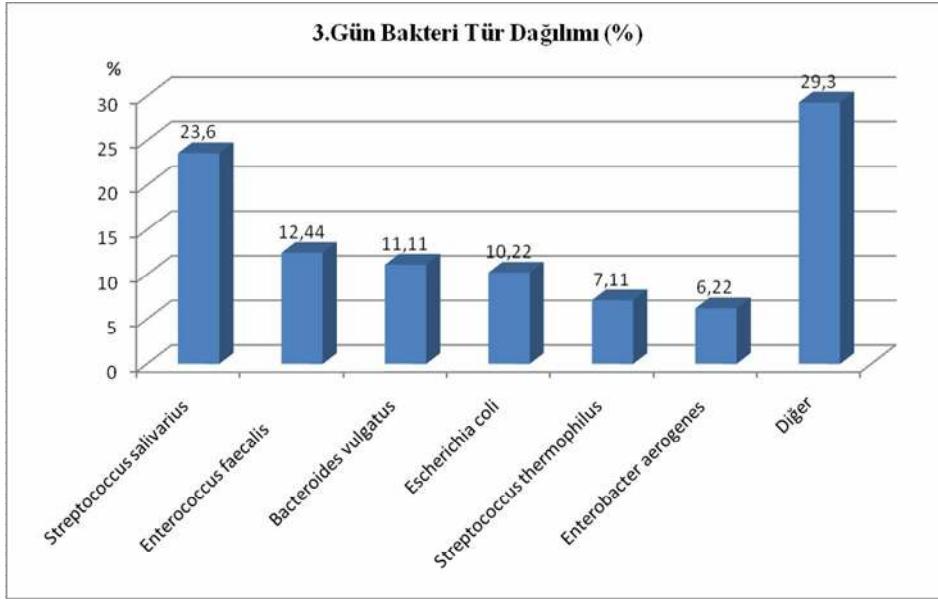
Doğum sonrası 72. saatini tamamlayan 9 olgudan 8'inin 3.gün gaytasında yapılan sekans analizinde 4 filum (Şekil 5) ve 19 cinse ait 225 adet bakteri (Şekil 6) tespit edildi. YYBÜ'nde izlenen ve antibiyotik tedavisi alan bir olguda (Olgu 7) amplikona rastlanmadı.

3.gün cins dağılımı sıklık sırasına göre; *Streptococcus* (%36), *Enterococcus* (%14), *Bacteriodes* (%12), *Escherichia* (%10,2), *Enterobacter* (%8), *Staphylococcus* (%6,3), *Acinetobacter* (%3,5), *Haemophilus* (%2,7), *Veillonella* (%1,8), *Shigella* (%0,9), *Rothia* (%0,9), *Raoultella* (%0,9), *Janibacter* (%0,4), *Micrococcus* (%0,4), *Paracoccus* (%0,4), *Lactobacillus* (%0,4), *Salmonella* (%0,4), *Citrobacter* (%0,4), *Averyalla* (%0,4) şeklindeydi (Şekil 10).



Şekil 10. 3.gün cins dağılımı

Örnekleri tür düzeyinde incelediğimizde sırasıyla; *Streptococcus salivarius* (%23,6), *Enterococcus faecalis* (%12,4), *Bacteroides vulgatus* (%11,1), *Escherichia coli* (%10,2), *Streptococcus thermophilus* (%7,1), *Enterobacter aerogenes* (%6,2), *Staphylococcus epidermidis* (%3,1), *Haemophilus parainfluenzae* (%2,22), *Acinetobacter guillouiae* (%1,33), *Enterococcus durans* (%1,33), *Staphylococcus aureus* (%1,33), *Streptococcus oralis* (%1,33), *Streptococcus sanguinis* (%1,33), *Veillonella parvula* (%1,33), *Acinetobacter bereziniae* (%0,9), *Acinetobacter bouvetii* (%0,9), *Enterobacter cloacae* (%0,9), *Raoultella ornithinolytic* (%0,9), *Rothia mucilaginosa* (%0,9), *Staphylococcus hominis* (%0,9), *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pneumoniae* (%0,9), *Acinetobacter johnsonii* (%0,44), *Averyella dalhousiensis* (%0,44), *Bacteroides dorei* (%0,44), *Bacteroides uniformis* (%0,44), *Citrobacter freundii* (%0,44), *Enterobacter hormaechei* (%0,44), *Enterobacter ludwigii* (%0,44), *Haemophilus influenzae* (%0,44), *Janibacter sanguinis* (%0,44), *Lactobacillus casei* (%0,44), *Micrococcus terreus* (%0,44), *Paracoccus chinensis* (%0,44), *Salmonella enterica* (%0,44), *Shigella flexneri* (%0,44), *Shigella sonnei* (%0,44), *Staphylococcus capitis* (%0,44), *Staphylococcus haemolyticus* (%0,44), *Streptococcus lactarius* (%0,44), *Streptococcus suis* (%0,44), *Veillonella dispar* (%0,44) tespit edildi (Şekil 11).



Şekil 11. 3.gün bakteri tür dağılımı

7.Gün

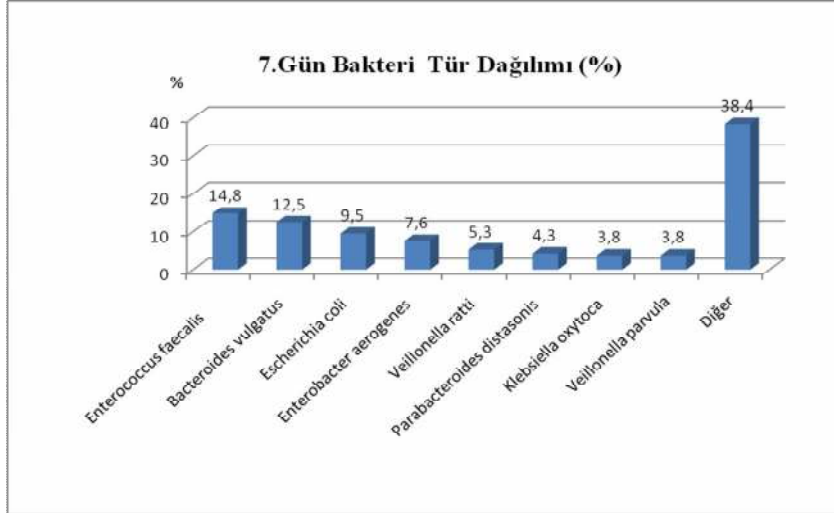
Toplam 9 olgunun 7.gün gaytasında yapılan sekans analizinde 4 filum (Şekil 5) ve 23 cinse (Şekil 6) ait 263 adet bakteri tespit edildi.

Cins dağılımında ilk sırada *Enterococcus* (%15,2) ve *Bacteriodes* (%15,2) bulunuyor, bunları sırasıyla *Veillonella* (%12,2), *Enterobacter* (%11,7), *Escherichia* (%9,5), *Klebsiella* (%7,6), *Streptococcus* (%6), *Parabacteriodes* (%4,2), *Staphylococcus* (%3,8), *Clostridium* (%3,4), *Roultella* (%3,4), *Citrobacter* (%2,7), *Haemophilus* (%1,1), *Blautia* (%0,4), *Corynebacterium* (%0,4), *Gemella* (%0,4), *Rothia* (%0,4), *Erwinia* (%0,4), *Kluyvera* (%0,4), *Edwardsiella* (%0,4), *Serratia* (%0,4), *Salmonella* (%0,4), *Shigella* (%0,4) izliyordu (Şekil 12).



Şekil 12. 7.gün cins dağılımı

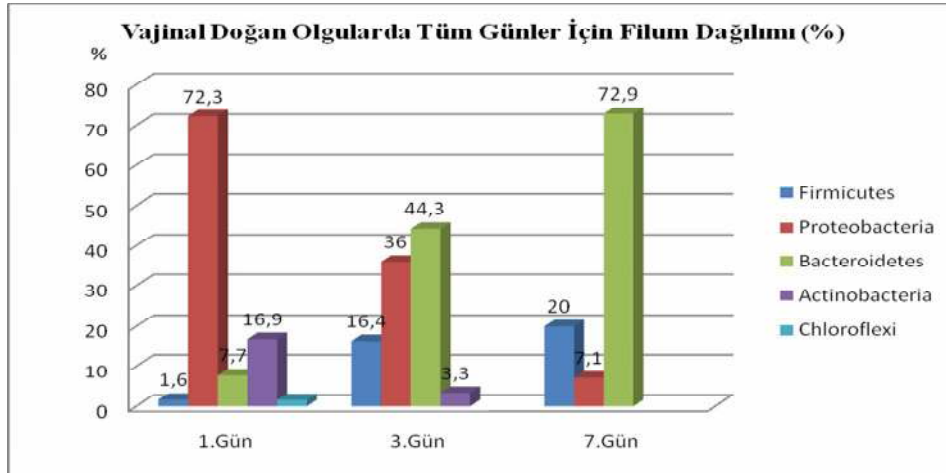
7.günde tür düzeyinde tespit edilen bakteriler sırasıyla; *Enterococcus faecalis* (%14,8), *Bacteroides vulgatus* (%12,5), *Escherichia coli* (%9,5), *Enterobacter aerogenes* (%7,6), *Veillonella ratti* (%5,3), *Klebsiella pneumoniae* (%3,4), *Enterobacter cloacae* (%3), *Staphylococcus epidermidis* (%3), *Streptococcus thermophilus* (%2,3), *Raoultella ornithinolytica* (%2,3), *Citrobacter freundii* (%2,3), *Veillonella dispar* (%1,8), *Streptococcus salivarius* (%1,8), *Clostridium paraputrificum* (%1,8), *Bacteroides clarus* (%1,8), *Streptococcus parasanguinis* (%1,4), *Clostridium perfringens* (%1,2), *Haemophilus parainfluenzae* (%1,2), *Veillonella tobetsuensis* (%1,2), *Raoultella planticola* (%0,7), *Bacteroides ovatus* (%0,4), *Bacteroides stercorisoris* (%0,4), *Blautia luti* (%0,4), *Citrobacter diversus* (%0,4), *Clostridium tertium* (%0,4), *Corynebacterium simulans* (%0,4), *Edwardsiella tarda* (%0,4), *Enterobacter asburiae* (%0,4), *Enterobacter hormaeche* (%0,4), *Enterobacter ludwigii* (%0,4), *Enterococcus avium* (%0,4), *Erwinia amylovora* (%0,4), *Gemella haemolysans* (%0,4), *Klebsiella variicola* (%0,4), *Kluyvera cryocrescens* (%0,4), *Raoultella terrigena* (%0,4), *Rothia mucilaginosa* (%0,4), *Salmonella enterica* (%0,4), *Serratia marcescens* (%0,4), *Shigella sonnei* (%0,4), *Staphylococcus hominis* (%0,4), *Streptococcus lactarius* (%0,4), *Streptococcus mitis* (%0,4) idi (Şekil 13).



Şekil 13. 7.gün bakteri tür dağılımı

DOĞUM ŞEKLİNE GÖRE DEĞERLENDİRME

Vajinal yol ile doğan iki olguda 1.gün 5 filum (*Proteobacteria* %72,3, *Actinobacteria* %16,9, *Bacteroidetes* %7,7, *Firmicutes* %1,6, *Chloroflexi* %1,5), 3.gün 4 filum (*Bacteroidetes* %44,3, *Proteobacteria* %36, *Firmicutes* %16,4, *Actinobacteria* %3,3) ve 7.gün 4 filum (*Bacteroidetes* %72,9, *Firmicutes* %20, *Proteobacteria* %7,1) tespit edildi (Şekil 14).



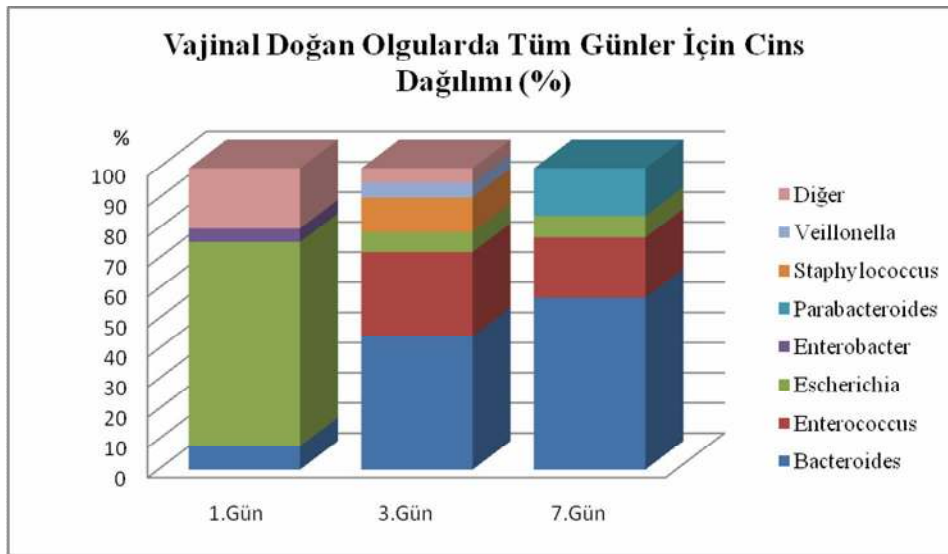
Şekil 14. Vajinal doğan olgularda tüm günler için filum dağılımı

Cinslere göre değerlendirdiğimizde 1.gün 11, 3.gün 8 ve 7.gün 4 cinse ait bakteriler tanımlandı.

1.gün *Escherichia* (%67,7), *Propionibacterium* (%15,4), *Bacteroides* (%7,7), *Enterobacter* (%4,7), *Sphaerobacter* (%1,5), *Corynebacterium* (%1,5), *Lactobacillus* (%1,5) tespit edildi.

3.gün *Bacteroides* (%44,3), *Enterococcus* (%27,9), *Staphylococcus* (%11,5), *Escherichia* (%6,6), *Veillonella* (%4,9), *Micrococcus* (%1,6), *Paracoccus* (%1,6), *Janibacter* (%1,6) saptandı.

7.gün sırasıyla *Bacteroides* (%57,1), *Enterococcus* (%20,0), *Parabacteroides* (%15,8), *Escherichia* (%7,1) tespit edildi (Şekil 15).



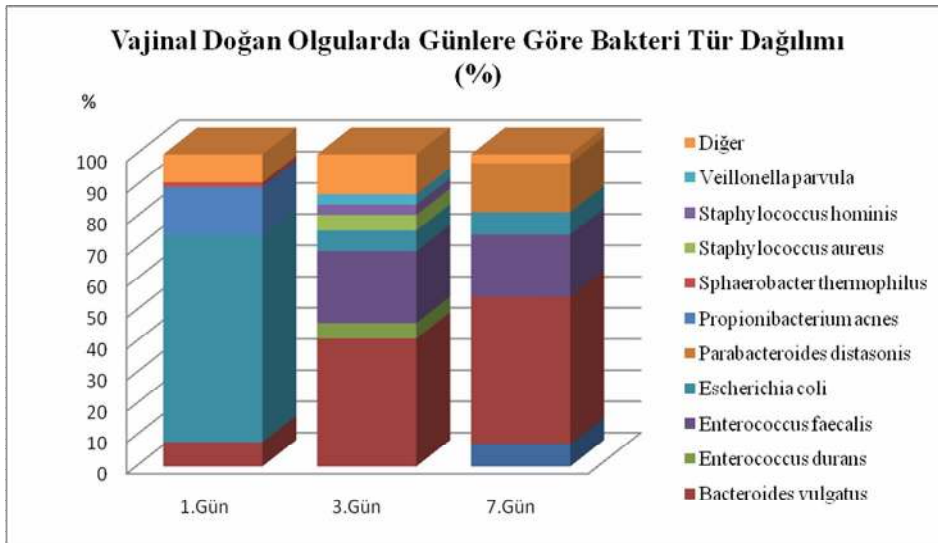
Şekil 15. Vajinal doğan olgularda tüm günler için cins dağılımı

Türlere göre değerlendirdiğimizde vajinal doğan olgularda 1.gün 65, 3.gün 61, 7.gün 70 adet bakteri tanımlandı.

1.gün sırasıyla *Escherichia coli* (%66,2), *Propionibacterium acnes* (%15,4), *Bacteroides vulgatus* (%7,7), *Corynebacterium accolens* (%1,5), *Enterobacter aerogenes* (%1,5), *Enterobacter cloacae* (%1,5), *Enterobacter hormaechei* (%1,5), *Escherichia fergusonii* (%1,5), *Lactobacillus murinus* (%1,5), *Sphaerobacter thermophilus* (%1,5) tespit edildi.

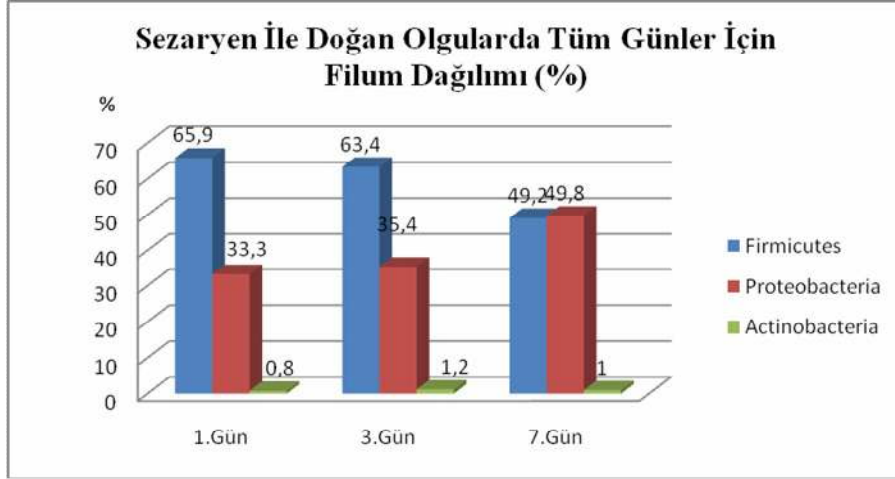
3.gün *Bacteroides vulgatus* (%41), *Enterococcus faecalis* (%23), *Escherichia coli* (%6,6), *Enterococcus durans* (% 5), *Staphylococcus aureus* (%5), *Staphylococcus hominis* (%3,3), *Veillonella parvula* (%3,3), *Micrococcus terreus* (%1,6), *Paracoccus chinensis* (%1,6), *Janibacter sanguinis* (%1,6), *Staphylococcus epidermidis* (%1,6), *Staphylococcus haemolyticus* (%1,6), *Veillonella dispar* (%1,6), *Bacteroides uniformis* (%1,6), *Bacteroides dorei* (%1,6) saptandı.

7.gün *Bacteroides vulgatus* (%47,1), *Enterococcus faecalis* (%20,0), *Parabacteroides distasonis* (%15,7), *Escherichia coli* (%7,2), *Bacteroides clarus* (%7,2), *Bacteroides ovatus* (%1,4), *Bacteroides stercorisoris* (%1,4) tespit edildi (Şekil 16).



Şekil 16. Vajinal doğan olgularda günlere göre tür dağılımı

Sezaryen ile doğan sekiz olgunun 1.gün dördünde 3 filum; 3.gün altısında 3 filum ve 7.gün yedisinde 3 filum tespit edildi. Filum dağılımı 1.gün *Firmicutes* (%65,9), *Proteobacteria* (%33,3), *Actinobacteria* (%0,8); 3.gün *Firmicutes* (%63,4), *Proteobacteria* (%35,4), *Actinobacteria* (%1,2); 7.gün *Proteobacteria* (%49,8), *Firmicutes* (%49,2), *Actinobacteria* (%1) şeklindeydi (Şekil 17).



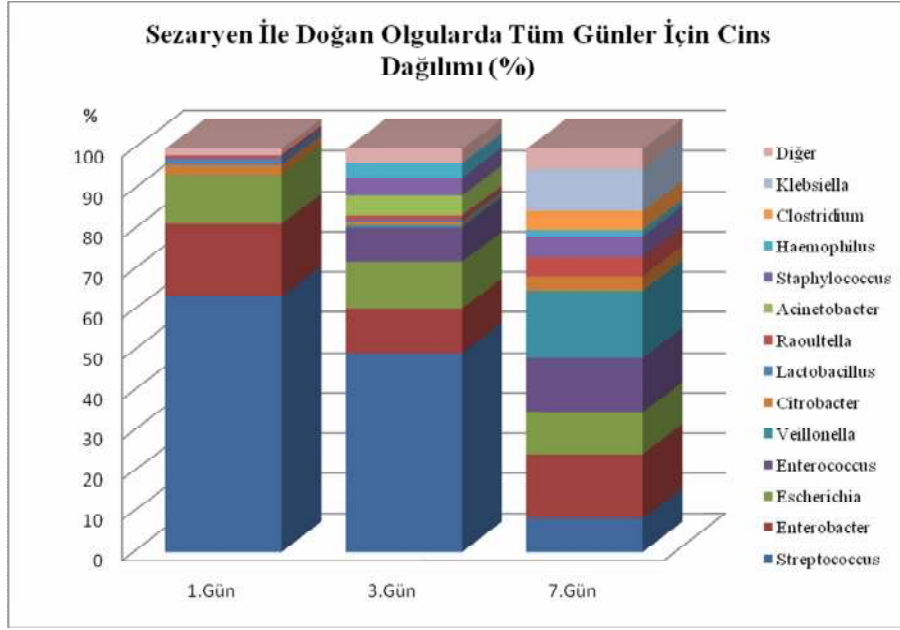
Şekil 17. Sezaryen ile doğan olgularda tüm günler için filum dağılımı

Bu olgularda ilk gün 8, 3.gün 15 ve 7.gün 21 cins bakteri tanımlandı.

1.gün tanımlanan cinsler; *Streptococcus* (%63,4), *Enterobacter* (%18), *Escherichia* (%12,2), *Citrobacter* (%2,4), *Lactobacillus* (%1,6), *Propionibacterium* (%0,8), *Lactococcus* (%0,8) ve *Raoultella* (%0,8) idi.

3.günde *Streptococcus* (%49,4), *Escherichia* (%11,6), *Enterobacter* (%11), *Enterococcus* (%8,5), *Acinetobacter* (%5), *Staphylococcus* (%4,3), *Haemophilus* (%3,6), *Veillonella* (%0,6), *Citrobacter* (%0,6), *Lactobacillus* (%0,6), *Raoultella* (%1,2), *Shigella* (%1,2), *Rothia* (%1,2), *Salmonella* (%0,6) ve *Averyella* (%0,6) tespit edildi.

7.gün tanımlanan cinsler; *Veillonella* (%16,6), *Enterobacter* (%16), *Enterococcus* (%13,5), *Escherichia* (%10,4), *Klebsiella* (%10,4), *Streptococcus* (%8,3), *Staphylococcus* (%5,2), *Clostridium* (%4,7), *Raoultella* (%4,7), *Citrobacter* (%3,6), *Haemophilus* (%1,6), *Shigella* (%0,5), *Rothia* (%0,5), *Salmonella* (%0,5), *Serratia* (%0,5), *Edwardsiella* (%0,5), *Kluyvera* (%0,5), *Erwinia* (%0,5), *Gemella* (%0,5), *Corynebacterium* (%0,5), *Blautia* (%0,5) idi (Şekil 18).



Şekil 18. Sezaryen ile doğan olgularda tüm günler için cins dağılımı

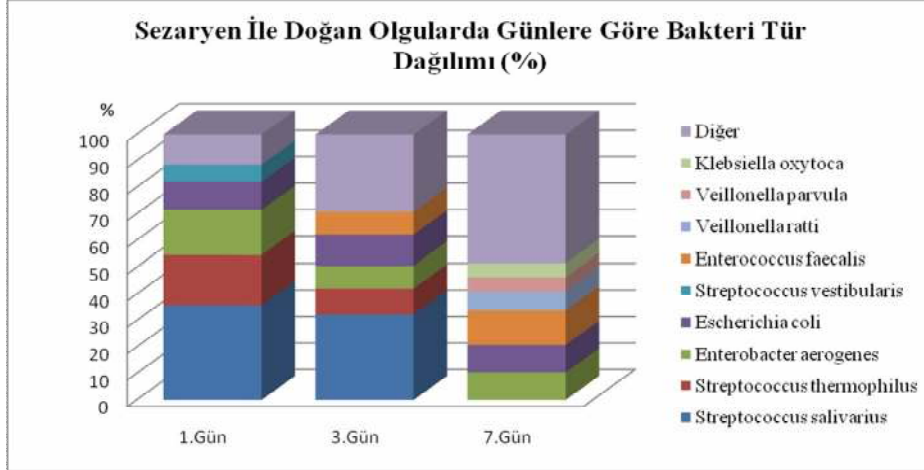
Tür bazında değerlendirdiğimizde sezaryen ile doğan olgularda 1.gün 123, 3.gün 164 ve 7.gün 193 adet bakteri tespit edildi.

1.gün sırasıyla *Streptococcus salivarius* (%35,8), *Streptococcus thermophilus* (%18,7), *Enterobacter aerogenes* (%17), *Escherichia coli* (%10,6), *Streptococcus vestibularis* (%6,5), *Citrobacter freundii* (%2,4), *Enterobacter ludwigii* (%0,8), *Escherichia fergusonii* (%0,8), *Escherichia hermannii* (%0,8), *Lactobacillus paracase* (%0,8), *Lactobacillus rhamnosus* (%0,8), *Lactococcus garvieae* (%0,8), *Propionibacterium granulosum* (%0,8), *Raoultella planticola* (%0,8), *Streptococcus anginosus* (%0,8), *Streptococcus infantis* (%0,8), *Streptococcus sanguinis* (%0,8) saptandı.

3.gün *Streptococcus salivarius* (%32,3), *Escherichia coli* (%11,6), *Streptococcus thermophilus* (%9,8), *Enterobacter aerogenes* (%8,5), *Enterococcus faecalis* (%8,5), *Staphylococcus epidermidis* (%3,8), *Haemophilus parainfluenzae* (%3), *Streptococcus sanguinis* (%1,8), *Acinetobacter guillouiae* (%1,8), *Streptococcus oralis* (%1,8), *Streptococcus mitis* (%1,2), *Streptococcus pneumoniae* (%1,2), *Acinetobacter bereziniae* (%1,2), *Acinetobacter bouvetii* (%1,2), *Enterobacter cloacae* (%1,2), *Raoultella ornithinolytic* (%1,2), *Rothia mucilaginosa* (%1,2), *Salmonella enterica* (%0,6), *Shigella flexneri* (%0,6), *Shigella sonnei* (%0,6), *Staphylococcus capitis* (%0,6), *Streptococcus*

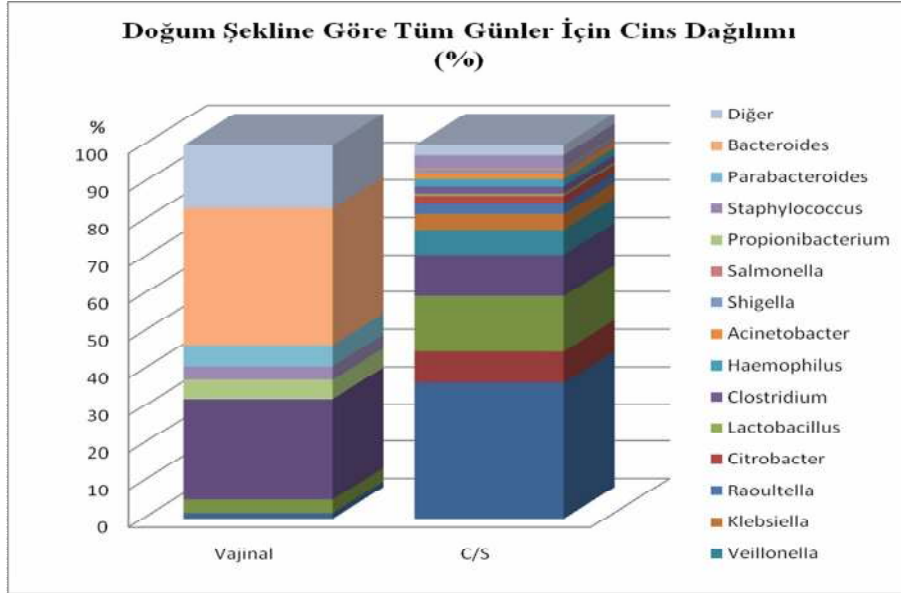
lactarius (%0,6), *Haemophilus influenzae* (%0,6), *Lactobacillus casei* (%0,6), *Enterobacter hormaechei* (%0,6), *Enterobacter ludwigii* (%0,6), *Acinetobacter johnsonii* (%0,6), *Averyella dalhousiensis* (%0,6), *Citrobacter freundii* (%0,6), *Streptococcus suis* (%0,6), *Veillonella parvula* (%0,6) türü saptandı.

7.gün bakterilerinin tür bazında dağılımı; *Enterococcus faecalis* (%13), *Enterobacter aerogenes* (%10,4), *Escherichia coli* (%10,4), *Veillonella ratti* (%7,3), *Veillonella parvula* (%5,2), *Klebsiella oxytoca* (%5,2), *Klebsiella pneumoniae* (%4,7), *Staphylococcus epidermidis* (%4,1), *Enterobacter cloacae* (%4,1), *Citrobacter freundii* (%3,1), *Raoultella ornithinolytica* (%3,1), *Streptococcus thermophilus* (%3,1), *Veillonella dispar* (%2,6), *Streptococcus salivarius* (%2,6), *Clostridium paraputrificum* (%2,6), *Streptococcus parasanguinis* (%2,1), *Veillonella tobetsuensis* (%1,6), *Haemophilus parainfluenzae* (%1,6), *Clostridium perfringens* (%1,6), *Raoultella planticola* (%1,1), *Blautia luti* (%0,5), *Citrobacter diversus* (%0,5), *Clostridium tertium* (%0,5), *Corynebacterium simulans* (%0,5), *Edwardsiella tarda* (%0,5), *Enterobacter asburiae* (%0,5), *Enterobacter hormaechei* (%0,5), *Enterobacter ludwigii* (%0,5), *Enterococcus avium* (%0,5), *Erwinia amylovora* (%0,5), *Gemella haemolysans* (%0,5), *Klebsiella variicola* (%0,5), *Khuyvera cryocrescens* (%0,5), *Raoultella terrigena* (%0,5), *Rothia mucilaginosa* (%0,5), *Salmonella enterica* (%0,5), *Serratia marcescens* (%0,5), *Shigella sonnei* (%0,5), *Staphylococcus hominis* (%0,5), *Streptococcus lactarius* (%0,5), *Streptococcus mitis* (%0,5) şeklindeydi (Şekil 19).



Şekil 19. Sezaryen ile doğan olgularda günlere göre bakteri tür dağılımı

Sezaryen ve vajinal doğan olgular toplam bakteri cinsleri açısından karşılaştırıldığında vajinal yol ile doğan olgularda ilk sırada *Bacteroides*, *Escherichia* ve *Enterococcus*; sezaryen ile doğan olgularda ise *Streptococcus*, *Enterobacter* ve *Escherichia* yer alıyordu. Ayrıca sezaryen ile doğan olgularda patojen olan *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakteriler de herhangi bir semptomla yol açmadan gaita örneklerinde tespit edildi (Şekil 20).



Şekil 20. Tüm günler için doğum şekline göre cins dağılımı

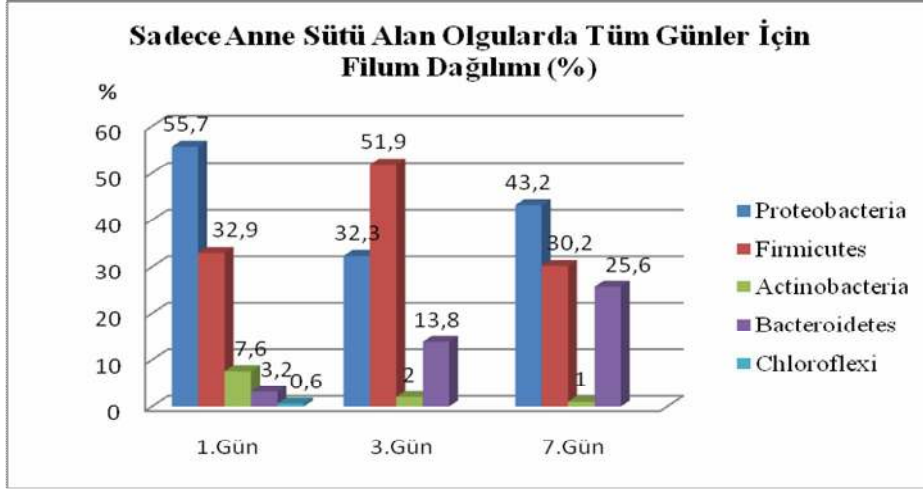
BESLENME ŞEKLİNE GÖRE DEĞERLENDİRME

Sadece anne sütüyle beslenen 7 olgunun beşinden (Tablo 6) alınan 1.gün gayta örneklerinde sekans analizi sonucu 5 filum ve 10 cinse ait 158 adet bakteri tespit edildi.

Olguların filum dağılımı 1.gün için *Proteobacteria* (%55,7), *Firmicutes* (%32,9), *Actinobacteria* (%7,6), *Bacteroidetes* (%3,2) ve *Chloroflexi* (%0,6) şeklindeydi.

3.gün olguların tamamından alınan gayta örneklerinde sekans analizi sonucunda 4 filum ve 19 cinse ait 195 adet bakteri saptandı. 3.gün filum dağılımı *Firmicutes* (%51,9), *Proteobacteria* (%32,3), *Bacteroidetes* (%13,8), *Actinobacteria* (%2) idi.

7.gün alınan gayta örneklerinde ise 4 filum ve 23 cinse ait 199 adet bakteri tespit edildi. 7.gün filum dağılımı *Proteobacteria* (%43,2), *Firmicutes* (%30,2), *Bacteroidetes* (%25,6), *Actinobacteria* (%1) şeklindeydi (Şekil 21).

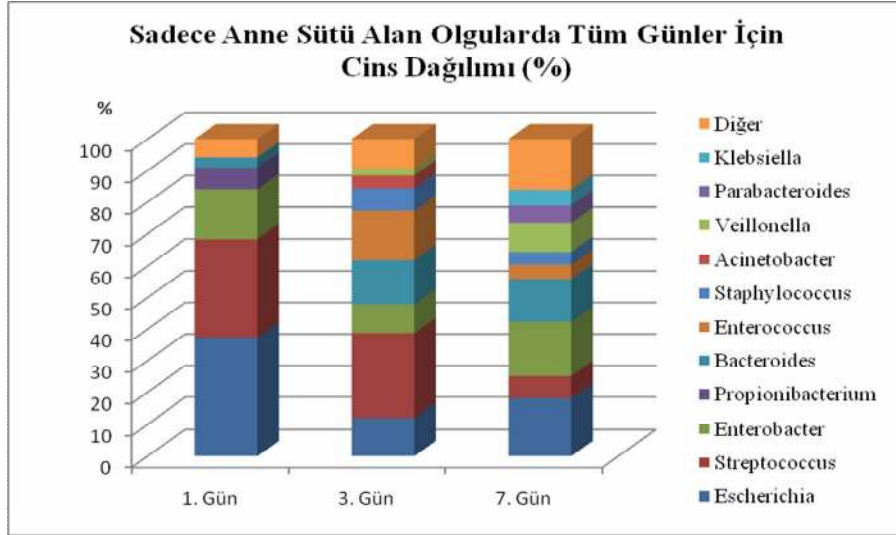


Şekil 21. Sadece anne sütü alan olgularda tüm günler için filum dağılımı

Anne sütü ile beslenen olgulardaki cins dağılımını değerlendirdiğimizde 1.gün; *Escherichia* (%37,3), *Streptococcus* (%31), *Enterobacter* (%15,8), *Propionibacterium* (%6,9), *Bacteroides* (%3,2), *Lactobacillus* (%2), *Citrobacter* (%2), *Corynebacterium* (%0,6), *Raoultella* (%0,6), *Sphaerobacter* (%0,6) tespit edildi.

3.gün cins dağılımı; *Streptococcus* (%26,7), *Enterococcus* (%15,4), *Bacteroides* (%14), *Escherichia* (%12), *Enterobacter* (%9,2), *Staphylococcus* (%7,1), *Acinetobacter* (%4,1), *Haemophilus* (%3), *Veillonella* (% 2), *Raoultella* (%1), *Shigella* (%1), *Rothia* (%1), *Lactobacillus* (%0,5), *Citrobacter* (%0,5), *Janibacter* (%0,5), *Micrococcus* (%0,5), *Paracoccus* (%0,5), *Salmonella* (%0,5), *Averyella* (%0,5) şeklindeydi.

7.gün cins dağılımı; *Escherichia* (%18,1), *Enterobacter* (%17,2), *Bacteroides* (%13,6), *Veillonella* (%9), *Streptococcus* (%7), *Parabacteroides* (%5,5), *Klebsiella* (%5), *Raoultella* (%4,5), *Enterococcus* (%4,5), *Staphylococcus* (%4), *Citrobacter* (%3,6), *Clostridium* (%1,5), *Haemophilus* (%1,5), *Blautia* (%0,5), *Corynebacterium* (%0,5), *Edwardsiella* (%0,5), *Erwinia* (%0,5), *Gemella* (%0,5), *Kluyvera* (%0,5), *Rothia* (%0,5), *Salmonella* (%0,5), *Serratia* (%0,5), *Shigella* (%0,5) idi (Şekil 22).



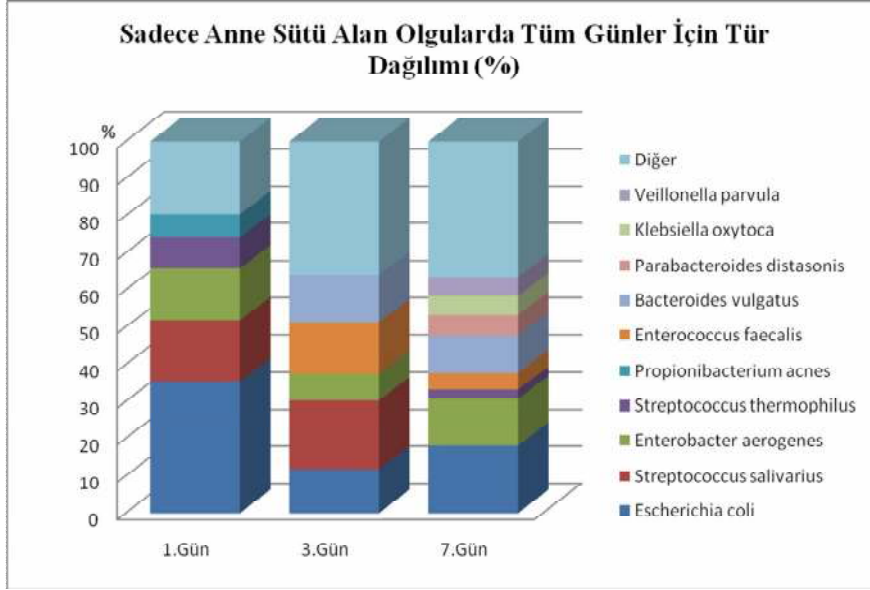
Şekil 22. Sadece anne sütü alanlarda tüm günler için cins dağılımı

Bu olgulardaki bakteri türü dağılımına baktığımızda 1.gün karşılaşılan bakteriler; *Escherichia coli* (%35,4), *Streptococcus salivarius* (%16,5), *Enterobacter aerogenes* (%14), *Streptococcus thermophilus* (%8,2), *Propionibacterium acnes* (%6,3), *Streptococcus vestibularis* (%5,1), *Bacteroides vulgatus* (%3,2), *Citrobacter freundii* (%2), *Escherichia fergusonii* (%2), *Corynebacterium accolens* (%0,6), *Enterobacter cloacae* (%0,6), *Enterobacter hormaechei* (%0,6), *Enterobacter ludwigii* (%0,6), *Escherichia hermannii* (%0,6), *Lactobacillus murinus* (%0,6), *Lactobacillus paracase* (%0,6), *Lactobacillus rhamnosus* (%0,6), *Propionibacterium granulosum* (%0,6), *Raoultella planticola* (%0,6), *Streptococcus anginosus* (%0,6), *Streptococcus infantis* (%0,6) idi.

3.gün tespit edilen bakteriler; *Streptococcus salivarius* (%18,5), *Enterococcus faecalis* (%13,8), *Bacteroides vulgatus* (%12,8), *Escherichia coli* (%11,8), *Enterobacter aerogenes* (%7,2), *Streptococcus thermophilus* (%4,1), *Staphylococcus epidermidis* (%3,6), *Haemophilus parainfluenzae* (%2,6), *Veillonella parvula* (%1,5), *Streptococcus oralis* (%1,5), *Staphylococcus aureus* (%1,5), *Enterococcus durans* (%1,5), *Acinetobacter guillouiae* (%1,5), *Acinetobacter berezinae* (%1), *Acinetobacter bouvetii* (%1), *Enterobacter cloacae* (%1), *Raoultella ornithinolytic* (%1), *Rothia mucilaginosa* (%1), *Streptococcus pneumoniae* (%1), *Staphylococcus hominis* (%1), *Acinetobacter johnsonii* (%0,5), *Averyella dalhousiensis* (%0,5), *Bacteroides dorei* (%0,5), *Bacteroides uniformis* (%0,5), *Citrobacter freundii* (%0,5),

Enterobacter hormaechei (%0,5), *Enterobacter ludwigii* (%0,5), *Haemophilus influenzae* (%0,5), *Janibacter sanguinis* (%0,5), *Lactobacillus casei* (%0,5), *Micrococcus terreus* (%0,5), *Paracoccus chinensis* (%0,5), *Salmonella enterica* (%0,5), *Shigella flexneri* (%0,5), *Shigella sonnei* (%0,5), *Staphylococcus capitis* (%0,5), *Staphylococcus haemolyticus* (%0,5), *Streptococcus lactarius* (%0,5), *Streptococcus mitis* (%0,5), *Streptococcus suis* (%0,5), *Veillonella dispar* (%0,5) şeklindeydi.

7.gün saptanan bakteriler sıklık sırasına göre *Escherichia coli* (%18,1), *Enterobacter aerogenes* (%12,6), *Bacteroides vulgatus* (%10,1), *Parabacteroides distasonis* (%5,5), *Klebsiella oxytoca* (%5,1), *Veillonella parvula* (%5,1), *Enterococcus faecalis* (%4,5), *Staphylococcus epidermidis* (%3,5), *Enterobacter cloacae* (%3), *Raoultella ornithinolytica* (%3), *Citrobacter freundii* (%3), *Veillonella dispar* (%2,5), *Streptococcus salivarius* (%2,5), *Streptococcus thermophilus* (%2,5), *Bacteroides clarus* (%2,5), *Clostridium perfringens* (%1,5), *Haemophilus parainfluenzae* (%1,5), *Veillonella tobetsuensis* (%1,5), *Streptococcus parasanguinis* (%1), *Raoultella planticola* (%1), *Bacteroides ovatus* (%0,5), *Bacteroides stercorisoris* (%0,5), *Blautia luti* (%0,5), *Citrobacter diversus* (%0,5), *Corynebacterium simulans* (%0,5), *Edwardsiella tarda* (%0,5), *Enterobacter asburiae* (%0,5), *Enterobacter hormaechei* (%0,5), *Enterobacter ludwigii* (%0,5), *Erwinia amylovora* (%0,5), *Gemella haemolysans* (%0,5), *Kluyvera cryocrescens* (%0,5), *Raoultella terrigena* (%0,5), *Rothia mucilaginosa* (%0,5), *Salmonella enterica* (%0,5), *Serratia marcescens* (%0,5), *Shigella sonnei* (%0,5), *Staphylococcus hominis* (%0,5), *Streptococcus lactarius* (%0,5), *Streptococcus mitis* (%0,5) idi (Şekil 23).



Şekil 23. Sadece anne sütü alan olgularda tüm günler için tür dağılımı

Anne sütü ve formül mama verilen iki olgunun (Tablo 6) birinde, 1 ve 3.günde amplikon yoktu (Ek 5).

1.gün Olgu 5'in sekans analizi sonucunda 1 filum (*Firmicutes*) ve 2 cinse ait (%96,6 *Streptococcus*, %3,4 *Lactococcus*) 30 adet bakteri, 3.gün sekans analizi sonucunda 1 filum (*Firmicutes*) ve 2 cinse ait (%96,7 *Streptococcus*, %3,3 *Enterococcus*) 30 adet bakteri tespit edildi.

1.gün Olgu 5'de *Streptococcus salivarius* (%60), *Streptococcus thermophilus* (%33,3), *Streptococcus sanguinis* (%3,3), *Lactococcus garvieae* (%3,3), 3.gün *Streptococcus salivarius* (%56,7), *Streptococcus thermophilus* (%26,7), *Streptococcus sanguinis* (%10), *Streptococcus mitis* (%3,3) ve *Enterococcus faecalis* (%3,3) türü tespit edildi. Bu bakterilerin tamamı fakültatif anaerobdu.

7.günde Olgu 5'in sekans analizi sonucunda 2 filum (%87,5 *Firmicutes*, %12,5 *Proteobacteria*) saptandı.

Bu olguda saptanan bakteriler *Veillonella* (%43,7), *Clostridium* (%18,8), *Enterococcus* (%12,5), *Escherichia* (%9,4), *Streptococcus* (%9,4), *Enterobacter* (%3,1), *Staphylococcus* (%3,1) cinsine aitti.

7.günde Olgu 5’de tespit edilen bakteriler; *Veillonella ratti* (%43,9), *Clostridium paraputrificum* (%15,6), *Enterococcus faecalis* (%9,4), *Escherichia coli* (%9,4), *Streptococcus parasanguinis* (%6,3), *Staphylococcus epidermidis* (%3,1), *Clostridium tertium* (%3,1), *Enterobacter cloacae* (%3,1), *Enterococcus avium* (%3,1), *Streptococcus thermophilus* (%3,1) idi.

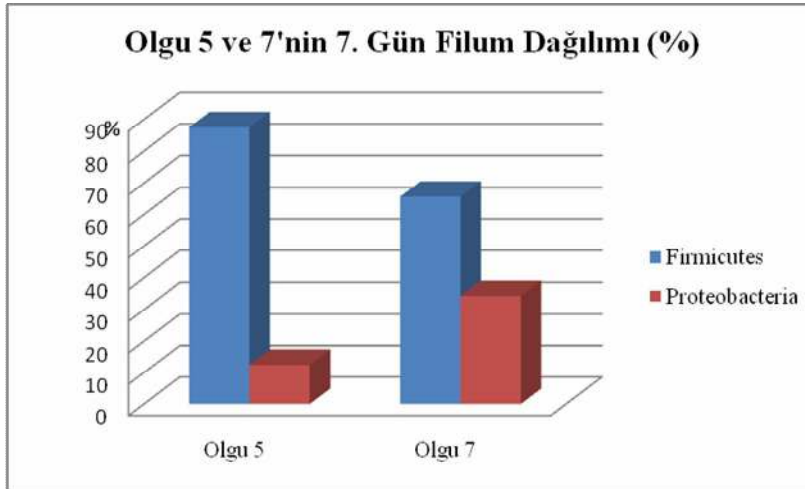
YYBÜ’nde izlendiği dönemde yoğun antibiyotik tedavisi alan Olgu 7’nin 1 ve 3.gün gayta örneklerinde amplikona rastlanmadı. 7.gün gayta örneğinde 2 filum (%65,7 *Firmicutes*, %34,3 *Proteobacteria*) 3 cinse ait 32 adet bakteri tespit edildi.

7.gün saptanan cins dağılımı *Enterococcus* (%65,7), *Klebsiella* (%31,2), *Enterobacter* (%3,1) idi.

Aynı olguda saptanan bakteriler; *Enterococcus faecalis* (%65,7), *Klebsiella pneumoniae* (%28,1), *Enterobacter cloacae* (%3,1), *Klebsiella variicola* (%3,1) idi.

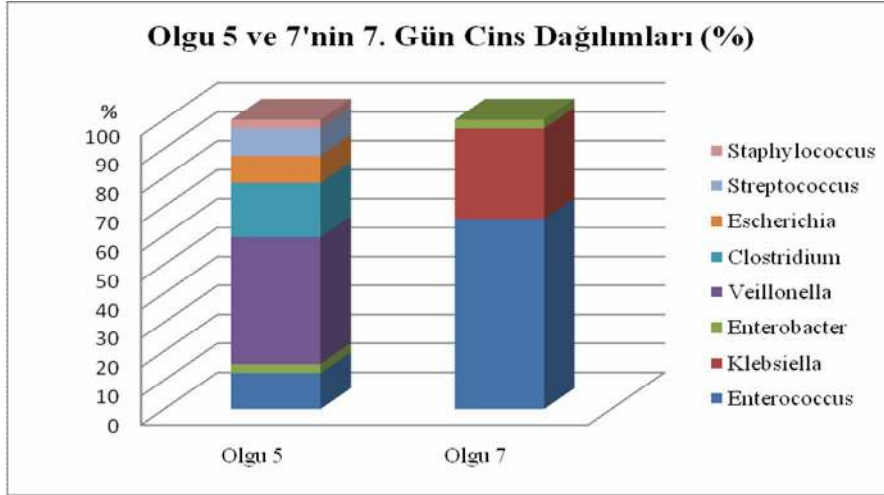
Anne sütü ve formül mama alan Olgu 5 ve Olgu 7’nin 7.gün gayta örnekleri karşılaştırıldığında, her ikisinde de aynı sayıda ve aynı filumlara ait bakteriler tespit edilmesine karşın bunların dağılımındaki farklılıklar dikkat çekmekteydi.

Olguların ikisinde de *Firmicutes* filumu en sık görülen tip olup Olgu 5’de %87,5, Olgu 7’de %65,7 oranındaydı. *Proteobacteria* filum oranı Olgu 7’de Olgu 5’e kıyasla daha yüksekti (sırasıyla %34,3 ve %12,5) (Şekil 24).



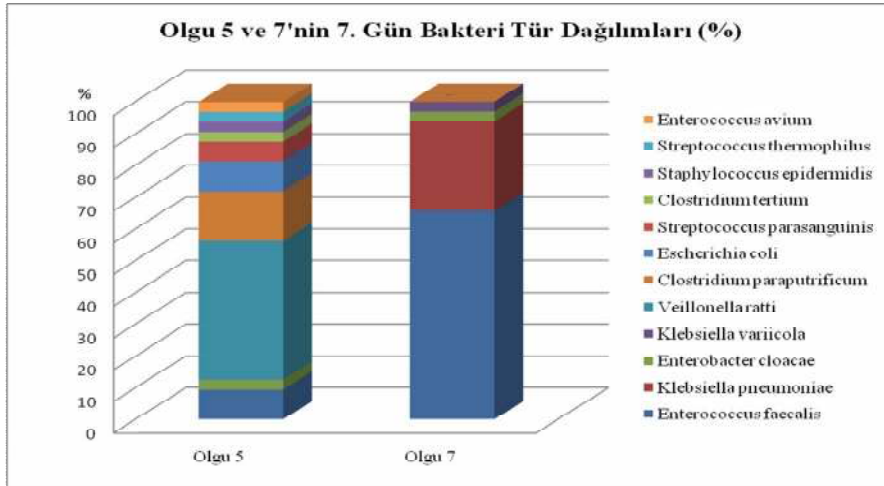
Şekil 24. Olgu 5 ve 7’nin 7.gün filum dağılımları

Olguları 7.gün cins düzeyinde değerlendirdiğimizde Olgu 5'in gayta örneğinde daha fazla sayıda cins olduğu görüldü ki bu durum Olgu 7'nin uzun dönem çoklu antibiyoterapi alması ve kompleks intestinal flora oluşumunda gecikme ile açıklanabilir (Şekil 25).



Şekil 25. Olgu 5 ve 7'nin 7.gün cins dağılımları

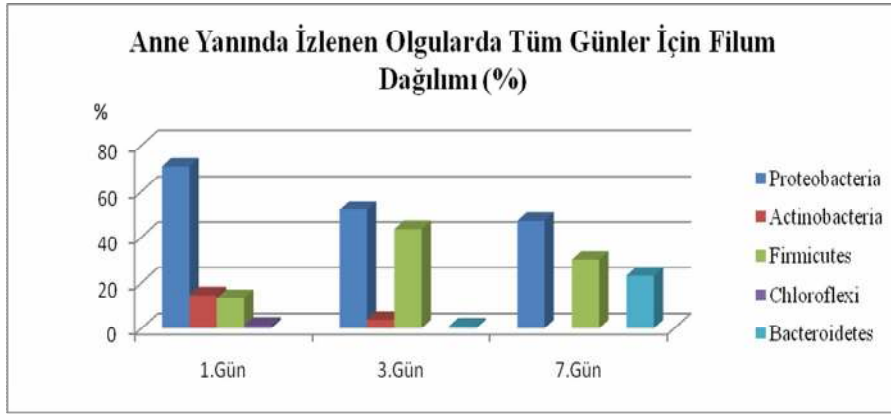
Olgu 5'in cins düzeyindeki bakteriyel zenginliği doğal olarak tür düzeyine de yansıyor. Olgu 5'de 7.gün 10 bakteri türü saptanırken Olgu 7'de sadece 4 bakteri türü tespit edildi (Şekil 26).



Şekil 26. Olgu 5 ve 7'nin 7.gün bakteri tür dağılımları

ANNE YANINDA İZLENEN OLGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Sağlıklı ve anne yanında izlenen, sadece anne sütüyle beslenen 4 olgu değerlendirildiğinde 1.günde bir olgunun gayta örneğinde amplikona rastlanmadı. 3 ve 7.günlerde 4 olguda da bakteri saptandı. 1.gün 4 filum; *Proteobacteria* (%70,8), *Actinobacteria* (%14,6), *Firmicutes* (%13,4), *Chloroflexi* (%1,2), 3.gün 3 filum; *Proteobacteria* (%51,9), *Firmicutes* (%43,4), *Actinobacteria* (%3,8), 7.gün 3 filum; *Proteobacteria* (%46,9), *Firmicutes* (%30,1), *Bacteroidetes* (%23) tespit edildi (Şekil 27).



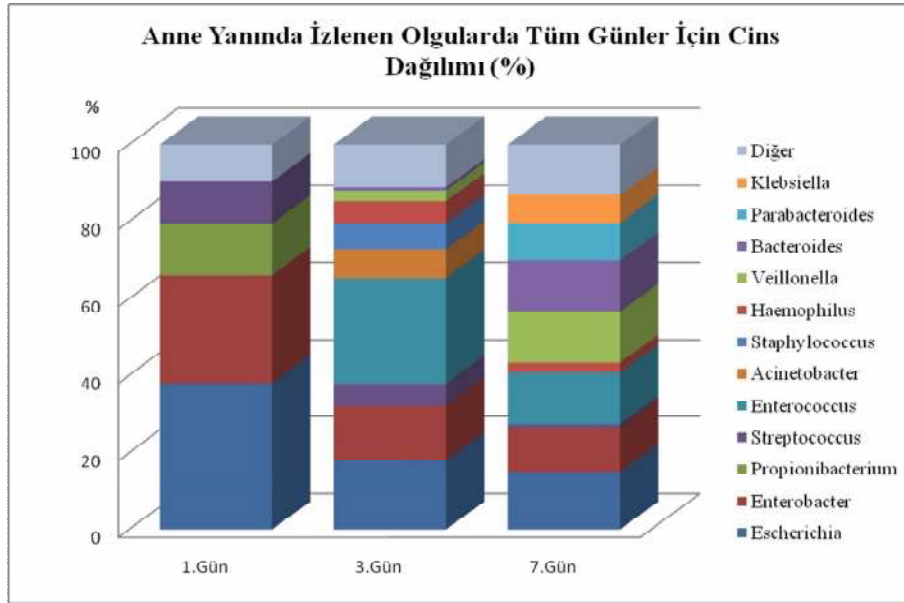
Şekil 27. Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için filum dağılımı

Bu olgularda 1.gün 9 cins saptandı, bunlar; *Escherichia* (%38), *Enterobacter* (%28), *Propionibacterium* (%13,4), *Streptococcus* (%11), *Citrobacter* (%3,6), *Lactobacillus* (%2,4), *Corynebacterium* (%1,2), *Sphaerobacter* (%1,2), *Raoultella* (%1,2) idi.

3.gün 19 cins tespit edildi, bunlar; *Enterococcus* (%27,4), *Escherichia* (%18), *Enterobacter* (%14,2), *Acinetobacter* (%7,5), *Staphylococcus* (%6,7), *Streptococcus* (%5,7), *Haemophilus* (%5,7), *Veillonella* (%2,8), *Shigella* (%2), *Rothia* (%1,9), *Raoultella* (%0,9), *Citrobacter* (%0,9), *Bacteroides* (%0,9), *Janibacter* (%0,9), *Micrococcus* (%0,9), *Paracoccus* (%0,9), *Lactobacillus* (%0,9), *Salmonella* (%0,9), *Averyella* (%0,9) şeklindeydi.

7.gün 16 cinse ait bakteri saptandı. Bu cinslerin dağılımı; *Escherichia* (%15), *Enterococcus* (%13,3), *Veillonella* (%13,3), *Bacteroides* (%13,3), *Enterobacter* (%11,5), *Parabacteroides* (%9,7), *Klebsiella* (%7,2), *Citrobacter* (%4,4), *Haemophilus* (%2,6),

Raoultella (%2,6), *Clostridium* (%2,6), *Edwardsiella* (%0,9), *Serratia* (%0,9), *Streptococcus* (%0,9), *Shigella* (%0,9), *Salmonella* (%0,9) şeklindeydi (Şekil 28).



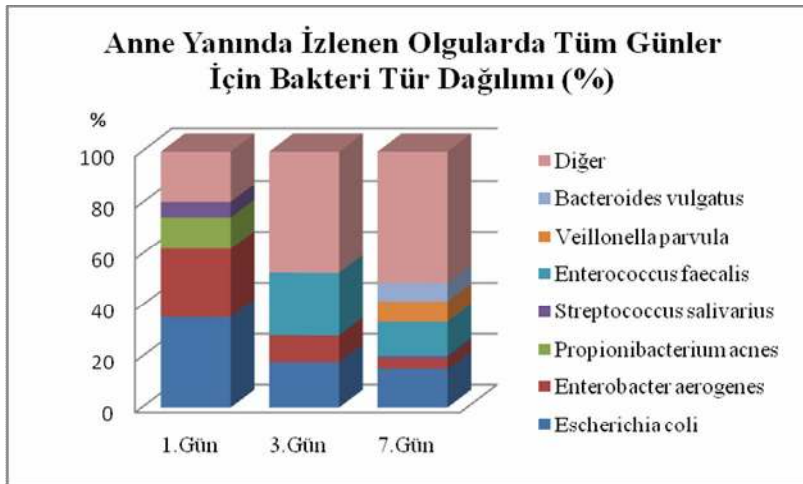
Şekil 28. Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için cins dağılımı

1.gün 82 adet bakteri tanımlandı. En sık rastlanan bakteriler *Escherichia coli* (%35,4), *Enterobacter aerogenes* (%26,8), *Propionibacterium acnes* (%12,2), *Streptococcus salivarius* (%6,1), *Citrobacter freundii* (%3,65), *Streptococcus thermophilus* (%3,65), *Corynebacterium accolens* (%1,22), *Enterobacter ludwigii* (%1,22), *Escherichia fergusonii* (%1,22), *Escherichia hermannii* (%1,22), *Lactobacillus paracase* (%1,22), *Lactobacillus rhamnosus* (%1,22), *Propionibacterium granulosum* (%1,22), *Raoultella planticola* (%1,22), *Sphaerobacter thermophilus* (%1,22), *Streptococcus infantis* (%1,22) idi.

3.günde 106 adet bakteri tanımlandı. En sık rastlanan bakteriler *Enterococcus faecalis* (%24,5), *Escherichia coli* (%17,9), *Enterobacter aerogenes* (%10,4), *Haemophilus parainfluenzae* (%4,7), *Acinetobacter guillouiae* (%2,8), *Streptococcus oralis* (%2,8), *Enterococcus durans* (%2,8), *Staphylococcus aureus* (%2,8), *Acinetobacter bereziniae* (%1,9), *Acinetobacter bouvetii* (%1,9), *Veillonella parvula* (%1,9), *Enterobacter cloacae* (%1,9), *Rothia mucilaginosa* (%1,9), *Staphylococcus hominis* (%1,9), *Acinetobacter johnsonii* (%0,9), *Averyella dalhousiensis* (%0,9), *Bacteroides uniformis* (%0,9), *Citrobacter freundii* (%0,9),

Enterobacter hormaechei (%0,9), *Enterobacter ludwigii* (%0,9), *Haemophilus influenzae* (%0,9), *Janibacter sanguinis* (%0,9), *Lactobacillus casei* (%0,9), *Micrococcus terreus* (%0,9), *Paracoccus chinensis* (%0,9), *Raoultella ornithinolytica* (%0,9), *Salmonella enterica* (%0,9), *Shigella flexneri* (%0,9), *Shigella sonnei* (%0,9), *Staphylococcus epidermidis* (%0,9), *Staphylococcus haemolyticus* (%0,9), *Streptococcus mitis* (%0,9), *Streptococcus pneumoniae* (%1,9), *Veillonella dispar* (%0,9) şeklindeydi.

7.günde 113 adet bakteri tanımlandı. En sık rastlanan bakteriler *Escherichia coli* (%15), *Enterococcus faecalis* (%13,3), *Parabacteroides distasonis* (%9,7), *Veillonella parvula* (%8), *Klebsiella oxytoca* (%7,8), *Bacteroides vulgatus* (%7,1), *Enterobacter cloacae* (%4,9), *Enterobacter aerogenes* (%4,9), *Bacteroides clarus* (%4,9), *Citrobacter freundii* (%3,9), *Clostridium perfringens* (%3,0), *Raoultella ornithinolytica* (%3,0), *Veillonella tobetsuensis* (%3,0), *Veillonella dispar* (%3,0), *Haemophilus parainfluenzae* (%3,0), *Bacteroides ovatus* (%1), *Bacteroides sp* (%1), *Bacteroides stercorisoris* (%1), *Citrobacter diversus* (%1), *Edwardsiella tarda* (%1), *Enterobacter asburiae* (%1), *Enterobacter hormaechei* (%1), *Enterobacter ludwigii* (%1), *Salmonella enterica* (%1), *Serratia marcescens* (%1), *Shigella sonnei* (%1), *Streptococcus salivarius* (%1) idi (Şekil 29).

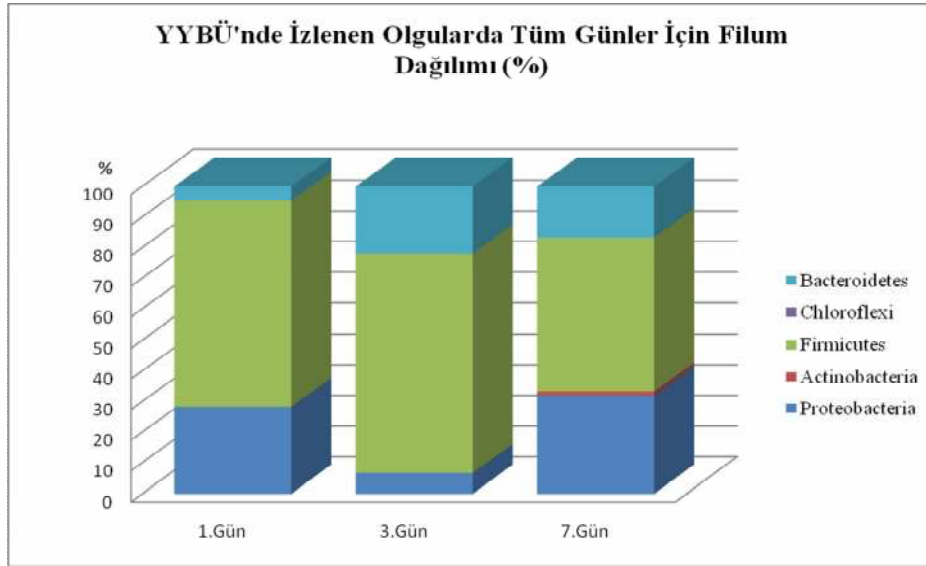


Şekil 29. Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için bakteri tür dağılımı

YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE İZLENEN OLGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çeşitli tanımlar ile YYBÜ’nde izlenen 5 olguyu değerlendirdiğimizde birinci gün 2 olgunun, 3.gün de bir olgunun gayta örneğinde amplikona rastlanmadı. 7.gün tüm olgularda sekanslama yapıldı. Bir olgu yatışı sırasında ikili (ampisilin, gentamisin), bir olgu da çoklu (ampisilin, gentamisin, sefotaksim, klaritromisin) antibiyotik tedavisi almıştı.

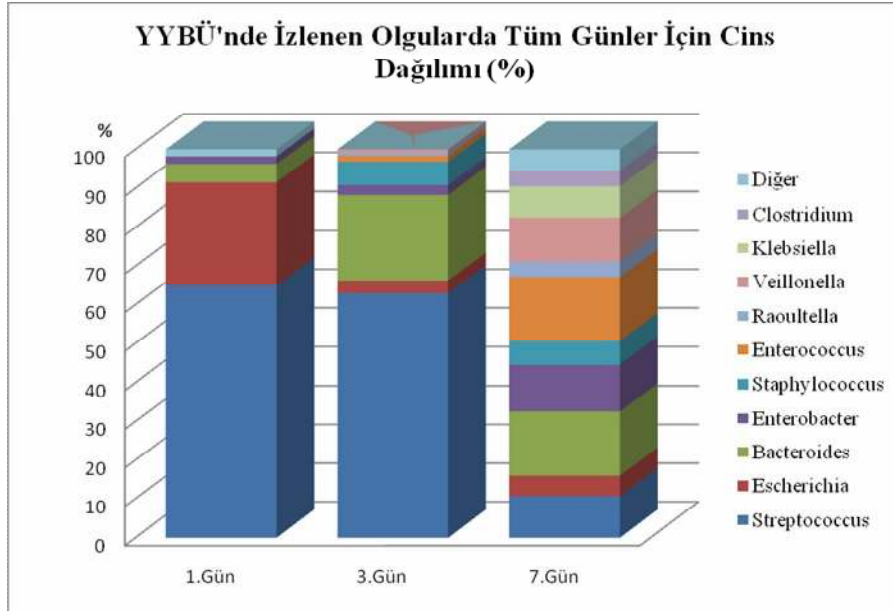
İlk gün gayta örneklerinde üç olguda 3 filum (*Firmicutes* %67, *Proteobacteria* %28,3, *Bacteroidetes* % 4,7), 3.gün dört olguda 3 filum (*Firmicutes* %71,4, *Bacteroidetes* % 21,9, *Proteobacteria* %6,7), 7.gün beş olguda 4 filum (*Firmicutes* %50, *Proteobacteria* %32, *Bacteroidetes* % 16,7, *Actinobacteria* %1,3) tespit edildi (Şekil 30).



Şekil 30. YYBÜ’nde izlenen olgularda tüm günler için filum dağılımı

YYBÜ’nde izlenen olgularda cins dağılımını değerlendirdiğimizde 1.gün 6 cins; *Streptococcus* (%65), *Escherichia* (%26,5), *Bacteroides* (%4,7), *Enterobacter* (%2), *Lactobacillus* (%0,9), *Lactococcus* (%0,9), 3.gün 8 cins; *Streptococcus* (%63), *Bacteroides* (%22), *Staphylococcus* (%6), *Escherichia* (%3,3), *Enterobacter* (%2,5), *Enterococcus* (%1,6), *Raoultella* (%0,8), *Veillonella* (%0,8), 7.gün 17 cins; *Bacteroides* (%16,6), *Enterococcus* (%16,6), *Enterobacter* (%12), *Veillonella* (%11, 3), *Streptococcus* (%10,7), *Klebsiella* (%8),

Staphylococcus (% 6), *Escherichia* (%5,3), *Raoultella* (%4), *Clostridium* (%4), *Citrobacter* (%1,3), *Blautia* (% 0,7), *Corynebacterium* (% 0,7), *Gemella* (% 0,7), *Rothia* (% 0,7), *Erwinia* (% 0,7), *Kluyvera* (% 0,7) bakteri saptandı (Şekil 31).

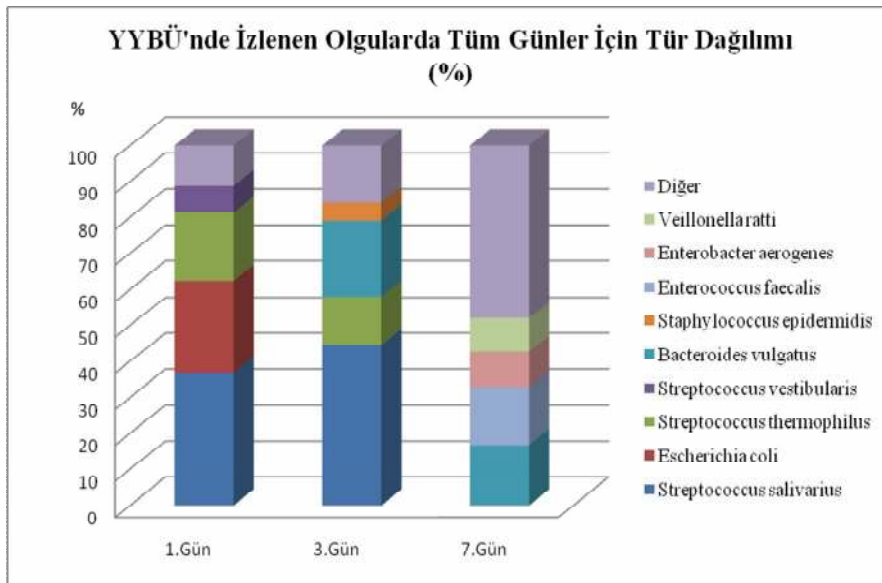


Şekil 31. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda tüm günler için cins dağılımı

Bu olgularda 1.gün 106, 3.gün 119 ve 7.gün 150 adet bakteri tespit edildi. 1.gün en sık rastlanan bakteriler; *Streptococcus salivarius* (%36,8), *Escherichia coli* (%25,5), *Streptococcus thermophilus* (%18,9) ve *Streptococcus vestibularis* (%7,5), *Bacteroides vulgatus* (%4,7), *Enterobacter cloacae* (%0,9), *Enterobacter hormaechei* (%0,9), *Escherichia fergusonii* (%0,9), *Lactobacillus murinus* (%0,9), *Lactococcus garvieae* (%0,9), *Streptococcus anginosus* (%0,9), *Streptococcus sanguinis* (%0,9) idi.

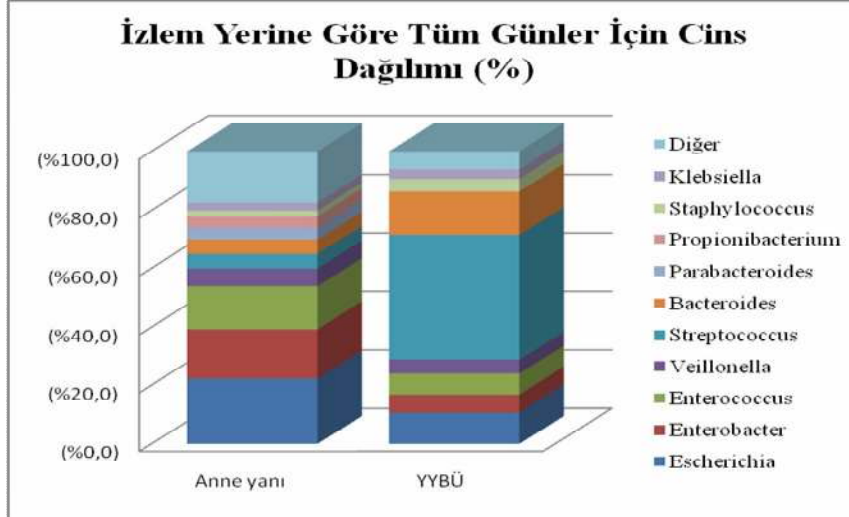
3.gün en sık rastlanan bakteriler; *Streptococcus salivarius* (%44,5), *Bacteroides vulgatus* (%21), *Streptococcus thermophilus* (%13,5), *Staphylococcus epidermidis* (%5), *Escherichia coli* (%3,4), *Enterobacter aerogenes* (%2,5), *Enterococcus faecalis* (%1,7), *Bacteroides dorei* (%0,8), *Raoultella ornithinolytic* (%0,8), *Staphylococcus capitis* (%0,8), *Streptococcus lactarius* (%0,8), *Streptococcus mitis* (%0,8) şeklindeydi.

7.gün en sık rastlanan bakteriler; *Bacteroides vulgatus* (% 16,7), *Enterococcus faecalis* (%16), *Enterobacter aerogenes* (%10), *Veillonella ratti* (%9,3), *Escherichia coli* (%5,3), *Staphylococcus epidermidis* (%5,3), *Streptococcus thermophilus* (%4,0), *Clostridium paraputrificum* (%3,3), *Streptococcus parasanguinis* (%2,7), *Streptococcus salivarius* (%2,7), *Enterobacter cloacae* (%2,0), *Raoultella ornithinolytica* (%2,0), *Citrobacter freundii* (%1,3), *Klebsiella oxytoca* (%1,3), *Raoultella planticola* (%1,3), *Veillonella dispar* (%1,3), *Blautia luti* (%0,6), *Clostridium tertium* (%0,6), *Corynebacterium simulans* (%0,6), *Enterococcus avium* (%0,6), *Erwinia amylovora* (%0,6), *Gemella haemolysan* (%0,6), *Klebsiella pneumoniae* (%6,0), *Klebsiella variicola* (%0,6), *Kluyvera cryocrescens* (%0,6), *Raoultella terrigena* (%0,6), *Rothia mucilaginosa* (%0,6), *Staphylococcus hominis* (%0,6), *Streptococcus lactarius* (%0,6), *Streptococcus mitis* (%0,6), *Veillonella parvula* (%0,6) idi (Şekil 32).



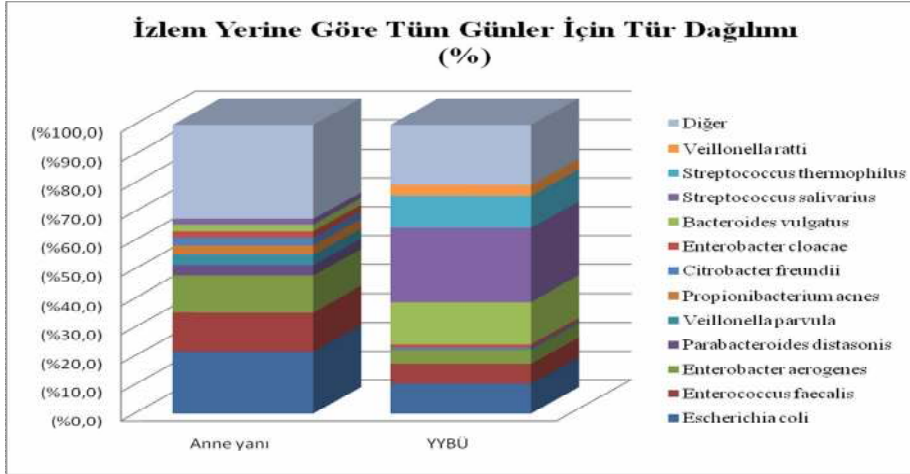
Şekil 32. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda tüm günler için bakteri tür dağılımı

Olguları toplam örnek alım günlerine göre değerlendirdiğimizde, anne yanında izlenen olgularda en sık *Escherichia* (%22,3), *Enterobacter* (%17) ve *Enterococcus* (%14,6) saptanırken, YYBÜ'nde izlenen olgularda *Streptococcus* cinsi bakteriler %42,7 oranında tespit edildi (Şekil 33).



Şekil 33. İzlem yerine göre tüm günler için cins dağılımı

Anne yanında izlenen olgularda tür dağılımını incelediğinde, *Escherichia coli* %21,6, *Enterococcus faecalis* %13,6, *Enterobacter aerogenes* %12,6 oranında saptandı. YYBÜ’nde izlenen olgularda *Streptococcus salivarius* %25,6, *Bacteroides vulgatus* %14,7, *Streptococcus thermophilus* %11,2 oranında tespit edildi (Şekil 34). Anne yanında izlenen olgularda bakterilerin cins ve tür düzeyinde çeşitliliği YYBÜ’nde izlenen olgulara kıyasla daha fazlaydı.



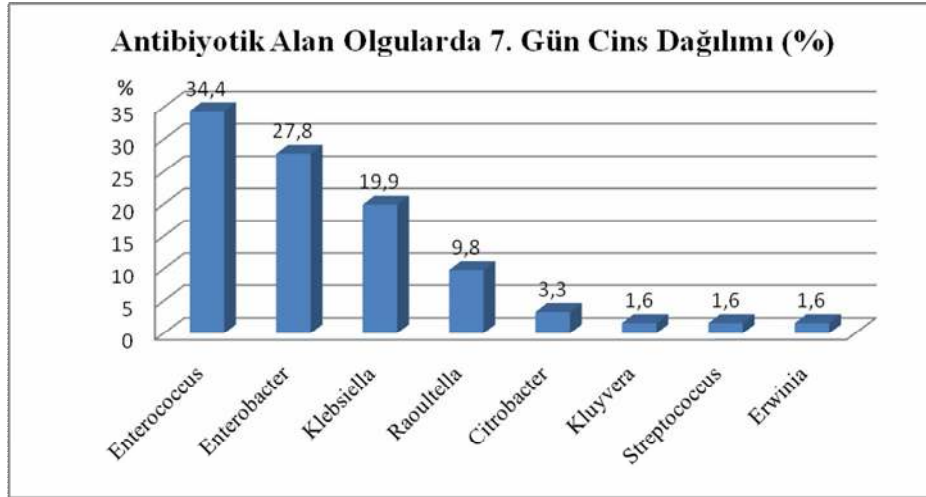
Şekil 34. İzlem yerine göre tüm günler için tür dağılımı

ANTİBİYOTİK ALAN ve ALMAYAN OLGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Üç olgu (Tablo 6) YYBÜ'nde izlendikleri günlerde antibiyotik tedavisi aldı ve birinci gün hiçbirinde amplikon tespit edilmedi.

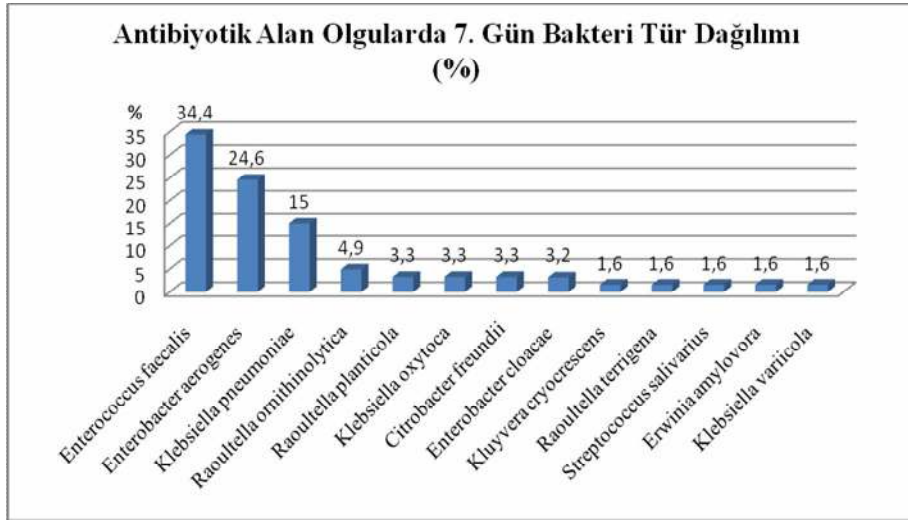
Bir bebeğin 3.gün gaytasında 2 filum (%86,7 *Firmicutes*, %13,3 *Proteobacteria*), 3 cinse (%86,7 *Streptococcus*, %10 *Enterobacter*, %3,3 *Raoultella*) ait toplam 30 adet bakteri (%80 *Streptococcus salivarius*, %10 *Enterobacter aerogenes*, %6,7 *Streptococcus thermophilus*, %3,3 *Raoultella ornithinolytic*) tespit edildi.

7.gün 2 bebeğin gayta örneklerinin sekans analizinde 2 filum (%64 *Proteobacteria*, %36 *Firmicutes*), 8 cinse (%34,4 *Enterococcus*, %27,8 *Enterobacter*, %19,9 *Klebsiella*, %9,8 *Raoultella*, %3,3 *Citrobacter*, %1,6 *Kluyvera*, %1,6 *Streptococcus*, %1,6 *Erwinia*) ait 61 adet bakteri tanımlandı (Şekil 35).



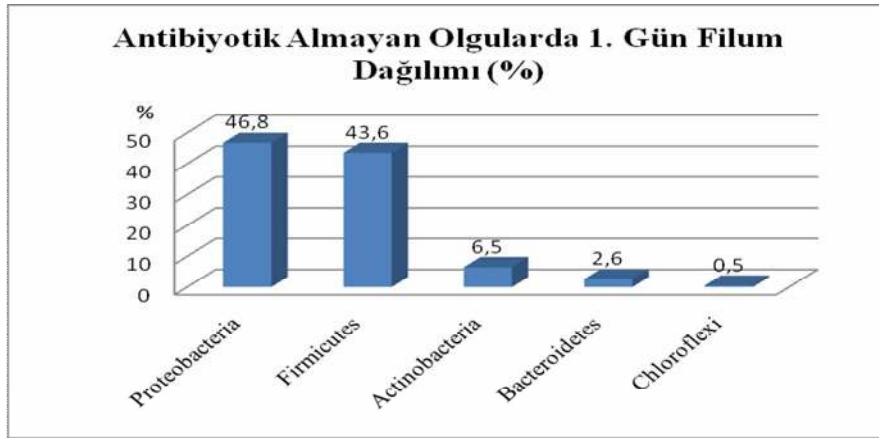
Şekil 35. Antibiyotik alan olgularda 7. gün cins dağılımı

Bu olgularda tanımlanan bakteriler *Enterococcus faecalis* (%34,4), *Enterobacter aerogenes* (%24,6), *Klebsiella pneumoniae* (%15), *Raoultella ornithinolytica* (%4,9), *Raoultella planticola* (%3,3), *Klebsiella oxytoca* (%3,3), *Citrobacter freundii* (%3,3), *Enterobacter cloacae* (%3,2), *Klebsiella variicola* (%1,6), *Kluyvera cryocrescens* (%1,6), *Raoultella terrigena* (%1,6), *Streptococcus salivarius* (%1,6), *Erwinia amylovora* (%1,6) idi (Şekil 36).



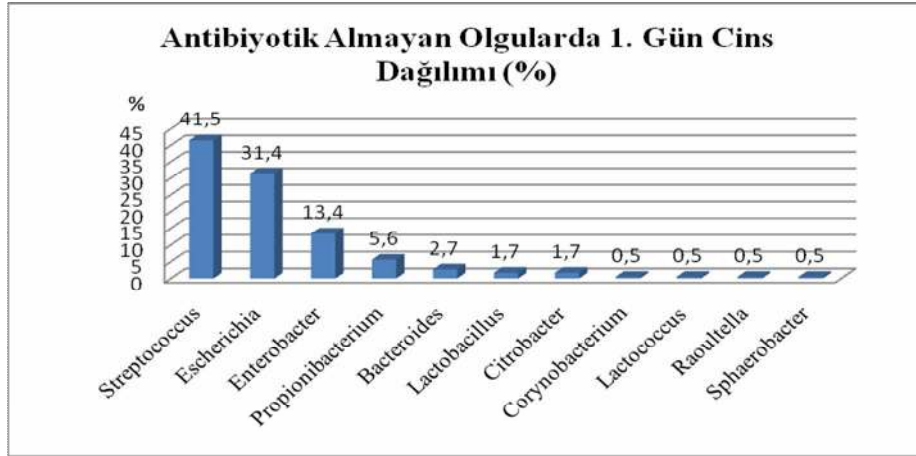
Şekil 36. Antibiyotik alan olgularda 7.gün bakteri tür dağılımı

Antibiyotik almayan 7 olgudan birinde 1.gün gayta örneğinde ampikon yoktu. Kalan 6 olgunun gayta örneğinde toplam 5 filum saptandı. En sık *Proteobacteria* (%46,8) filumu gözlemlendi. Bunu sırasıyla *Firmicutes* (%43,6), *Actinobacteria* (%6,5), *Bacteroidetes* (%2,6) ve *Chloroflexi* (%0,5) takip ediyordu (Şekil 37).



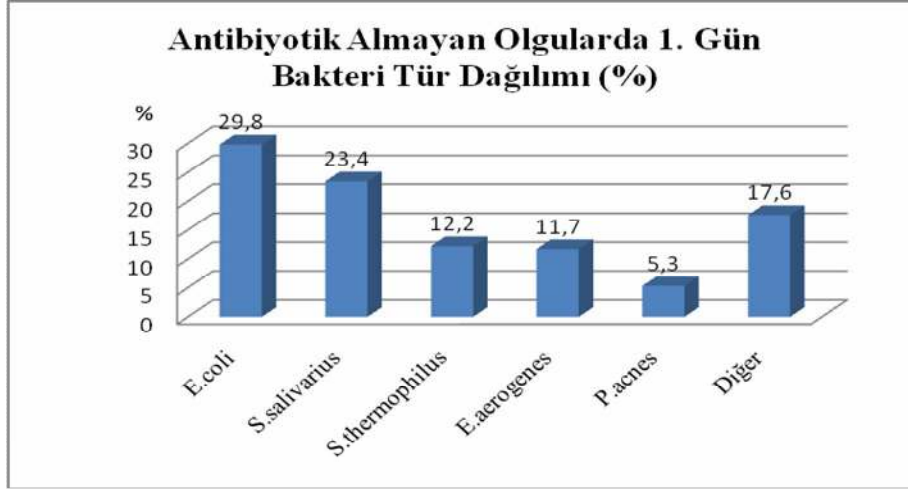
Şekil 37. Antibiyotik almayan olgularda 1.gün filum dağılımı

Bu olgularda 1.gün 11 cins tespit edildi. En sık tanımlanan cinsler *Streptococcus* (%41,5), *Escherichia* (%31,4), *Enterobacter* (%13,4), *Propionibacterium* (%5,6), *Bacteriodes* (%2,7), *Lactobacillus* (%1,7), *Citrobacter* (%1,7), *Corynobacterium* (%0,5), *Lactococcus* (%0,5), *Raoultella* (%0,5), *Sphaerobacter* (%0,5) idi (Şekil 38).



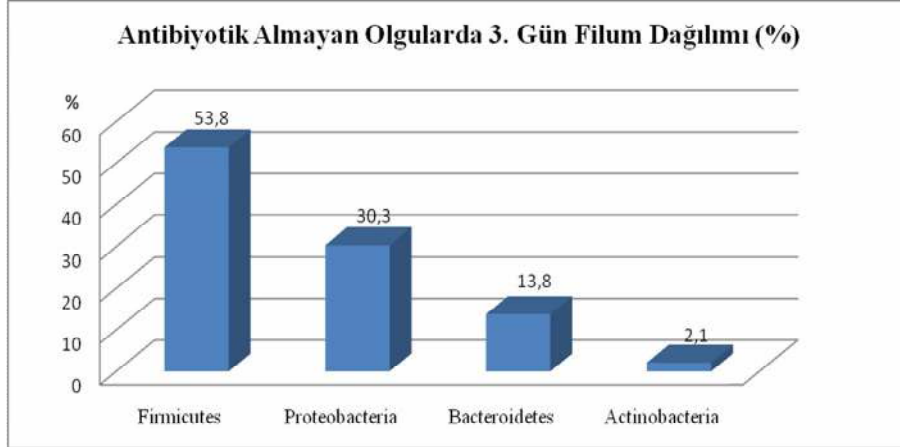
Şekil 38. Antibiyotik almayan olgularda 1.gün cins dağılımı

Bu olgularda 188 adet bakteri saptandı. Bulunan bakteri türleri sıklık sırasına göre; *Escherichia coli* (%29,8), *Streptococcus salivarius* (%23,4), *Streptococcus thermophilus* (%12,2), *Enterobacter aerogenes* (%11,7), *Propionibacterium acnes* (%5,3), *Streptococcus vestibularis* (% 4,2), *Bacteriodes vulgatus* (% 2,6), *Citrobacter freundii* (%1,6), *Escherichia fergusonii* (%1,1), *Enterobacter cloacae* (%0,54), *Enterobacter hormaechei* (%0,54), *Enterobacter ludwigii* (%0,54), *Corynebacterium accolens* (%0,54), *Escherichia hermannii* (%0,54), *Lactobacillus murinus* (%0,54), *Lactobacillus paracase* (%0,54), *Lactobacillus rhamnosus* (%0,54), *Lactococcus garvieae* (%0,54), *Propionibacterium granulosum* (%0,54), *Raoultella planticola* (%0,54), *Sphaerobacter thermophilus* (%0,54), *Streptococcus anginosus* (%0,54), *Streptococcus infantis* (%0,54), *Streptococcus sanguinis* (%0,54) idi (Şekil 39).



Şekil 39. Antibiyotik almayan olgularda 1.gün bakteri tür dağılımı

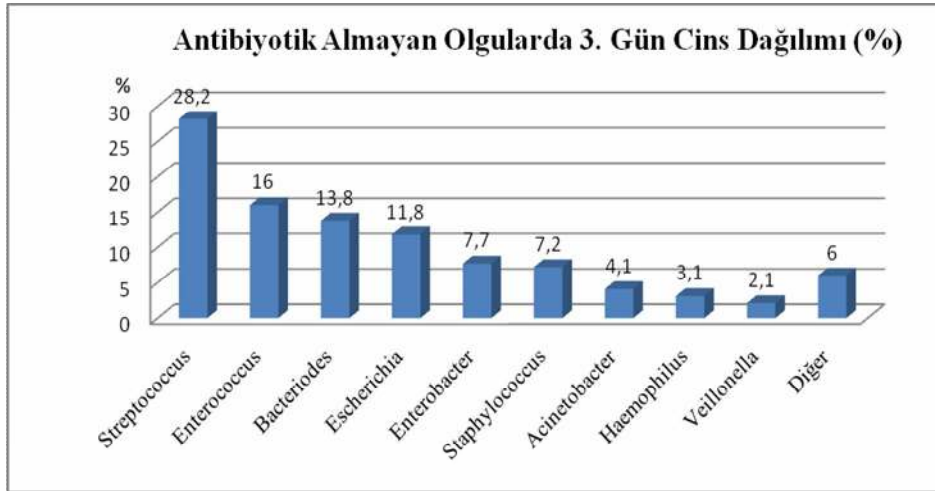
Antibiyotik almayan 7 olgudan 3.gün alınan gayta örneğinde toplam 4 filum saptandı. Tespit edilen filumlar; *Firmicutes* (%53,8), *Proteobacteria* (%30,3), *Bacteroidetes* (%13,8), *Actinobacteria* (%2,1) idi (Şekil 40).



Şekil 40. Antibiyotik almayan olgularda 3.gün filum dağılımı

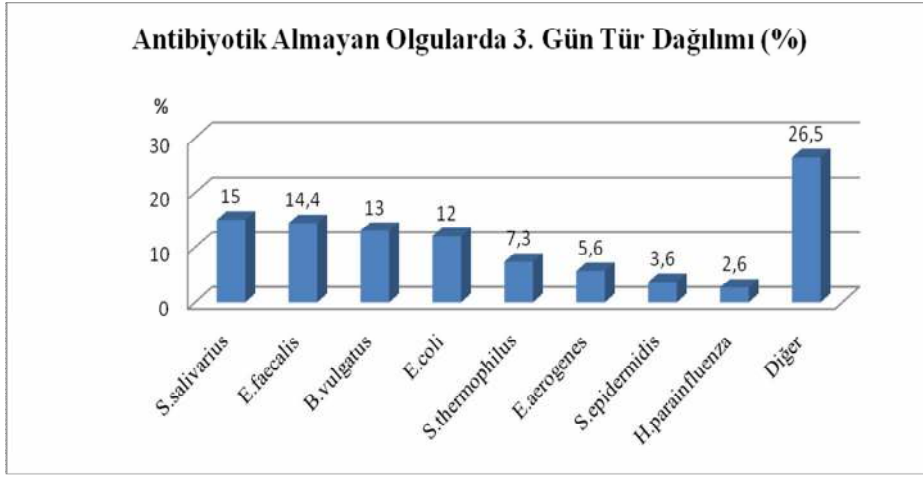
Bu olgularda 3.gün 19 cins tespit edildi. Tanımlanan cinsler sırasıyla; *Streptococcus* (%28,2), *Enterococcus* (%16), *Bacteroides* (%13,8), *Escherichia* (%11,8), *Enterobacter* (%7,7), *Staphylococcus* (%7,2), *Acinetobacter* (%4,1), *Haemophilus* (%3,1), *Veillonella* (%2,1), *Shigella* (%1), *Rothia* (%1), *Raoultella* (%0,5), *Janibacter* (%0,5),

Micrococcus (%0,5), *Paracoccus* (%0,5), *Lactobacillus* (%0,5), *Salmonella* (%0,5), *Citrobacter* (%0,5), *Averyella* (%0,5) idi (Şekil 41).



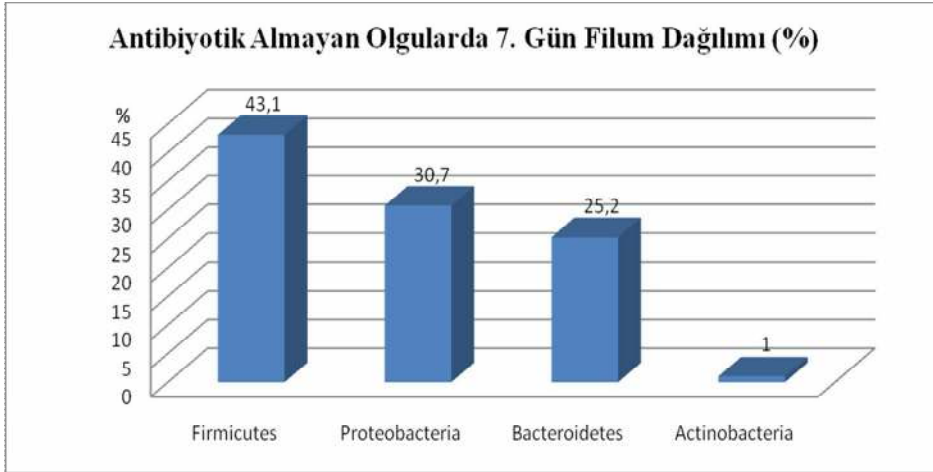
Şekil 41. Antibiyotik almayan olgularda 3.gün cins dağılımı

Olgularda saptanan 195 adet bakteri türü sıklık sırasına göre; *Streptococcus salivarius* (%15), *Enterococcus faecalis* (%14,4), *Bacteroides vulgatus* (%13), *Escherichia coli* (%12), *Streptococcus thermophilus* (%7,3), *Enterobacter aerogenes* (%5,6), *Staphylococcus epidermidis* (%3,6), *Haemophilus parainfluenzae* (%2,6), *Enterococcus durans* (%1,5), *Staphylococcus aureus* (%1,5), *Streptococcus oralis* (%1,5), *Acinetobacter guillouiae* (%1,5), *Streptococcus sanguinis* (%1,5), *Veillonella parvula* (%1,5), *Streptococcus pneumoniae* (%1), *Streptococcus mitis* (%1), *Staphylococcus hominis* (%1), *Rothia mucilaginosa* (%1), *Enterobacter cloacae* (%1), *Acinetobacter berezinae* (%1), *Acinetobacter bouvetii* (%1), *Citrobacter freundii* (%0,5), *Enterobacter hormaechei* (%0,5), *Enterobacter ludwigii* (%0,5), *Janibacter sanguinis* (%0,5), *Lactobacillus casei* (%0,5), *Micrococcus terreus* (%0,5), *Paracoccus chinensis* (%0,5), *Raoultella ornithinolytica* (%0,5), *Haemophilus influenzae* (%0,5), *Salmonella enterica* (%0,5), *Shigella flexneri* (%0,5), *Shigella sonnei* (%0,5), *Staphylococcus capitis* (%0,5), *Staphylococcus haemolyticus* (%0,5), *Streptococcus lactarius* (%0,5), *Streptococcus suis* (%0,5), *Acinetobacter johnsonii* (%0,5), *Averyella dalhousiensis* (%0,5), *Bacteroides dorei* (%0,5), *Bacteroides uniformis* (%0,5), *Veillonella dispar* (%0,5) idi (Şekil 42).



Şekil 42. Antibiyotik almayan olgularda 3.gün bakteri tür dağılımı

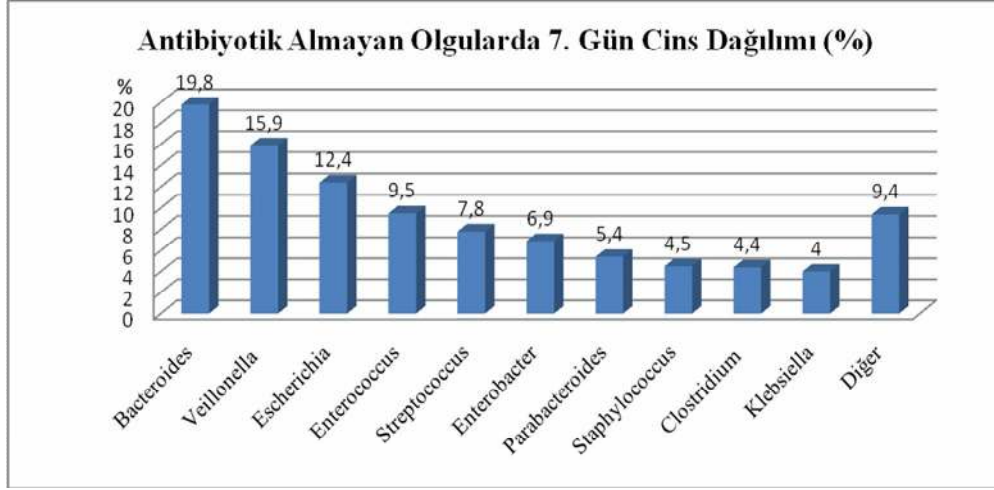
7.gün antibiyotik almayan 7 olgunun sekans analizinde 4 filum (%43,1 *Firmicutes*, %30,7 *Proteobacteria*, %25,2 *Bacteroidetes*, %1 *Actinobacteria*) saptandı (Şekil 43).



Şekil 43. Antibiyotik almayan olgularda 7.gün filum dağılımı

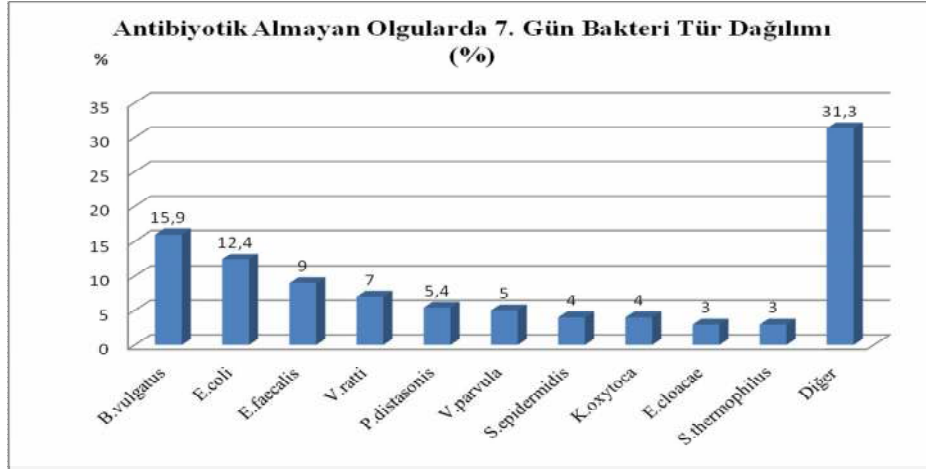
21 cinse (%19,8 *Bacteroides*, %15,9 *Veillonella*, %12,4 *Escherichia*, %9,5 *Enterococcus*, %7,8 *Streptococcus*, %6,9 *Enterobacter*, %5,4 *Parabacteroides*, %4,5 *Staphylococcus*, %4,4 *Clostridium*, %4 *Klebsiella*, %2,4 *Citrobacter*, %1,5 *Haemophilus*,

%1,5 *Raoultella*, %0,5 *Edwardsiella*, %0,5 *Blautia*, %0,5 *Corynebacterium*, %0,5 *Gemella*, %0,5 *Rothia*, %0,5 *Salmonella*, %0,5 *Shigella*, %0,5 *Serratia*) ait 202 adet bakteri tespit edildi (Şekil 44).



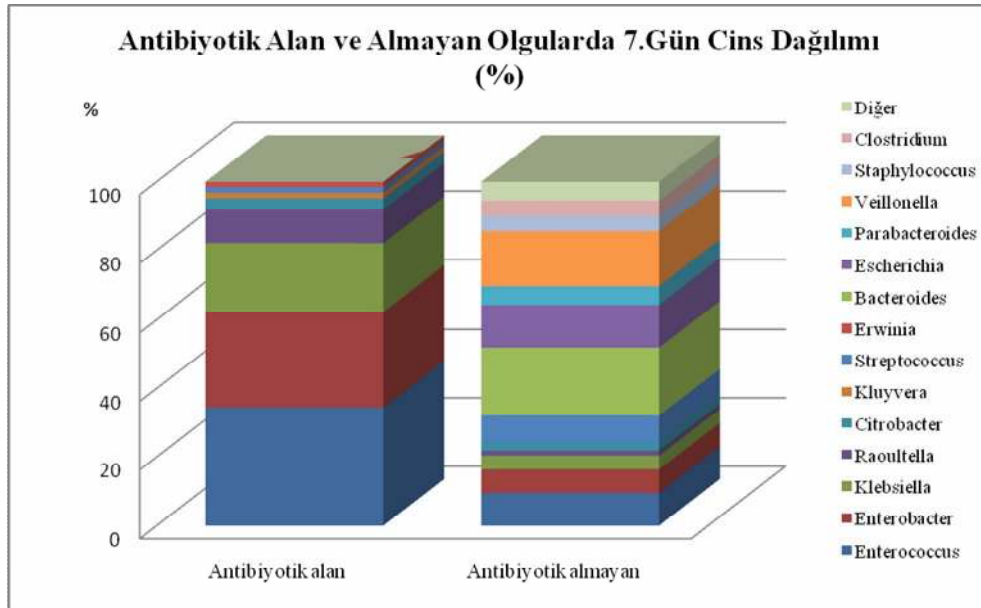
Şekil 44. Antibiyotik almayan olgularda 7.gün cins dağılımı

Bu bakterilerin sıklık sırasına göre dağılımı; *Bacteroides vulgatus* (%16), *Escherichia coli* (%12,5), *Enterococcus faecalis* (%9), *Veillonella ratti* (%7), *Parabacteroides distasonis* (%5,5), *Veillonella parvula* (%5), *Staphylococcus epidermidis* (%4), *Klebsiella oxytoca* (%4), *Enterobacter cloacae* (%3), *Streptococcus thermophilus* (%3), *Veillonella dispar* (%2,5), *Bacteroides clarus* (%2,5), *Clostridium paraputrificum* (%2,5), *Enterobacter aerogenes* (%2,5), *Citrobacter freundii* (%2), *Streptococcus parasanguinis* (%2), *Streptococcus salivarius* (%2), *Veillonella tobetsuensis* (%1,5), *Clostridium perfringens* (%1,5), *Haemophilus parainfluenzae* (%1,5), *Raoultella ornithinolytica* (%1,5), *Bacteroides ovatus* (%0,5), *Bacteroides stercorisoris* (%0,5), *Blautia luti* (%0,5), *Citrobacter diversus* (%0,5), *Clostridium tertium* (%0,5), *Corynebacterium simulans* (%0,5), *Edwardsiella tarda* (%0,5), *Enterobacter asburiae* (%0,5), *Enterobacter hormaechei* (%0,5), *Enterobacter ludwigii* (%0,5), *Enterococcus avium* (%0,5), *Gemella haemolysans* (%0,5), *Rothia mucilaginosa* (%0,5), *Salmonella enterica* (%0,5), *Serratia marcescens* (%0,5), *Shigella sonnei* (%0,5), *Staphylococcus hominis* (%0,5), *Streptococcus lactarius* (%0,5) idi (Şekil 45).



Şekil 45. Antibiyotik almayan olgularda 7.gün tür dağılımı

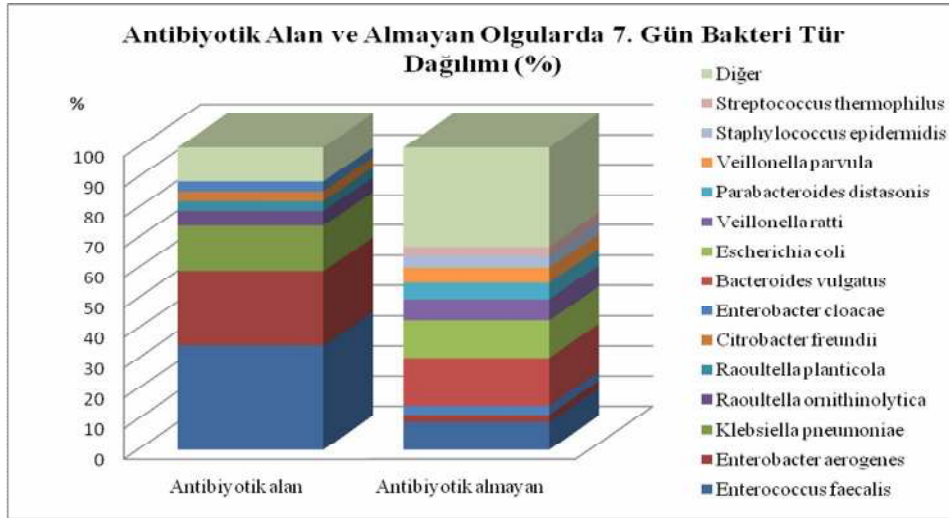
Şekil 46'da 7.gün antibiyotik alan ve almayan olguların cins dağılımı gösterilmektedir.



Şekil 46. Antibiyotik alan ve almayan olgularda 7.gün cins dağılımı

Antibiyotik almayan olgularda 7.gün en sık rastlanılan bakteriler *Bacteroides vulgatus* (%15,9), *Escherichia coli* (%12,4), *Veillonella ratti* (%) ve *Parabacteroides*

distasonis (%5,4) idi. Şekil 47’de antibiyotik alan ve almayan olguların 7.gün tür dağılımları gösterildi.

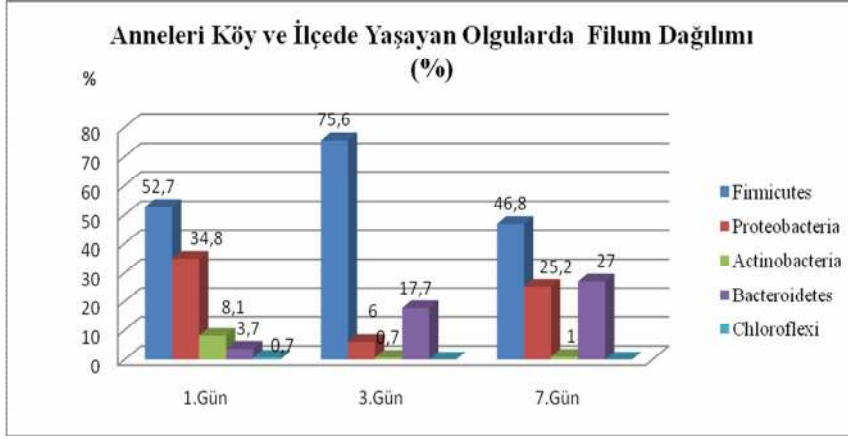


Şekil 47. Antibiyotik alan ve almayan olgularda 7.gün bakteri tür dağılımı

YERLEŞİM YERİNE GÖRE DEĞERLENDİRME

Olguların altısının annesi köy ve ilçede, dördünün ise şehirde ikamet etmekteydi.

Annesi şehir dışında ikamet eden olguların 1.gün dördünde beş (*Firmicutes* %52,7, *Proteobacteria* %34,8, *Actinobacteria* %8,1, *Bacteroidetes* %3,7, *Chloroflexi* %0,7), 3.gün 5 olguda dört (*Firmicutes* %75,6, *Bacteroidetes* %17,7, *Proteobacteria* %6, *Actinobacteria* %0,7) ve 7.gün altı olguda dört filum (*Firmicutes* %46,8, *Bacteroidetes* %27, *Proteobacteria* %25,2, *Actinobacteria* %1) tespit edildi (Şekil 48).



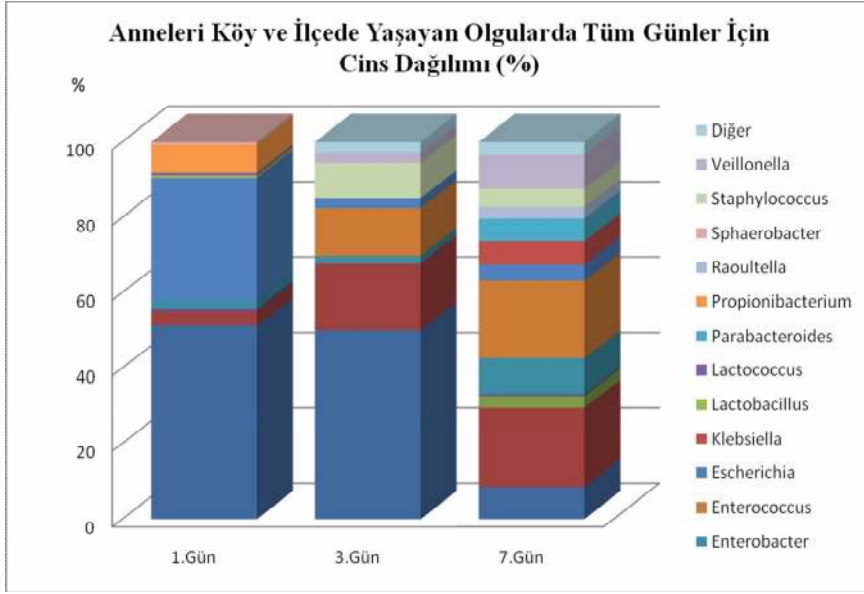
Şekil 48. Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda filum dağılımı

Anneleri şehir dışında ikamet eden olgularda 1.gün 9, 3.gün 11, ve 7.gün 18 cinse ait bakteri saptandı.

1.gün cins dağılımı sırasıyla *Streptococcus* (%51,3), *Escherichia* (%32,7), *Propionibacterium* (%7,4), *Bacteroides* (%3,7), *Enterobacter* (%2,1), *Lactobacillus* (%0,7), *Lactococcus* (%0,7), *Corynebacterium* (%0,7), *Sphaerobacter* (%0,7) idi.

3.gün cins dağılımı sırasıyla *Streptococcus* (%50,1), *Bacteroides* (%17,7), *Enterococcus* (%12,7), *Staphylococcus* (%9,4), *Veillonella* (%2,7), *Escherichia* (%2,6), *Enterobacter* (%2,0), *Janibacter* (%0,7), *Micrococcus* (%0,7), *Paracoccus* (%0,7), *Raoultella* (%0,7) idi.

7.gün cins dağılımı sırasıyla *Bacteroides* (%21,0), *Enterococcus* (%20,5), *Enterobacter* (%9,6), *Veillonella* (%8,9), *Streptococcus* (%8,5), *Klebsiella* (%6,2), *Parabacteroides* (%6,0), *Staphylococcus* (%4,8), *Escherichia* (%4,3), *Raoultella* (%3,1), *Clostridium* (%3,1), *Citrobacter* (%1,0), *Rothia* (%0,5), *Kluyvera* (%0,5), *Gemella* (%0,5), *Erwinia* (%0,5), *Blautia* (%0,5), *Corynebacterium* (%0,5) idi (Şekil 49).



Şekil 49. Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda tüm günler için cins dağılımı

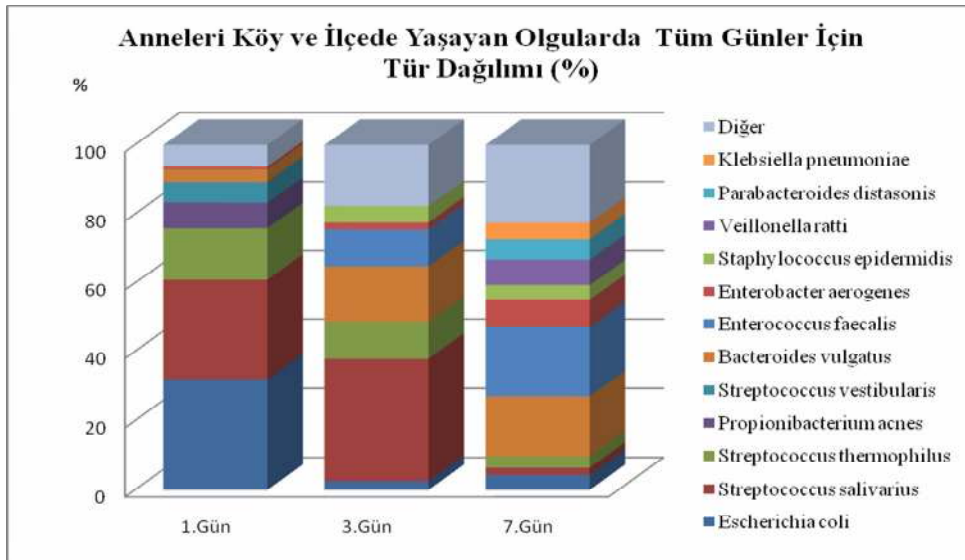
Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda tür bazında 1.gün 135, 3.gün 150 ve 7.gün 190 adet bakteri saptandı.

Tür dağılımı açısından değerlendirildiğinde 1.gün *Escherichia coli* (%32,0), *Streptococcus salivarius* (%29,0), *Streptococcus thermophilus* (%14,9), *Propionibacterium acnes* (%7,4), *Streptococcus vestibularis* (%6,0), *Bacteroides vulgatus* (%3,7), *Corynebacterium accolens* (%0,7), *Enterobacter aerogenes* (%0,7), *Enterobacter cloacae* (%0,7), *Enterobacter hormaechei* (%0,7), *Escherichia fergusonii* (%0,7), *Lactobacillus murinus* (%0,7), *Lactococcus garvieae* (%0,7), *Sphaerobacter thermophilus* (%0,7), *Streptococcus anginosus* (%0,7), *Streptococcus sanguinis* (%0,7) tespit edildi.

3.gün tür dağılımı *Streptococcus salivarius* (%35,3), *Bacteroides vulgatus* (%16,3), *Enterococcus faecalis* (%10,7), *Streptococcus thermophilus* (%10,7), *Staphylococcus epidermidis* (%4,7), *Escherichia coli* (%2,6), *Veillonella parvula* (%2,0), *Enterobacter aerogenes* (%2,0), *Enterococcus durans* (%2,0), *Staphylococcus aureus* (%2,0), *Streptococcus sanguinis* (%2,0), *Staphylococcus hominis* (%1,3), *Bacteroides dorei* (%0,7), *Bacteroides uniformis* (%0,7), *Janibacter sanguinis* (%0,7), *Micrococcus terreus* (%0,7), *Paracoccus chinensis* (%0,7), *Raoultella ornithinolytic* (%0,7), *Staphylococcus capitis*

(%0,7), *Staphylococcus haemolyticus* (%0,7), *Streptococcus lactarius* (%0,7), *Streptococcus mitis* (%0,7), *Streptococcus suis* (%0,7), *Veillonella dispar* (%0,7) şeklindeydi.

7.gün tür dağılımı sırasıyla *Enterococcus faecalis* (%20), *Bacteroides vulgatus* (%17,4), *Enterobacter aerogenes* (%8), *Veillonella ratti* (%7,4), *Parabacteroides distasonis* (%6), *Klebsiella pneumoniae* (%4,7), *Escherichia coli* (%4,3), *Staphylococcus epidermidis* (%4,3), *Streptococcus thermophilus* (%3,3), *Bacteroides clarus* (%2,6), *Clostridium paraputrificum* (%2,6), *Streptococcus parasanguinis* (%2,1), *Streptococcus salivarius* (%2,1), *Enterobacter cloacae* (%1,6), *Raoultella ornithinolytica* (%1,6), *Citrobacter freundii* (%1), *Veillonella dispar* (%1), *Klebsiella oxytoca* (%1), *Raoultella planticola* (%1), *Staphylococcus hominis* (%0,5), *Streptococcus lactarius* (%0,5), *Streptococcus mitis* (%0,5), *Veillonella parvula* (%0,5), *Raoultella terrigena* (%0,5), *Rothia mucilaginosa* (%0,5), *Klebsiella variicola* (%0,5), *Kluyvera cryocrescens* (%0,5), *Gemella haemolysans* (%0,5), *Erwinia amylovora* (%0,5), *Bacteroides ovatus* (%0,5), *Bacteroides stercorisoris* (%0,5), *Blautia luti* (%0,5), *Enterococcus avium* (%0,5), *Clostridium tertium* (%0,5), *Corynebacterium simulans* (%0,5) idi (Şekil 50).

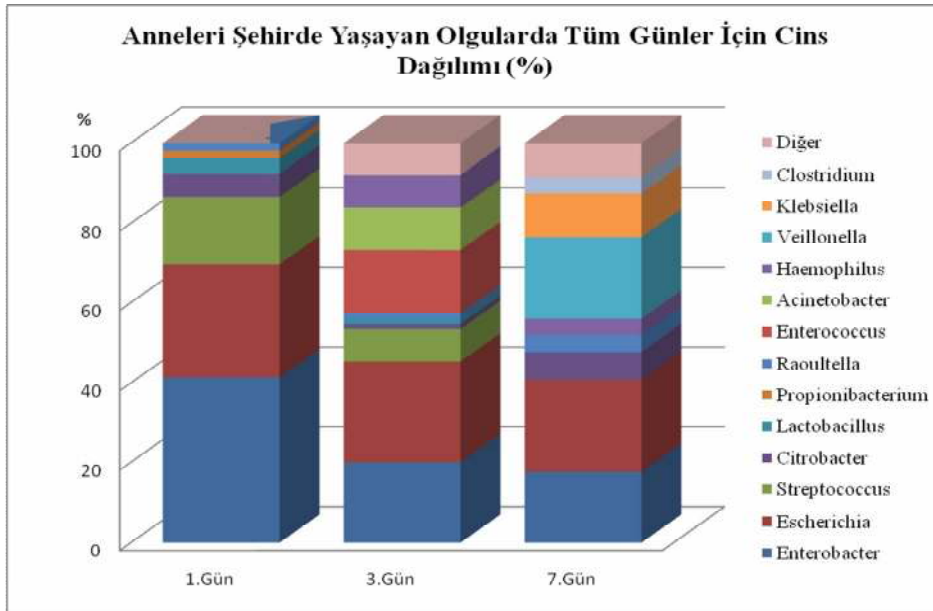


Şekil 50. Anneleri köy ve ilçede yaşayan olgularda tüm günler için tür dağılımı

Anneleri şehirde yaşayan dört olgunun (Olgu 1, 2, 3, 6) üçünde her üç günde de amplikona rastlandı. Bu olgularda füm bazında dağılıma bakıldığında 1.gün üç

(*Proteobacteria* %77,3, *Firmicutes* %20,8, *Actinobacteria* %1,9), 3.gün üç (*Proteobacteria* %72,0, *Firmicutes* %25,3, *Actinobacteria* %2,7) ve 7.gün iki (*Proteobacteria* %72,6, *Firmicutes* %27,4) filuma ait bakteriler tespit edildi.

Aynı olgularda 1.gün 7 (*Enterobacter* %41,4, *Escherichia* %28,3, *Streptococcus* %17, *Citrobacter* %5,7, *Lactobacillus* %3,8, *Propionibacterium* %1,9, *Raoultella* %1,9), 3.gün 13 (*Escherichia* %25,4, *Enterobacter* %20,0, *Enterococcus* %16, *Acinetobacter* %10,7, *Haemophilus* %8,1, *Streptococcus* %8, *Rothia* %2,7, *Shigella* %2,6, *Salmonella* %1,3, *Lactobacillus* %1,3, *Raoultella* %1,3, *Averyella* %1,3, *Citrobacter* %1,3) ve 7.gün 14 (*Escherichia* %23,3, *Veillonella* %20,5, *Enterobacter* %17,6, *Klebsiella* %11, *Citrobacter* %6,9, *Haemophilus* %4,1, *Raoultella* %4,1, *Clostridium* %4,1, *Edwardsiella* %1,4, *Enterococcus* %1,4, *Salmonella* %1,4, *Serratia* %1,4, *Shigella* %1,4, *Streptococcus* %1,4) cinse ait bakteriler saptandı (Şekil 51).



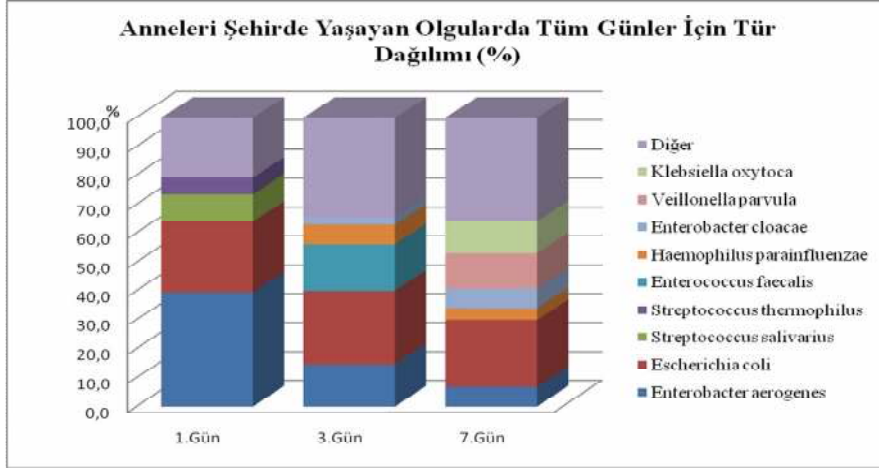
Şekil 51. Anneleri şehirde yaşayan olgularda tüm günler için cins dağılımı

Şehirde yaşayan olgularda 1.gün 53, 3.gün 75 ve 7.gün 73 adet bakteri tespit edildi.

Bu olgularda 1.gün tespit edilen bakteri türleri sırasıyla *Enterobacter aerogenes* (%39,5), *Escherichia coli* (%24,5), *Streptococcus salivarius* (%9,4), *Streptococcus thermophilus* (%5,7), *Citrobacter freundii* (%5,7), *Enterobacter ludwigii* (%1,9), *Escherichia fergusonii* (%1,9), *Escherichia hermannii* (%1,9), *Lactobacillus paracasei* (%1,9), *Lactobacillus rhamnosus* (%1,9), *Propionibacterium granulosum* (%1,9), *Raoultella planticola* (%1,9), *Streptococcus infantis* (%1,9) idi.

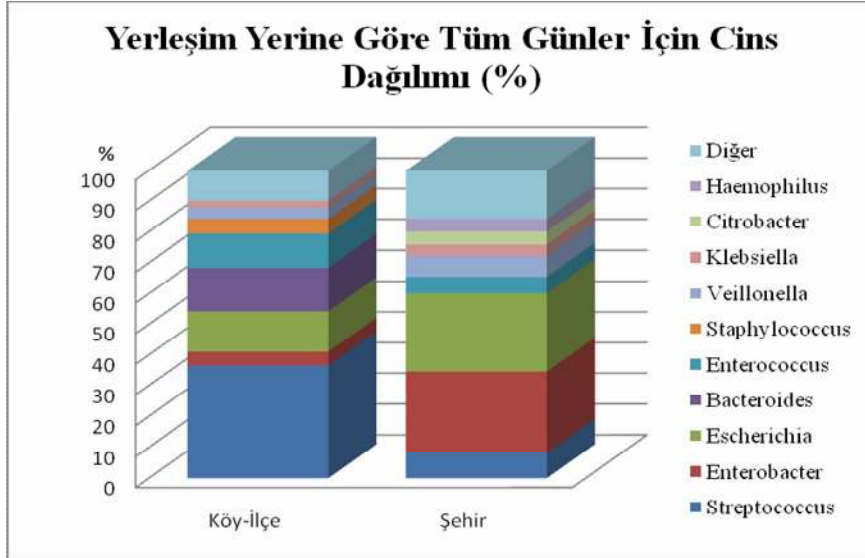
3.gün saptanan bakteriler sırasıyla *Escherichia coli* (%25,4), *Enterococcus faecalis* (%16), *Enterobacter aerogenes* (%14,7), *Haemophilus parainfluenzae* (%6,8), *Streptococcus oralis* (%4), *Acinetobacter guillouiae* (%4), *Acinetobacter berezinae* (%2,7), *Acinetobacter bouvetii* (%2,7), *Enterobacter cloacae* (%2,7), *Rothia mucilaginosa* (%2,7), *Streptococcus pneumoniae* (%2,7), *Acinetobacter johnsonii* (%1,3), *Averyella dalhousiensis* (%1,3), *Citrobacter freundii* (%1,3), *Enterobacter hormaechei* (%1,3), *Enterobacter ludwigii* (%1,3), *Haemophilus influenzae* (%1,3), *Lactobacillus casei* (%1,3), *Raoultella ornithinolytica* (%1,3), *Salmonella enterica* (%1,3), *Shigella flexneri* (%1,3), *Shigella sonnei* (%1,3), *Streptococcus mitis* (%1,3) idi.

7.gün tespit edilen bakteri türleri sırasıyla *Escherichia coli* (%23,3), *Veillonella parvula* (%12,3), *Klebsiella oxytoca* (%11), *Enterobacter aerogenes* (%6,7), *Enterobacter cloacae* (%6,7), *Citrobacter freundii* (%5,5), *Clostridium perfringens* (%4,1), *Haemophilus parainfluenzae* (%4,1), *Raoultella ornithinolytica* (%4,1), *Veillonella dispar* (%4,1), *Veillonella tobetsuensis* (%4,1), *Edwardsiella tarda* (%1,4), *Enterobacter asburiae* (%1,4), *Enterobacter hormaechei* (%1,4), *Enterobacter ludwigii* (%1,4), *Enterococcus faecalis* (%1,4), *Salmonella enterica* (%1,4), *Serratia marcescens* (%1,4), *Shigella sonnei* (%1,4), *Streptococcus salivarius* (%1,4), *Citrobacter diversus* (%1,4) idi (Şekil 52).



Şekil 52. Anneleri şehirde yaşayan olgularda tüm günler için tür dağılımı

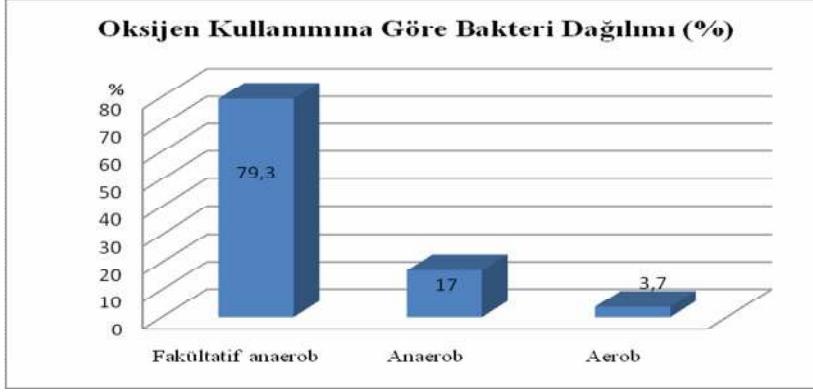
Annelerinin yerleşim yerine göre olguları tüm günler için değerlendirdiğimizde, anneleri köy ve ilçede yaşayan olguların intestinal floralarında en sık tespit edilen cinsler *Streptococcus* (%36,6), *Bacteroides* (%14,1), *Escherichia* (%13,2) ve *Enterococcus* (%1,1) idi. Anneleri şehirde yaşayan olgularda en sık *Enterobacter* (%26,3) ve *Escherichia* (%25,6) saptandı (Şekil 53).



Şekil 53. Yerleşim yerine göre tüm günler için cins dağılımı

BAKTERİLERİN OKSİJEN KULLANIMINA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

Tanımlanan tüm bakteriler oksijen kullanımlarına göre değerlendirildiğinde 536'sı (%79,3) fakültatif anaerob, 115'i (%17) anaerob ve 25'i (%3,7) aerob olarak tespit edildi (Şekil 54).



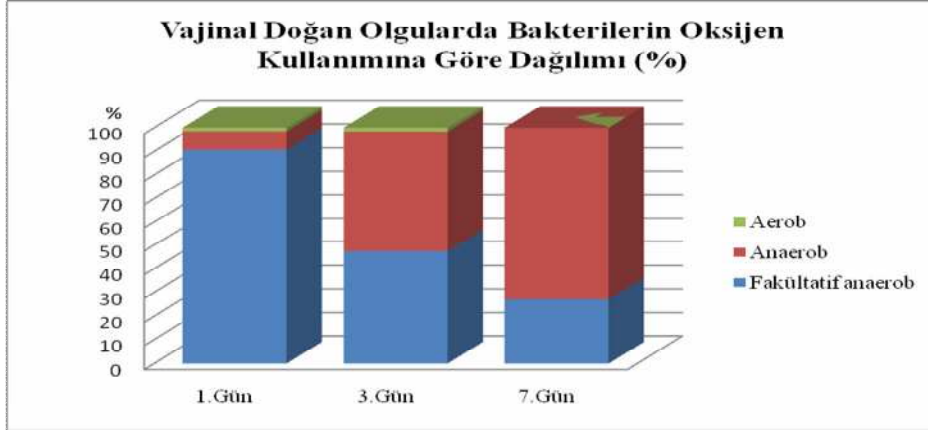
Şekil 54. Bakterilerin oksijen kullanımlarına göre dağılımı

Fakültatif anaerob bakteriler çoğunlukta olsa da 3 ve 7.günlerdeki yüzdelere belirgin düşüş, buna karşın anaerob bakteri yüzdesinde kademeli bir artış saptandı (Şekil 55).



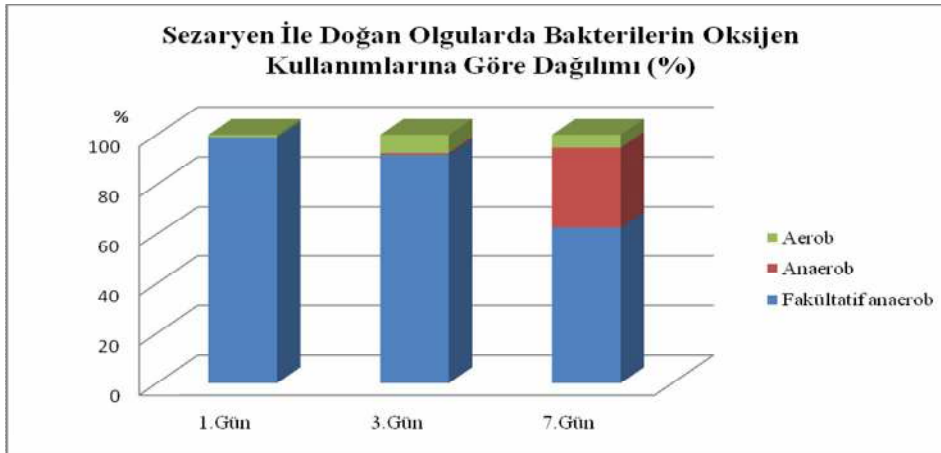
Şekil 55. Tüm günler için bakterilerin oksijen kullanımlarının dağılımı

Vajinal yol ile doğan olgularda ilk gün belirlenen bakterilerin büyük çoğunluğu fakültatif anaerob iken, 3 ve 7.günlerdeki *Bacteroides* hakimiyeti ile birlikte anaerob oranları arttı (Şekil 56).



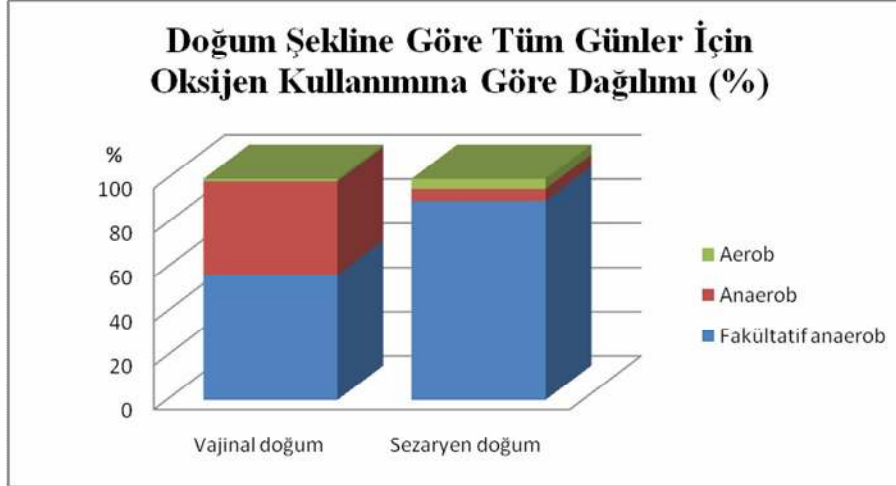
Şekil 56. Vajinal doğan olgularda bakterilerin oksijen kullanımlarına göre dağılımı

Sezaryen ile doğan olgularda zamanla azalmakla birlikte her üç günde de fakültatif anaerob bakteri hakimiyeti mevcuttu. Yedinci gün %32,1 anaerob bakteri saptandı (Şekil 57).



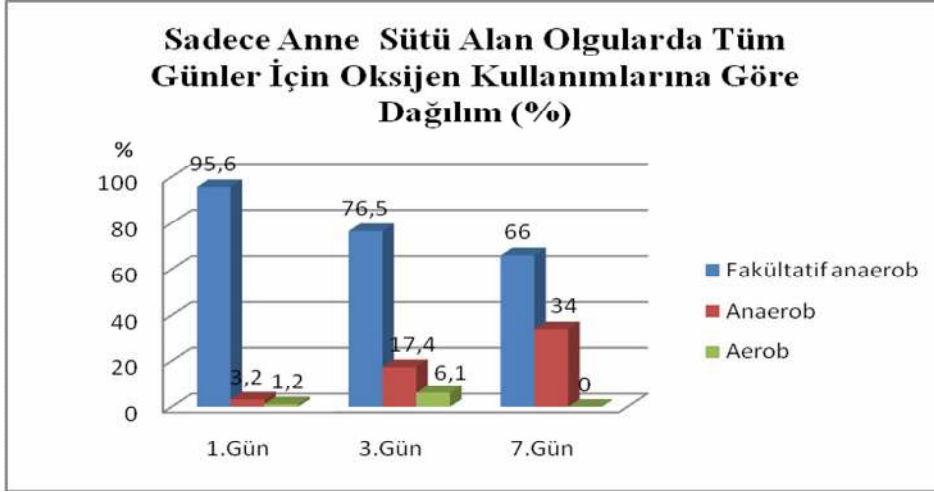
Şekil 57. Sezaryen ile doğan olgularda bakterilerin oksijen kullanımlarına göre dağılımı

Bakterilerin oksijen kullanımını doğum şekline göre tüm günler için değerlendirdiğimizde vajinal yol ile doğan olgularda fakültatif anaerob bakteri oranı %56,7, anaerob bakteri oranı %42,2 ve aerob bakteri oranı %1,1 saptandı. Sezaryen ile doğan olgularda fakültatif anaerob oranı %90,1, anaerob bakteri oranı %5,4 ve aerob bakteri oranı %4,5 idi (Şekil 58).



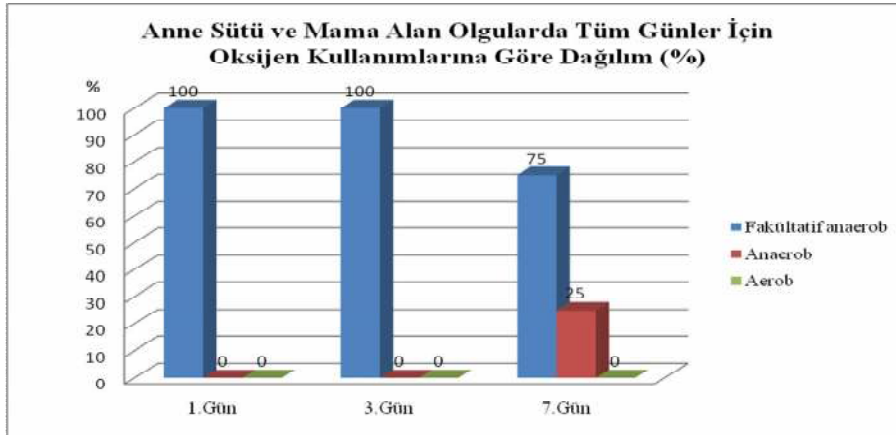
Şekil 58. Doğum şekline göre tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Beslenme şekliyle bakterilerin oksijen kullanımı ilişkisini değerlendirdiğimizde sadece anne sütü ile beslenen olgularda 1.gün % 95,6 fakültatif anaerob, % 3,2 anaerob ve % 1,2 aerob bakteri saptandı. 3.günde bu oran % 76,5 fakültatif anaerob, % 17,4 anaerob, % 6,1 aerob şeklinde değişti. 7.gün örneklerinde %66 fakültatif anaerob, %34 anaerob idi (Şekil 59).



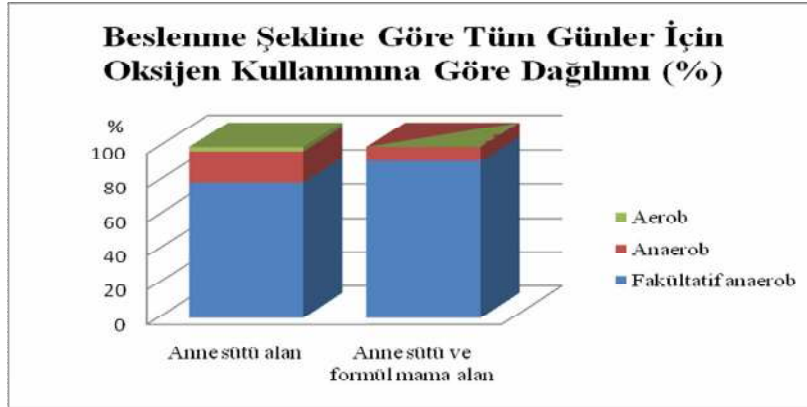
Şekil 59. Sadece anne sütü alan olgularda tüm günler için oksijen kullanımlarına göre dağılım

Anne sütü ve formül mama ile beslenen Olgu 5’de 1 ve 3.günde tespit edilen tüm bakteriler fakültatif anaerobdu. 7.günde ise Olgu 5 ve 7’nin sekans analizi sonucunda fakültatif anaerob bakterilere ilaveten anaerob bakteriler de tespit edildi (Şekil 60).



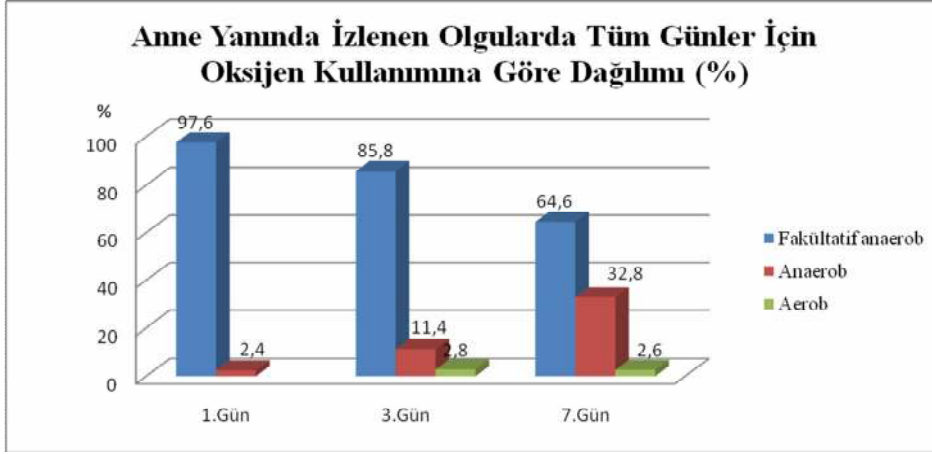
Şekil 60. Anne sütü ve formül mama alan olgularda tüm günler için oksijen kullanımının dağılımı

Beslenme şeklinin tüm günlerde bakteri oksijen kullanımına etkisi değerlendirildiğinde anne sütü alan olgularda tanımlanan bakterilerin %79,1'i fakültatif anaerob, %18,2'si anaerob, %2,7'si aerob idi. Anne sütü ve formül mama alan olgularda fakültatif anaerob bakteriler %91,6, anaerob bakteriler %8,4 oranında tespit edildi (Şekil61).



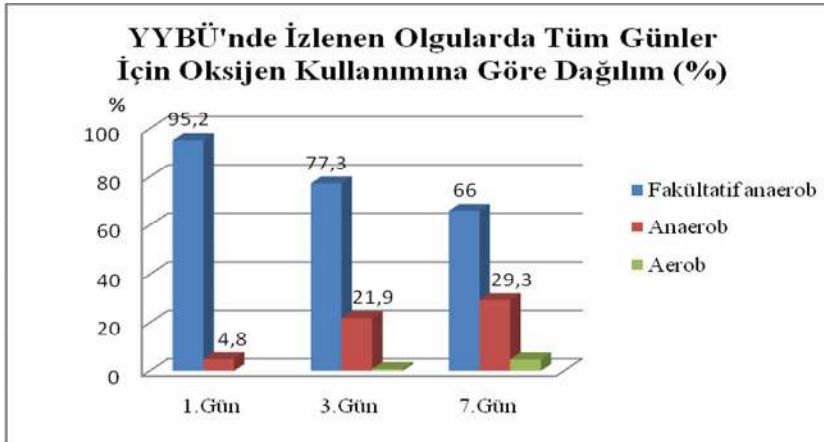
Şekil 61. Beslenme şekline göre tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Anne yanında izlenen olgularda saptanan bakterileri oksijen kullanımına göre değerlendirdiğimizde 1.gün en sık karşımıza çıkan bakteri türleri %97,6 ile fakültatif anaeroblardı. Kalan %2,4'lük dilimde ise aerob bakteriler yer alıyordu. Örneklerde ilk gün anaerob bakteriye rastlanmadı. 3.günde %85,8 ile fakültatif anaeroblar yine ilk sıradaydı. Anaerob bakteri oranı %11,4 ve aerob bakteri oranı % 2,8 idi. 7.günde de anne yanında izlenen olgularda en sık fakültatif anaeroblar (%64,6) görülüyordu. Anaerob bakterilerdeki artış bu grupta da belirgindi ve bir miktar aerob bakteri halen izlenmekteydi (Şekil 62).



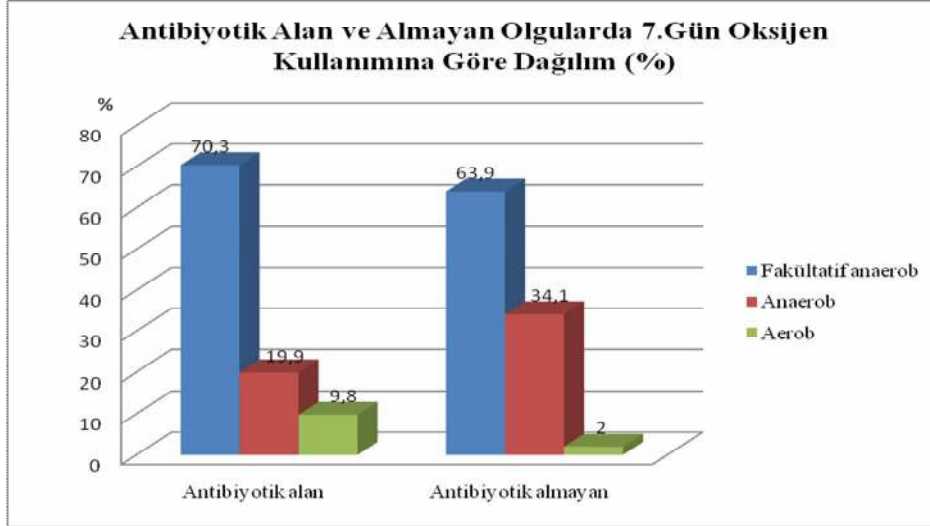
Şekil 62. Anne yanında izlenen olgularda tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılımı

YYBÜ'nde izlenen olgulardan alınan örneklerde 1.gün tanımlanan bakteriler büyük oranda fakültatif anaerob (%95,2), az bir kısmı (%4,8) anaerob'du. 3.günde fakültatif anaeroblar %77,3, anaeroblar %21,9, aerob bakteriler %0,8 oranında tespit edildi. 7.gün tanımlanan bakterilerin çoğu önceki günlerde olduğu gibi fakültatif anaerob (%60) idi. Anaerob %29,3 ve aerob bakteriler %4,7 oranında saptandı (Şekil 63).



Şekil 63. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda tüm günler için oksijen kullanımına göre dağılım

Antibiyotik alan ve olguların sekans analizi sonucu sadece 7.gün tamamında sekans analizi ile bakteri saptandı. Tespit edilen bakterileri oksijen kullanımlarına göre değerlendirdiğimizde antibiyotik alan olgularda %70,3 fakültatif anaerob, %19,9 anaerob, %9,8 aerob bakterilere rastlandı. Antibiyotik almayan olgularda ise bu oran sırasıyla %63,9, %34,1 ve %2 idi (Şekil 64).



Şekil 64. Antibiyotik alan ve almayan olgularda 7. gün oksijen kullanımına göre dağılım

TARTIŞMA

Bağırsak florasının öneminin anlaşılmasıyla birlikte florayı oluşturan mikroorganizmalar, bu mikroorganizmaların özellikleri, birbirleri ve konak ile olan etkileşimleri, konağın bu etkileşim sonrasında edindiği kazanım veya zararlar uzun yıllar boyunca araştırmacıları cezbeden konular olmuştur (23,59).

Yenidoğanlarda hem bağışıklık sistemi gelişmemiştir hem de inflamatuvar yanıtlar geç ve yetersiz oluşur. Mikroorganizmalara erken dönemde maruziyet bağışıklık sisteminin olgunlaşmasında öncü rol oynar (23).

Doğum süreciyle birlikte çeşitli endojen ve egzogen kaynaklardan alınan mikroorganizmalar intestinal florayı oluşturmaya başlar. Bu mikroorganizmaların dengeli çoğalması ve çeşitlenmesi de konakta doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminin dengeli gelişimini sağlar. Dengeli mikroflora oluşumu uygun hücrel uyaranları sağlarken, bireyin enfeksiyonlardan, atopi gelişiminden, diyabetes mellitus, kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve obeziteden korunmasını da destekler (33,123).

Önceleri konvansiyonel kültürel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar ile intestinal mikrobiotanın ne kadar karmaşık bir yapı olduğu gözler önüne serilse de, gelişen moleküler genetik teknikler ile birlikte eski çalışmaların bu ekosistemi ancak “kuş bakışı” değerlendirdiği söylenebilir (59,124), zira intestinal floranın %60-80’ni kültürü yapılamayan bakteriler oluşturmaktadır (125).

Günümüzün moleküler genetik çalışmalarında sıklıkla FISH, 16S rRNA, DGGE, TGGE, Q PCR gibi analiz metodları kullanılmıştır (13). 16S rRNA dışında belirtilen metodlarda maliyetin düşük olması nedeniyle olgu sayıları fazla olsa da, ayrıntılı taksonomik sınıflama yapılamaması ve çoğu zaman tanımlayıcı özgün kültür yöntemlerine ihtiyaç duyması bakımından tercih edilmemiştir (19,20). 16S rRNA amplifikasyon ve klonlama sonrası sekans analizi kullanılan çalışmalarda ise yüksek maliyet nedeniyle ya olgu sayıları düşük tutulmuş veya spesifik primerler kullanılarak araştırılan bakteri türlerinde kısıtlamaya gidilmiştir (13,19).

Bu çalışmada amacımız; hasta ve sağlıklı term yenidoğanların gayta ve anne sütü bakteri dağılımının moleküler yöntemler ile tespit edilmesi, anne sütü ve çevresel etkenlerle yenidoğan bağırsak florasında ilk haftada oluşan kolonizasyon değişikliklerinin belirlenmesidir. Bu nedenle çalışmamızda 10 bebekten doğumu takip eden 1, 3 ve 7.günlerde

Açıklama [gg160]:

Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nauta1, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Fanaro C. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr. Suppl. 441:48-55. 2003 .

Açıklama [gg161]:

Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nauta1, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Açıklama [gg162]:

Vael C. The importance of the Development of the intestinal microbiota in infancy. Curr opin pediatr 21: 794-800. 2009
Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease Gastroenterology 2009; 136: 65-80

Açıklama [gg163]:

Fanaro., Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr Suppl 441: 48-55. 2003

Hur I.A Method for Comparing Multiple Bacterial Community Structures from 16S rDNA Clone Library Sequences The Journal of Microbiology, March 2004, p.9-13

Açıklama [gg164]:

Rondon M.R. The Earth's bounty: assessing and accessing soil microbial diversity. Trends in Biotechnology, Volume 17, Issue 10, 1 October 1999, Pages 403-409

Açıklama [gg165]:

O'Sullivan D. J. Methods for Analysis of the Intestinal Microflora. Curr. Issues Intest. Microbiol. (2000) 1(2): 39-50.

Açıklama [gg166]:

Babalola O.O. Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. African Journal of Biotechnology Vo l. 2 (12), pp. 710-713, December 2003

Wintzingerode F. Gobel U. ... [52]

Açıklama [gg167]:

O'Sullivan D. J. Methods for Analysis of the Intestinal Microflora. Curr. Issues Intest. Microbiol. (2000) 1(2): 39-50.

Babalola O.O. Molecular techniques: An overview ... [53]

gayta, annelerinden de 7.günde süt örnekleri alınmış, bakteri DNA ekstraksiyonu sonrasında 16S rRNA amplifikasyonu ve sekanslama işlemi yapılarak sekans analizine göre mikroorganizma tiplendirilmesine gidilmiştir. Olgu sayısının başka çalışmalara kıyasla fazlalığı, ilk hafta kolonizasyonuna odaklanması, spesifik primerler kullanılmadığından geniş oranda bakteri tanımlamasına imkan vermesi, bakterilerin taksonomik sınıflamasının olguların sosyodemografik özellikleriyle birlikte değerlendirilmesi bu çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır.

Anne sütü içeriğinin erken kolonizasyona ve intestinal kolonizasyonun da bireyin ileriki yaşamına etkisi birçok şekilde araştırma konusu olmuştur. Yenidoğanın beslenme içeriği, bağırsak mikroflora aktivasyonu ve kompozisyonunu etkilemektedir.

Kültürel yöntemler ile çalışılan anne sütünde, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacter* ve laktik asit bakterileri saptanmış, anne sütünün infant bağırsağı için sürekli bakteri kaynağı olduğu gösterilmiştir (22,48,116,119,120,126). 800 ml anne sütü alan bir infantın ortalama 10^5 - 10^7 kommensal bakteri aldığı tahmin edilmektedir (48,116). Anne sütünün ml'de <3 log cfu canlı bakteri ve geniş oranda özellikle bifidobakteriyel DNA'ı içeren serbest bakteriyel DNA parçacıkları içerdiği ve bu parçacıkların yenidoğan immün sisteminin programlanmasında rol alabileceği iddia edilmiştir (117,120).

Moleküler yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda ise ya sütte daha önce de varlığı bilinen bakteriler araştırılmış (22), ya da araştırılan bakterilerin sayıları sınırlı tutulmuştur (126). Collado ve ark. (126) yaptığı, 50 sağlıklı ve term doğum yapmış anneden alınan süt örneğinin bakteriye özgün primerler kullanılarak qPCR metoduyla değerlendirildiği çalışmada, en sık *Streptococcus* cinsi saptanmış, bunu sırasıyla *Staphylococcus*, *Bifidobacter*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Bacteroides* cinsleri izlemiştir. Gueimonde ve ark. (22) qPCR kullanarak sadece *Bifidobacter* cinsine yönelik yaptığı başka bir çalışmada 1 aylık bebeği olan 20 kadından alınan süt örneklerinin tümünde *Bifidobacterium* cinsine rastlanmış, en sık *Bifidobacterium longum* izole edilmiş, bunu sırasıyla *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium catenulatum* izlemiştir. Martin ve ark. (127) ikisi sezaryen, ikisi normal vajinal doğum yapan dört annenin süt örneğinde DGGE ve sekans analizi sonucunda en çok laktik asit bakterilerini saptamışlardır. Bu bakteriler sezaryen ile doğum yapan annelerin sütlerinden daha fazla izole edilmiştir. Başka bir çalışmada kültür ve PCR kullanılarak anne sütünde *L. gasseri* ve *E. faecium* türü probiyotikler tespit edilmiştir. Anne sütünün probiyotik kaynağı olması itibariyle yenidoğanı enfeksiyon hastalıklarından

Açıklama [gg168]:
Collado, M.C., Delgado, S., Maldonado, A. and Rodriguez, J.M., 2009. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. Letters in Applied Microbiology 48: 523-528.

Gueimonde, M., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2007. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? Neonatology 92: 64-66.

Heikkilä, M.P. and Saris, P.E., 2003. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Açıklama [gg169]:
Heikkilä, M.P. and Saris, P.E., 2003. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478
Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Açıklama [gg170]:
Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Olivares, M., Boza, J., Jimenez, J., Fernandez, L., Xaus, J. and Rodriguez, J., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Açıklama [gg171]:
Gueimonde, M., Breastmilk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? Neonatology 92, 64-66

Açıklama [gg172]:
Collado M.C. assessment of the bacterial diversity of breastmilk of healthy women by quantitative real time PCR. Letters in applied Microbiology, ISSN 0266-8254

Açıklama [gg173]:
Collado M.C. Assessment of the bacterial diversity of breastmilk of healthy women by quantitative real time PCR. Letters in applied Microbiology, ISSN 0266-8254

Açıklama [gg174]:
Gueimonde, M., Breastmilk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? Neonatology 92, 64-66

koruması açısından bir kez daha önemi vurgulanmıştır (116). Yakın zamanda yapılan başka bir moleküler çalışmada sağlıklı anne sütlerinden değişik oranlarda *Staphylococcus* (en sık *S. epidermidis*, *S. hominis*), *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. gasseri*, *L. gastricus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. salivarius*, *L. vaginalis*) ve *Bifidobacter* (*B. breve*, *B. longum*) tespit edilmiştir (128).

Bizim çalışmamızda anne sütleri kolostrumu yansıtmaması ve bakteriyolojik açıdan daha matür olması amacıyla yedinci günde alındı. Anne sütlerinin hiçbirinden amplikon elde edilemedi. Sütlerden DNA ekstraksiyonu için iki ayrı yöntem kullanılmasına rağmen sonucun değişmediği görüldü. Mevcut durum bizi öncelikle sütlerde bakteri olmaması ihtimaline yönlendirdiğinden anne sütlerinden nonspesifik besiyerlerine direkt kültür ekimi yapıldı. Oluşan az miktarda koloniden (5-15 cfu/ml) izole edilen bakteriler *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinsine aitti. Dolayısıyla çalışmamızda anne sütünden 16S rRNA amplifikasyonunun olmamasının nedeni; ilk haftada sütte bakteri yoğunluğunun az olması veya DNA ekstraksiyon yöntemlerinin yetersizliği olarak yorumlandı.

Anne sütlerinden bakteri izolasyonunun yetersizliği günümüz araştırmacılarını anne sütü florasını yansıttığı düşünülen infant bağırsak mikroflorasını eş zamanlı incelemeye yönlendirmiştir (48,129). Kültür temelli çalışmalarda birçok farklı sonuç elde edilmiştir. Anne sütü alan bebeklerde 1. haftada en çok *Enterobacteria* ve *Enterococcus* izole edilmiş, *Bifidobacteria* cinsi bakterilerin yaşamın ilk gününden itibaren intestinal florada arttığı saptanmıştır (130,131). Orrhage ve ark. (51) anne sütü alan term yenidoğanlarda *Bifidobacter* florasını en erken 4.günde saptamıştır. Balmer ve ark. (132) ise yenidoğanlarda beslenme şekliinden bağımsız olarak ilk haftada belirgin bir bakteri predominansı izlenmediğini bildirmiştir (132). Yenidoğan döneminde ilk hafta izlenen heterojen mikrobiota Chierici ve ark. (133) tarafından da doğrulanmıştır. Anne sütüyle beslenen olgularda birinci haftanın sonunda intestinal florada *Bifidobacter*'den zengin bir flora oluştuğu bildirilmiştir (59). Yoshioka ve ark. (134), anne sütü alan infantlarda, intestinal florada *Bifidobacter* hakimiyetini altıncı günde saptamışlar ve altıncı günde *Bifidobacter* sayısının *Enterobacter* sayısına oranını 1000:1 bulmuşlardır. Birinci haftadaki bakteriyel heterojenite ve *Bifidobacter* hakimiyeti başka çalışmalar ile desteklenmiştir. Tür bazında ise özellikle *Bifidobacterium breve*'nin anne sütü alan olgularda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (89,136,136). *Bifidobacter* hakimiyeti birinci ayın sonunda halen devam ederken, diğer organizmaların baskılandığı rapor edilmiştir (87,133,135).

Açıklama [gg175]:
Martin R., human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. J Pediatr, 2003; 143: 754-8

Açıklama [gg176]:
Martin V., Sharing of Bacterial Strains Between Breast Milk and Infant Feces. J Hum Lact 2012 28: 36

Açıklama [gg177]:
M.P.Heikkilä, P.E.J.Saris, Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. J. Appl. Microbiol. 95(2003) 471-478.

Jiménez E., *Staphylococcus epidermidis*: A differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants, BMC Microbiol. 2008;8: 143

Açıklama [gg178]:
Lundquist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. Acta Paediatr Scand 1985; 74: 45-51
Kleessen B, Bunke H, Tovar K, Noack J, Sawatzki G. Infl. ... [57]

Açıklama [gg179]:
Orrhage K. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. Acta paedtr Suppl 430:47-57. 1999

Açıklama [gg180]:
Balmer SE. Diet and faecal flora in the newborn: breast milk and infant formula. Arch Dis Child 1989;64:1672-7

Açıklama [gg181]:
Chierici R. Experimental milk formulae with reduced protein content and desialylated milk proteins: influence on the ... [58]

Açıklama [gg182]:
Fanaro S. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr suppl 441:48-55. 2003

Açıklama [gg183]:
Yoshioka H, Fujita K, Sakata H, Muroto K, Isaaki K. Development of the normal intestine ... [59]

Açıklama [gg184]:
Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants ... [60]

Açıklama [gg185]:
Mitsuoka T, Kaneuchi C. Ecology of the bifidobacteria. Am J Clin Nutr 1977; 30: 1799-810. Mitsuoka T. Recent trend ... [61]

Erken dönemlerde *Bacteroides* sayıları çalışmadan çalışmaya değişse de genellikle *Bifidobacter*'den az saptanmıştır (130). Bazı çalışmalarda *Clostridia* ile kolonizasyon da tespit edilmiştir (130,131). Başka çalışmalarda ise *Clostridium difficile* insidansı anne sütü alanlarda %6-20 arasında tespit edilmiş, büyük çocuk ve erişkinler için insidansı daha düşük olan bu bakteri türünün, sağlıklı yenidoğanlardaki varlığının tehlike oluşturmadığı öne sürülmüştür (50,73,86,91).

Genel olarak kültürel çalışmalarda *Staphylococcus* türleri anne sütü alan grupta daha sık bulunmakla birlikte (137), zaman içinde azalma eğilimi göstermektedir (130,138). Bazı araştırmacılar tarafından anne sütü alan infantlarda *S.epidermidis* fekal florada dominant bakteri olarak izole edilmiştir (130). Yoğun bakımda yürütülen başka bir çalışmada da *Staphylococcus epidermidis*'e anne sütü alan olgularda daha sık rastlanmıştır (139).

Tüm bu çalışmalara zıt olarak beslenmenin intestinal flora etkisinin olmadığını savunan çalışmalar da bulunmaktadır. İsveç'te yapılan bir çalışmada, *S.epidermidis* dışında anne sütü ve formül mama alan olguların fekal örneklerinde farklılık bulunmamıştır (130). Aynı bulgular başka çalışmalar ile de desteklenmiş olup, özellikle ilk haftadaki kolonizasyonun beslenmeden bağımsız olduğu bildirilmiştir (133,135). Başka bir çalışmada anne sütü ve formül mama ile beslenenlerde en sık *E. coli* ve *Bacteriodes spp.* rastlanırken, her iki grupta da *Bifidobacteria* fekal örneklerin yarısından azında izole edilmiştir (130). Hall ve ark. (60) 30.günlerinde olan term bebeklerin gaytasında *Lactobacillus* izole etmişler ve beslenme şeklinin kolonizasyon paternine etkisi olmadığı yorumunu yapmışlardır.

Moleküler çalışmalar anne sütünün intestinal flora etkisini tutarlı şekilde göstermektedir. Martin ve ark. (128) sağlıklı 20 anne-bebek çiftinde yaptıkları çalışmada 7 gün-3 ay arasındaki dönemde spesifik primerler kullanarak süt örneklerinde *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* ve *Staphylococcus* cinsi bakterileri saptamıştır. İzolatların tür düzeyinde ayrıştırılması için yapılan kültürlerde süt örneklerinin tamamında *Staphylococcus* (en sık *S. epidermidis*, *S.hominis*), %80'nde *Lactobacillus* (*L.casei*, *L. gasseri*, *L. gastricus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. salivarius*, *L. vaginalis*) ve %15'nde *Bifidobacteria* (*B. breve*, *B. longum*) tespit edilmiştir. Anne sütlerinde bulunan *S. epidermidis*, *S. hominis*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. salivarius* ve *L. vaginalis*'in de değişik oranlarda bebek gaytalarında saptanmasıyla intestinal flora geçiği gösterilmiştir. Bu çalışma *Staphylococcus*, *Bifidobacteria* ve laktik asit bakterileri gibi kommensal ve potansiyel probiyotik bakterilerin anne sütünde saptanması ve bu bakterilerin süt yoluyla anneden bebeğe geçerek bağırsak

Açıklama [gg186]:
Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. Acta Paediatr Scand 1985; 74: 45-51

Açıklama [gg187]:
Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. Acta Paediatr Scand 1985; 74: 45-51
Kleessen B, Bunke H, Tovar K, Noack J, Sawatzki G. Influence of two infant formulas and human milk on the development of the faecal flora in newborn in ... [62]

Açıklama [gg188]:
Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. Microbiol Immunol ... [63]

Açıklama [gg189]:
Mackie RI, Sghir A, Gaskin HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr 1999; 69 Suppl: 1035S-45S.

Açıklama [gg190]:
George M, Nord KE, Ronquist G, Hedenstierna G, Wiklund L. Faecal microflora and urease activity during the first six months of infancy. Ups J Med Sci ... [64]

Açıklama [gg191]:
12. Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. Acta Paediatr ... [65]

Açıklama [gg192]:
EL-Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery:rela ... [66]

Açıklama [gg193]:
Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. Acta Paediatr Scand ... [67]

Açıklama [gg194]:
8. Chierici R, Sawatzki G, Thurl S, Tovar K, Vigi V. Experimental milk formulae with reduced protein content and desialylated milk proteins—influence of ... [68]

Açıklama [gg195]:
Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. Acta Paediatr Scand ... [69]

bariyeri ve GALT gelişimini desteklediğini göstermesi açısından önemliydi. Hernekadar bizim çalışmamızda anne sütüyle karşılaştırma imkanı olmasa da, ilk gün haricinde gayta örneklerinde *Staphylococcus* izole edildi. *Streptococcus* tüm günlerde yüksek düzeyde tespit edilirken, *Lactobacillus* cinsi bakteriler bir ve üçüncü günde tespit edildi. Yedinci günde bu bakteriye rastlanmadı. *Bacteriodes* grubunun oranı günler ilerledikçe katlanarak artıyordu. Çalışmamızda kültürel yöntemler ile uyumlu olacak şekilde *Escherichia* cinsi bakteriler her üç günde de yüksek düzeyde saptandı. Bu durumun nedeni daha önce yapılan moleküler çalışmalarda kullanılan spesifik primerlerin *Escherichia*'yı kapsamaması olarak yorumlandı. Olgularımızın hiçbirinde *Bifidobacter* cinsi bakterilere rastlanmadı.

Harmsen ve ark. (96) FISH ve 16S rRNA kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada anne sütü alan olgularda baskın cinsin *Bifidobacter* olduğunu belirtmişlerdir. En az *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinsi bakteriler saptanmıştır. Grönlund ve ark. (140) sadece *Bifidobacter* analizi için PCR kullanarak, anne sütü alan bebeklerin gaytalarında belirgin *Bifidobacter* kolonizasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Anne sütünün infant bağırsağı için önemli bir kaynak olduğunun vurgulandığı başka bir çalışmada, random amplifiye polimorfik DNA (randomly amplified polymorphic DNA=RAPD) yöntemi kullanılarak bebek gaytası ve anne sütünde aynı laktobasil paterni saptanmıştır (116). Solis ve ark. (10) anne sütü alan 20 bebeğin gaytalarını 1, 10, 30 ve 90. günde alarak kültür, RAPD ve sekans analizi uygulamış ve ilk gün gayta örneklerinde en yüksek oranda *Enterococcus* (*E. faecalis*) ve *Streptococcus* (*S. salivarius*) tespit etmişlerdir. Diğer günlerde de sırasıyla *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. bifidum*, *B. pseudocatenulatum*), *Streptococcus* (*S. salivarius*, *S. vestibularis*), *Lactobacillus* (*L. gasseri*) ve *Enterococcus* (*E. fecalis*) saptamışlardır. Aynı çalışmada yapılan RAPD analizi ile anne sütü ve gayta *Bifidobacter* türlerinin aynı genetik profilden oluştuğunu göstermişlerdir. Bizim olgularımızda da *Enterococcus* ve *Enterobacter* türleri üç ve yedinci günlerde saptandı.

Echarri ve ark. (141) spesifik primerler kullanarak, anne sütü alan term olgularda 8.günde *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Bifidobacter*, *Clostridium* (*C. leptum*, *C. coccoides*), *Lactobacillus* ve *Atopobium* cinsi tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada DGGE ve sekans analizi uygulanan ve anne sütüyle beslenen iki olgunun gayta örneklerinde 1 ve 2. gün *E. coli*, *Veillonella dispar*, *Clostridium* (*C. Paraputrificum*), *Enterobacter*, 1. hafta boyunca *Bacteroides* ve *S. salivarius*, ve 7. günün tamamlanmasıyla birlikte *S. thermophilus*, *Enterococcus raffinosus*, *Ruminococcus gnavus* ve *Enterococcus*

Açıklama [gg196]:
Martin V., Sharing of Bacterial Strains Between Breast Milk and Infant Feces. J Hum Lact 2012 28: 36

Açıklama [gg197]:
Grönlund M.M., Maternal breast milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. Clinical and experimental allergy, 37, 1764-1772

Açıklama [gg198]:
Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. Journal of Pediatrics 143: 754-758.

Açıklama [gg199]:
Solis G. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. Anaerobe 16 (2010). 307-310

Açıklama [gg200]:
Echarri P.P. Assessment of intestinal microbiota of full term breast fed infants from two different geographical locations. Early human development 87 (2011) 511-513

avium saptanmıştır (16). Penders ve ark. (47) formül mama alan olgularda *E. coli*, *C. difficile*, *B. fragilis* ve *Lactobacillus* düzeylerini anne sütü alanlara kıyasla yüksek saptanmıştır. Bizim çalışmamızda özellikle yedinci günde oluşan heterojen mikroflorada *Clostridium*, *E. coli*, *Veillonella* ve *Lactobacillus* değişen oranlarda tespit edildi. Mutlak anaerob olan *Veillonella*, *Bacteroides*, *Parabacteriodes* grubu bakterilerin yedi gün gibi kısa bir sürede florada baskınlık göstermesi ise anne sütüyle beslenen infantlarda kapsamlı floranın daha kısa sürelerde oluştuğunun kanıtı olarak yorumlandı.

FISH ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada *Bifidobacter*'in anne sütü alan olgularda baskın olmasına karşın formül mama alan olgularda da *Bacteriodes spp.* ile birlikte benzer düzeylerde olduğunu göstermiştir (96). Formül mama ile beslenen olgularda en az *Staphylococcus*, *E. Coli* ve *Clostridia* saptanmıştır. Bizim çalışmamızda anne sütü ve formül mama alan bir olgunun (Olgu 5), 1 ve 3. gün analizinde 3 cins ve 6 türe ait bakteriler saptanmıştır. *Streptococcus* her iki gün için de en çok izlenen cins olarak tespit edilmiştir. En sık *S. salivarius* türü tespit edilmiştir. İlk gün *Lactococcus garvieae* ve üçüncü gün *Enterococcus faecalis* düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bu olguda yedinci gün tespit edilen bakteri cinsi yediye yükselmiş, en çok izlenen cinsler *Veillonella*, *Clostridium* ve *Enterococcus* olarak saptanmıştır. Bizim bulgularımız da formül mama alan olgularda *Veillonella* ve *Clostridium* baskınlığı sayesinde ilk haftada oluşan anaerobik mikrofloranın erişkin tip floraya daha çok benzediği ve anne sütü alanlara kıyasla daha erken oluştuğu görüşünü savunan çalışmalar ile uyumluydu (23). Anne sütü ve formül mama alan bir diğer olgu uzun süreli YYBÜ'de izlenmişti ve sadece yedinci günde sekans analizi yapılabilirdi. Bu iki olgunun yedinci gün bakteri dağılımı karşılaştırıldığında gerek bakteri sayısı gerekse de cins dağılımı Olgu 5'de daha fazlaydı. Bu durum, Olgu 7'nin YYBÜ'nde uzun süreli yatışı ve çoklu antibiyoterapi alması ile açıklanabilir.

Yenidoğan intestinal mikroflorasının doğumdan hemen sonra şekillenmeye başlayan yapısının anlaşılması amacıyla yapılan kültür temelli çalışmalarda aerob/fakültatif anaerobların ilk haftadaki baskınlığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda infanttaki ilk kolonizerler *E. coli* ve *Enterococcus* (*E. faecalis* ve *E. faecium*) şeklinde tanımlanmıştır. Ek olarak oksijen içeriğinin bol olduğu dönemde *Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter*'in de geçici kolonizasyonları tespit edilmiştir (3,50,56). *S. mitis*, *S. intermedius* ve *S. salivarius*'un yenidoğanda ilk haftada %20-30 kolonize olduğu görülmüş (55,56,85), neonatal sepsisin sık nedenlerinden olan Grup B *Streptococcus* ise yenidoğanlarda %5 kolonize bulunmuştur (88).

Açıklama [gg201]:
Favier C. Molecular Monitoring of succession of Bacterial Communities in Human Neonates. Microbiology, Jan 2002. P. 219-226

Açıklama [gg202]:
HarmsenHJM, Wildeboer-Veloo ACM,RaangsGC,Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. J Pediatr Gas-troenterol Nutr 2000; 30: 61-7.

Açıklama [gg203]:
Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin1, A.J. Nauta1, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Açıklama [gg204]:
21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.The intestinal microflora of infants:composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. MicrobiolImmunol 1984;28:975-86.
23. RotimiVO,DuerdenBI.The development of the bacterial flora in normal neonates. JMedMicrobiol 1981;14:51-62.
26. AdlerberthI,CarlssonB,deManP,JalilF,KhanSR,Larsson P,etal.Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. Acta PaediatrScand 1991;80:602-10.

Açıklama [gg205]:
22. MatalLJ,UrrutiaJJ.Bağırsakcolonizationofbreastfed childreninaruralareaof flowsocio-economiclevel. AnnNY AcadSci 1971;176:93-109.
23. RotimiVO,DuerdenBI.The developmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51-62.
24. StarkPL, LeeA. Themicrobialecologyofthelargebowelof breast-fedandformula-fedinfantsduringthefirstyearoflife. J MedMicrobiol 1982;15:189-203.

Açıklama [gg206]:
28. PerssonKM,BjerreB,ElfstromL,PolbergerS,ForsgrenA. FaecalcarriageofgroupBStreptococci. EurJ ClinMicrobiol 1986;5:156-9.

Bazı klasik çalışmalarda da yenidoğanların KNS ile kolonizasyonunun *S. aureus*'dan daha fazla olduğu ve doğum sonrası ilk günlerde *Enterobacter* cinsi bakterilerin yenidoğan intestinal florasına hakim olduğu gösterilmiştir (55).

Moleküler metodlar kullanılan çalışmalarda saptanan sonuçların kültürel yöntemlerle benzerlik gösterdiği noktalar olsa da bakteriyel çeşitlilik açısından farklılıklar gösteriyordu. Mitsou ve ark. (142) doğum sonrası 4, 30 ve 90.günlerde sağlıklı ve term yenidoğan gaytalarını incelediklerinde *Lactobacillus* ve *Enterococcus* cinslerinde özellikle 4.günden sonra hızlı bir artış tespit etmiştir. Favier ve ark. (16) DGGE ve sekans analizi uygulanan iki olgunun gayta örneklerinde 1- 2.gün *E. coli*, *Veillonella dispar*, *Clostridium* (*C. Paraputrificum*), *Enterobacter*, 1. hafta boyunca *Bacteroides* ve *S. salivarius*, ve 7.günün tamamlanmasıyla birlikte *S. thermophilus*, *Enterococcus raffinosus*, *Ruminococcus gnavus* ve *Enterococcus avium* saptamıştır. Echarri ve ark. (141) spesifik primerler kullanarak yaptığı çalışmada 8.günde *Bacteriodes*, *Staphylococcus*, *Enterobacter* ve *Clostridium* cinsine ait bakteriler tespit etmiştir. Başka bir çalışmada term infantların gaytalarında ilk gün *Enterococcus* (*E. fecalis*) ve *Streptococcus* (*S. salivarius*), ilerleyen günlerde de *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Laktobacillus* ve *Bifidobacter* cinsine ait bakteriler izole edilmiştir (10). Songjinda ve ark. (18) 16S rRNA, klonlama ve sekanslama, sonrasında da PCR-DGGE ile gerçekleştirdiği çalışmada ilk gün mutlak aerob olan *Pseudomonas* kısa süreli izlenmiş ve yerini fakültatif anaerob olan *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* ve *Enterobacter*'e bırakmıştır. Üçüncü günde en sık *Streptococcus* türleri *S.parasanguinis*, *S.cremoris* ve *S.thermophilus* saptanmıştır. Üçüncü gün oral orjinli bakteriler olan *S.parasanguinis*, *S.mitis*, *S. salivarius*, *B.dentum* ve *Veillonella parvula*'nın yoğunlukla izlenmesi erken dönem intestinal flora kolonizasyonunda oral floranın etkisini işaret etmesi açısından dikkat çekici bulunmuştur. Çoğu olguda ilk 2 ayda *Bifidobacter* düşük düzeyde izlenirken, sadece bir olguda *Bifidobacter* ilk haftada baskın düzeye gelmiştir. Ve aynı süreçte *Enterobacter* bandında azalma olmuştur. Bu durum Park ve ark. (21) yaptığı çalışmada da tespit edilmiştir. Dört olguda *Bifidobacter*'den önce *Clostridium* bandı belirginleşirken, bir olguda 5.gün *Veillonella parvula* saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde örnek alım günlerinin ilerlemesiyle birlikte tespit edilen bakteri sayılarında artış gözlemlendi. Çalışmanın geneline bakıldığında en sık *Firmicutes* filumuna ait bakteriler gözlenirken, cins düzeyinde en sık *Streptococcus*, tür düzeyinde ise en sık *Escherichia coli* tespit edildi. Filum düzeyinde karşılaştırma yapabileceğimiz bir çalışma olmamasına karşın, cins ve tür

Açıklama [gg207]:
Mitsou E. K. Fecal microflora of Greek healthy neonates. *Anaerobe* 14 (2008) 94 – 101

Açıklama [gg208]:
Favier C. Molecular Monitoring of succession of Bacterial Communities in Human Neonates. *Microbiology*, Jan 2002. P. 219-226

Açıklama [gg209]:
Echarri P.P. Assessment of intestinal microbiota of full-term breast-fed infants from two different geographical locations. *Early Human Development* 87 (2011) 511-513

Açıklama [gg210]:
Solis G. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breastmilk and the infant gut. *Anaerobe* 16 (2010) 307-310

Açıklama [gg211]:
Park H K., Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant. *The journal of microbiology*, August 2005, p.345-353

Açıklama [gg212]:
Songjinda P. Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69 (3), 638-641, 2005

düzeyindeki bulgularımız kültürel ve moleküler çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Ancak çalışmamızdaki hiçbir örnekte *Bifidobacter* cinsine ait bakteri tespit edilmedi. İlk gün alınan gayta örneklerinde en sık rastlanılan bakteriler *Streptococcus* (*Streptococcus salivarius*), *Escherichia* (*Escherichia coli*) iken 3.gün en sık *Streptococcus* (*Streptococcus salivarius*) ve *Enterococcus* (*Enterococcus faecalis*) saptandı. *Veillonella* ise 3 ve 7.günde kendini gösteriyordu. En sık tespit edilen türleri 3. günde için *V. parvula* ve *V. dispar*, 7. günde *V. ratti*, *V. dispar* ve *V. tobetsuensis* idi. Yedinci gün bir fakültatif anaerob olan *Enterococcus*'un ardından gelen ve mutlak anaerob bakteriler olan *Bacteriodes* ve *Veillonella* adeta yaklaşmakta olan anaerob floranın habercileriydi.

Olgun floranın gelişimi için dengeli anaerobik flora oluşumu gerektiği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (18,73,143). Bu çalışmalarda aerob ve fakültatif anaerob bakterilerin yayılması sonucunda tükenen oksijene bağlı olarak anaerobik çevre oluşumuna ikincil zorunlu anaerobik bakterilerin üremesi ve hakimiyet kazandığı da belirtilmiştir. Çalışmamızda örneklerin alındığı tüm günlerde fakültatif anaerob bakteriler çoğunlukta izlense de özellikle 7.gün belirginleşen anaerob bakteri artışı dikkat çekiciydi. Hayatın ilk haftasında *Bacteriodes* (*B. fragilis*, *B. vulgatus* ve *B. thetaiotamicron*), *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. adolescentis* ve *B. infantis*) ve *Clostridium* (*C. Perfringens*, *C. Difficile*, *C. paraputrificum*, *C. tertium*) gibi mutlak anaerob bakterilerin 7.gün ile birlikte arttığı ve bu olgularda *C. difficile*'nin semptomlara neden olmadığı farklı çalışmalarda belirtilmiştir (50,85,90). Çalışmamızda 7.günde ilk sırada *Enterococcus* (*Enterococcus faecalis*) ve *Bacteriodes* (*Bacteriodes vulgatus*) tespit edildi. Bu grupta, ilk günlerde saptadığımız belirli türlerin predominansı gerileyerek, yerini daha kalabalık ve çeşitli bakteri gruplarına bıraktı. Öyle ki üç ve yedinci günlerde asemptomatik olgularda *Salmonella* (*Salmonella enterica*), *Shigella* (*Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*) ve yedinci günde de yine asemptomatik olgularda *Clostridium* (*Clostridium paraputrificum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tertium*) türleri saptandı. Patojen bakterilerin asemptomatik olgularda erken florada düşük oranda olsa da saptanması, komplike floranın sınırlandırıcı ve koruyucu etkisini birkez daha vurguluyordu.

Üzerinde düşünülmesi gereken başka bir nokta ise, bu patojen bakterilerin bebeğe nereden geldiği idi. Değişik moleküler yöntemler kullanılarak yapılan araştırmalarda *E. coli*, *Clostridia*, *Salmonella* gibi patojen bakteriler sağlıklı infant bağırsak mikroflorasından izole edilmiştir. Bu araştırmalarda saptanan bakterilerin birçoğunun anne sütüyle birlikte annenin

Açıklama [gg213]:
Mackie RI, Sghir A & Gaskins HR (1999) Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr 69 : 1035S–1045S.
Songjinda P, Nakayama J, Kuroki Y, Tanaka S, Fukuda S, Kiyohara C, Yamamoto T, Izuchi K, Shirakawa T & Sonomoto K (2005) Molecular monitoring of the developmental bacteria ... [70]

Açıklama [gg214]:
Matal J, Urrutia JJ. Intestinal colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93–109.
24.
Stark PL, Lee A. Themicrob ... [71]

Açıklama [gg215]:
Finegold SM, Sutter VL, Mathisen G E. Normal indigenous bağırsak flora. In: Hentges DJ, editors . Human bağırsak microflora in health and disease. London: Academic Press, 1983:3–31.
21. ... [72]

Açıklama [gg216]:
Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. J Nutr 2008; 138:1791S–1795S.

Palmer C, Bik EM, DiGiulio ... [73]

Açıklama [gg217]:
Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
29. ... [74]

Açıklama [gg218]:
Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
23. ... [75]

Açıklama [gg219]:
Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. Adv Pediatr. 1999;46:353–82
Mackie R. I., Development microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am. ... [76]

Açıklama [gg220]:
21.
Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
... [77]

intestinal florasından enteromammarik siklus aracılığıyla bebeğe geçerek fekal mikrobiota kompozisyonunu etkilediği öngörülmüştür (16,27,144).

Bebekliğin ilk günlerindeki kolonizasyonu ve kolonize olan bakteri türlerinin nitelik ve niceliğini etkileyen faktörler arasında en önemlileri gestasyonel yaş, maternal mikrofloranın kompozisyonu, doğum şekli (vajinal/sezaryen seksiyö), beslenme şekli (anne sütü, formül mama), hastaneye yatış öyküsü, antibiyotik kullanımı, annenin doğum öncesi ve sonrasında diyeti, bebeğin sağlık durumu, bağırsağın anatomik gelişimi, yaşanan bölgenin gelişmişlik düzeyi veya mikroflorası olarak tanımlanmıştır (23).

Doğum şekli, intestinal flora araştırmalarında üzerinde en çok durulan noktalardan biri olmuştur (145). Vajinal doğan olgular anne vajen ve intestinal florasıyla erken dönemde karşılaştıklarından çevre florasının baskın etkisi bu olgularda genellikle izlenmemektedir. Bu olgularda intestinal flora için kültür temelli çalışmalarda doğum sonrası 10.günde fekal *Lactobacillus* kolonizasyonunun vajinal doğumla direkt ilişkili olduğunu, ancak doğum şeklinin 10.gün *Bifidobacteria* varlığı ile 1. aydaki bakteri kolonizasyonu ve sayısını etkilemediği tespit edilmiştir (60). Ayrıca vajinal doğan olgularda *Bacteroides* kolonizasyonu sezaryen ile doğan yaşlıtlarına göre hem daha hızlı hem de daha stabil saptanmıştır (146). Moleküler analiz için DGGE kullanılan bir başka çalışmada ise vajinal doğan, ilk 15 gün sadece anne sütü alan iki olgudan birinde 1.gün *Escherichia coli*, *Veillonella dispar*, 7.gün *Streptococcus thermophilus*, 8.gün *Enterococcus raffinosus*, *Ruminococcus gnavus*, *Enterococcus avium* saptanırken diğer olguda doğumunun ilk günlerinde *Clostridium*, *Enterobacter*, *Bacteroides* ve *Streptococcus salivarius*, 2.gün: *Clostridium paraputrificum* tespit edilmiştir. Bu olguda ilk 2 hafta boyunca *Bifidobacterium*, *Enterobacter*, *Clostridium* ve *Streptococcus* cinsleri predominant izlenmiştir (16).

Biasucci ve ark. (17) ise doğum sonrası 3.günde gayta örneklerini inceledikleri 46 olguda önce DGGE kontrol amaçlı da TGGE kullanmışlardır. DGGE kullanılan vajinal doğumların hepsinde *Klebsiella oxytoca* ve *Bifidobacterium pseudolongum* saptanmış. *Escherichia coli* oranı vajinal doğumlarda daha fazla tespit edilmiştir. Sezaryen doğumlarda DGGE ile hiç *Bifidobacterium* saptanmazken TGGE’de %8,7 olguda *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium gallicum* tespit edilmiştir. Bu durum moleküler çalışmalarda TGGE’nin daha duyarlı bir yöntem olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Vajinal doğan olgularda en fazla *Bifidobacter* türü sırasıyla *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium adolescentis*

Açıklama [gg221]:

Gueimonde, M., Breastmilk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? Neonatology 92, 64-66

C.F.Favier,E.E.Vaughan,W.M.deVos,A.D.L.Akkermans,Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates, Appl.Environ.Microbiol.68(2002)219-226.

S.S.Qutaishat,M.E.Stemper,S.K.Spencer,M.A.Borchardt,J.C.Opitz,T.A.Monson,J.L.Anderson,L.E.Ellington,Transmission of Salmonella enterica serotype typhimurium DT104 to infants through mother’s breast milk,Pediatrics 111(2003)1442-1446.

Açıklama [gg222]:

Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin, A.J. Nautal, K. Beneficial Microbes, BULAMADIM!!!!!! December 2010; 1(4): 367-382 (adlerberth 2007, Biasucci 2008, Grönlund 1999, huure 2008, pendens 2006 b). heikilla ve saris 2003, kirjavainen 2007

Açıklama [gg223]:

Neu J. Cesarean versus vaginal delivery: long term infant outcomes and the hygiene hypothesis. Clin perinatolo 38 (2011)321-331

Açıklama [gg224]:

HallMA,ColeCB,SmithSL,FullerR, RollersCJ.Factors influencing the presence of faecal lactobacilli on early infancy. ArchDisChild 1990;65:185-88.

Açıklama [gg225]:

40. Bennet R, Nord CE. Development of the faecal anaerobic microflora after caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. Infection 1987; 15: 332-6

Açıklama [gg226]:

Favier C. F. Molecular Monitoring of Succession of Bacterial Communities in Human Neonates. Appl Environ Microbiol. 2002 January; 68(1): 219-226

saptanmıştır. *Bacteriodes*, vajinal doğan olguların %8,7'nde varken tüm bebeklerde *Ruminococcus* cinsi bakterilere rastlanmıştır. Huure ve ark. (11) 141'i vajinal, 24'ü sezaryen olmak üzere çalışmaya aldıkları 165 olgudan 1. ayda aldıkları gayta örneklerini FISH ile çalışmış, örnekler *Bacteriodes*, *Bifidobacter*, *Clostridia*, *Lactobasil* ve *Enterococcus* için taramışlardır. Birinci ayda vajinal doğumlarda *Bifidobacter* ve total bakteri yükü oranı anlamlı derecede yüksekken, diğer bakteriler için fark saptanmamıştır.

Bizim çalışmamızda vajinal doğan olgularda günler ile birlikte filum ve cins düzeyinde çeşit anlamında azalma vardı ve bakteri sayıları sezaryen ile doğan yaşlılarıyla kıyaslandığında oldukça düşüktü. Bu durum çalışmaya alınan olguların sadece ikisinin vajinal yol ile doğması yani olgulardaki sayısal dengesizlik ile açıklanabilir. *Escherichia* ilk gün %66,2 ile en yüksek oranda saptanırken diğer günlerde geriledi ve yedinci gün %7,1 oranında saptandı. Üç ve 7.günlerde ise en sık *Bacteroides* ve *Enterococcus* cinsi tespit edildi. Her üç günde de *Bacteroides* mevcudiyeti ve *Bacteroides vulgatus*'un ilerleyen günler ile birlikte katlanarak artan oranı dikkat çekiciydi. Çalışmamızda bu olgularda *Streptococcus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilere rastlanmadı. *Lactobacillus* ise sadece birinci günde tespit edildi.

Gelişmekte olan ülkelerde yapılan kültür temelli çalışmalarda *Enterobacter*'in erken kolonizasyonunun sezaryen ve vajinal doğan olgularda benzer olmasına bağlı olarak doğum şeklinin kolonizasyona etkisinin sanıldığı kadar önemli olmadığı sonucuna varılmıştır (56,73). Çalışmamızda iki grup arasında *Enterobacter* için büyük fark vardı. Vajinal doğan olgularda sadece birinci gün düşük oranda saptanan bu bakteriler, sezaryen ile doğan olgularda her üç günde de hatırı sayılır oranlarda karşımıza çıktı.

Sezaryen ile doğan olguların annelerinin vajinal ve fekal florası ile direk temaslarının olmaması, annelerin emzirmeye geç başlamaları ve uzun süre annelerinden ayrı kalmaları, intestinal kolonizasyonda çevre etkisini önemli bir kaynak haline getirmektedir. Böylece sezaryen ile doğan olguların stabil ve fonksiyonel intestinal flora gelişimi gecikmektedir (59). Bu olgularda özellikle *Bacteroides spp.*, *Bifidobacteria*, *E. coli* ve diğer bakteri kolonizasyonu hem daha az, hem de daha geç oluşmaktadır (59,146,147). Neut ve ark. (147), 14.günde *Bacteriodes spp.* üyelerindeki gecikmenin olduğunu ancak *Bifidobacter* izolasyonu sağlandığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada sezaryenle doğan olgularda en sık karşılaşılan anaerob bakteri grubu *Clostridium perfringens* olmuştur. Bezirtoglu ve Ramond

Açıklama [gg227]:
Biasucci G. Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacteria. J. Nutr. 138: 1796S–1800S, 2008.

Açıklama [gg228]:
Huurre A. Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity. Neonatology 2008;93:236–240

Açıklama [gg229]:
Mackie R. I., Sghir A., Gaskinsvitro H.R., 1999, Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am. J. Clin. Nutr., 69, s.1035–1045.

Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Bağırsak colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. Acta Paediatr Scand 1991;80:602–10.

Açıklama [gg230]:
Fanaro S. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta paediatr Suppl 441: 48-55.2003

Açıklama [gg231]:
Fanaro S. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta paediatr Suppl 441: 48-55.2003

Açıklama [gg232]:
Orrhage K. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. Acta Paediatr suppl 1999;430:47-57

Bennet R. Development of the faecal anaerobic microflora after caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. Infection 1987;15:332-6

Neut C. Bacterial colonization of the large intestine in newborns delivery by cesarean section. Zentralbl Bacteriol Microbiol Hyg 1987;266:330-7.

Açıklama [gg233]:
Neut C. Bacterial colonization of the large intestine in newborns delivery by cesarean section. Zentralbl Bacteriol Microbiol Hyg 1987;266:330-7.

(148) anne sütü alan olgularda doğum şekline bakılmaksızın GİS florasının en sık *Bifidobacteria* ile kolonize olduğunu tespit etmişlerdir.

Dominguez-Bello ve ark. (15) 16S rRNA metodu kullanarak dört vajinal, altı sezaryen doğan olgu ve anneleri incelemiştir. Annelerde doğumdan 1 saat önce oral mukoza, vajinal sürüntü ve cilt örneği; olgulardan da doğum sonrası 5 dk içinde cilt, oral mukoza, nazofarengeal aspirat ve 0-24 saat içinde de mekonyum örnekleri alınmıştır. Sezaryen ile doğan olguların mekonyumunda anne ve bebek cildiyle uyumlu bakteriler (*Staphylococcus*, *Corynebacterium* ve *Propionibacterium*) saptanırken, vajinal doğan olgularda vajen florasını yansıtan *Lactobacillus*, *Provitella*, *Actinobacteria* cinsi bakteriler tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada MRSA'ya bağlı cilt enfeksiyonu olan olguların çoğunluğunun sezaryen ile doğduğu ve bu bakteriyi anne cildinden aldığı belirtilirken, vajinal doğan olgularda vajen florasının patojen bakterileri inhibisyona uğrattığı ifade edilmiştir (155).

Park ve ark. (21) sezaryen ile term doğan ve formül mama ile beslenen bir olguda gerçekleştirdikleri çalışmada doğum sonrası 1, 3 ve 6.günde alınan gayta örneklerini 16S rDNA ile çalışmıştır. Birinci gün en yüksek oranda *Lactococcus lactis* ve *Leuconostoc citreum*, üçüncü gün *Streptococcus salivarius*, *Escherichia coli* ve *Streptococcus mitis*, altıncı günde de *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae* tespit edilmiş, en büyük taksonomik grup *Escherichia coli* olarak belirlenmiştir. Penders ve ark. (47) yürüttüğü bir çalışmada, sezaryen ile doğan olgularda vajinal doğanlara kıyasla 1. ayda *Bifidobacter* ve *Bacteroides* düşük, *E. coli* ve *C. difficile* yüksek düzeyde izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da gerek kültür gerekse moleküler çalışmalar ile uyumlu olarak, sezaryen ile doğan olguların hiçbirinde *Bacteroides* cinsine ait bakteri rastlanmadı. Bir ve üçüncü günlerde ilk üç sırada *Streptococcus*, *Enterobacter* ve *Escherichia* cinsine ait bakteriler mevcuttu ve bu durum yukarıda bahsedilen kültürel çalışmaların (146,147,148) sonuçlarından farklıydı. Örnek alım günlerinin tamamında *Escherichia* ortalama aynı oranlarda bulunurken (sırasıyla %12,2, %11,6, %10,4), yedinci güne doğru *Streptococcus* ve *Enterobacter* oranlarında belirgin düşüş vardı. Özellikle yedinci gün *Veillonella* cinsi en yüksek oranda karşımıza çıktı. Aynı günde bakteri oranlarının azalıp çeşitliliğin artması dikkat çekiciydi. Olgularımızda hem üç hem de yedinci günde *Salmonella* ve *Shigella* cinsine ait bakteriler düşük oranda tespit edildi. Bu olgular asemptomatikti. Olgularımızda tüm günler için *E. coli* düzeyindeki durağanlık ve sadece yedinci günde *Clostridium* ve *Klebsiella* tespit edilmesi, sezaryen ile doğanlarda azalmış yarışmaya bağlı olarak *Enterbacteriaceae* ailesi (*E. coli* hariç), *Klebsiella* ve *Clostridium* (*C.difficile* dahil)

Açıklama [gg234]:

Dominguez-Bello M. G., Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 June 29; 107(26): 11971–11975. Microbiology

Açıklama [gg235]:

Watson J, et al. (2006) Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection among healthy newborns—Chicago and Los Angeles County, 2004. MMWR 55:329–332. Reprinted in Watson J, et al. (2006) JAMA 296:36–38.

Açıklama [gg236]:

Penders J., Thijs C. Factors Influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics. 2006;118:511

Açıklama [gg237]:

Park H K., Molecular analysis of colonized bacteria in a hman newborn infant. The journal of microbiology, August 2005, p.345–353

artığını gösteren çalışmalar ile uyumluydu (45,47,62). Çalışmamız yöntem ve sonuç bazında Park ve ark. (21) çalışmasıyla benzerlik göstermekle birlikte olgu sayısı ve bulgularımız bakımından farklıydı. Bizim çalışmamızda birinci gün *Lactococcus* cinsinden sadece *Lactococcus garvieae* %0,4 oranında izleniyordu. Üç ve yedinci günlerde ise aynı bakterileri farklı oranlarda tespit ettik ki muhtemelen bu farklılığın nedeni olgu sayımızın daha fazla olmasıydı.

ALLERGYFLORA adlı kohort çalışmasında 0- 12 ay arasında 300 İsveç, İtalyan ve İngiliz infantın gayta örnekleri incelenmiş, sezaryen ile doğan infantların vajinal doğanlara kıyasla 1 yıla kadar daha düşük anaerobik fakültatif bakteri düzeyi olduğu saptanmıştır (45). Çalışmamızda sezaryen ile doğan olgularda ilk gün anaerob bakteri izlenmezken yedinci günde %32,1 oranında tespit edildi ki bu durumun en büyük sorumlusu *Veillonella* cinsi bakterilerdeki mutlak artışı. Vajinal yol ile doğan olgularda ise ilk günden itibaren anaerob bakteriye rastlandı. Özellikle 3 ve 7.günlerdeki *Bacteroides* hakimiyeti ile birlikte anaerob oranları hızla arttı.

Floranın bir diğer belirleyicisi olan çevre de birçok çalışmada değerlendirilmiştir. Tamamen sağlıklı olan ve herhangi bir nedenle antibiyotik tedavisine ihtiyaç duymayan olgularda *Bifidobacter*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* hayatın erken dönemlerinden itibaren gaytada moleküler yöntemler ile saptanabilmektedir (18,128). Çevre etkisi o kadar belirgindir ki hastanede normal vajinal doğum yapan olgularda bile evde normal vajinal doğum yapan olgulara kıyasla daha yüksek *E. coli* ve *C.difficile* düzeyleri izlenmiştir (47). Çalışmamızda anne yanında izlenen olgularda özellikle üçüncü günde saptanan cins ve tür düzeyindeki artış dikkat çekiciydi. *Lactobacillus* cinsi bakteriler her üç günde de izlendi. Birinci gün *Escherichia*, *Enterobacter*; 3.günde *Enterococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter* ilk sıralarda izlenirken 7.günde *Escherichia*, *Enterococcus*'un ardından *Veillonella* ve *Bacteroides* grubu bakteriler tespit edildi.

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen olgular ise, kullanılan antibiyotik rejimleri neticesinde düşük bakteri yoğunluğu ve anaeroblardan yoksun bir mikrofloraya sahip olmaktadır. KNS, *Enterococcus* ve *Enterobacteriaceae* bu infantlarda izlenmesine karşın oranları, kullanılan antibiyotiklere karşı dirençleri doğrultusunda değişiklik göstermektedir (66,67,147). Bennet ve ark. (68) penisilin, kloksasilin, ampisilin, sefuroksim, sefoksitin ve gentamisin ile tedavi edilen yenidoğanları tedavi almayan term ve preterm yenidoğanlarla kıyasladıklarında, doğumunun 2. haftasında tedavi almayan olgularda %90

Açıklama [gg238]:
Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006;59:96–101.

Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahm ' e S, Orfei L, ° Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:343–50.

Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118:511–21

Açıklama [gg239]:
Park H K, Molecular analysis of colonized bacteria in a hman newborn infant. *The journal of microbiology*, August 2005, p.345-353

Açıklama [gg240]:
Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahm ' e S, Orfei L, ° Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:343–50.

Açıklama [gg241]:
Martin V. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J. Human Lact* 2012 28:36

Songinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of japanese infants. *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, 69 (3), 638–641, 2005 ... [78]

Açıklama [gg242]:
Penders J., Thijs C. Factors Influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006;118:511

Açıklama [gg243]:
Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. *Am J Infect Control* 1993;21:231–4. 56.

Hallstrom M, Eerola E, Vuori ... [79]

anaerobik flora oluştuğunu saptamışlardır. Olguların %70'i *Bifidobacteria*, %50'si *Bacteriodes spp.* ile kolonize olduğunu tespit etmişlerdir. Tedavi alan grupta anaerobik florada baskılanma gözlenmiş, olguların %5-25'nde anaerobik bakteriler izole edilmiştir. İki hafta sonra bu olguların %57'sinden anaeroblar izole edilmiştir. Antibiyotik tedavisi *Klebsiella*'da aşırı çoğalmaya neden olurken diğer Gram negatif aerob bakterilerde bu durum gözlenmemiştir. *C. difficile* ve *Clostridium perfringens* türleri tedavi sırasında ve sonrasında tespit edilmiştir. Yenidoğanlarda antibiyotik kullanımı ile *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Pseudomonas* kolonizasyonunda artma, *Clostridia* dışında tüm anaeroblarda baskılanma ve *E. coli* seviyelerinde düşüş izlenmiştir. Antibiyotik kullanımı sonucu intestinal mikrobiota etkilenmesinin tedavi kesilse de devam ettiği ifade edilmiştir (59). Schwartz ve ark. (149) tarafından gerçekleştirilen ve DGGE analizi kullanılan başka bir çalışmada, YYBÜ'nde izlenen infantlarda yukarıdaki bakteri gruplarına ilave olarak *Citrobacter freundii* tespit edilmiştir.

Penders ve ark. (47), term olgularda doğumdan hemen sonra hastaneye yatışın sadece *C. difficile*'de artışa neden olduğunu saptamışlardır. Başka bir çalışmada YYBÜ'nde izlenirken antibiyotik alan iki olguda ilk 3 gün almayan olgulara kıyasla daha basit mikrobiota izlenmiştir. Bu olgulardan birinde *Micrococcus mucilaginosus*'ya ait bant 5.günde ortaya çıkarak 1 ay devam etmiştir. Bu bakteri sık karşılaşılan bir habitat üyesi olmadığından varlığı herhangi bir durumla ilişkilendilememesine karşın dikkat çekici bulunmuştur. Diğer olguda 3.gün tespit edilen *E.faecium* 1. ayda kaybolmuştur. Çalışmaya alınan diğer olgularda saptanan *Bifidobacter* bandının bu olguda tespit edilememesi *Enterobacter* baskınlığına bağlanmış. Hayatın erken döneminde alınan antibiyotik tedavisinin bağırsağın normal mikrobiyal ekosisteminin gelişimini ne denli derinden etkilediğini göstermesi açısından çalışmanın bu sonucuna dikkat çekilmiştir (18). Bizim çalışmamızda YYBÜ'nde izlenen olgularda cins ve tür düzeyindeki en büyük farklılık yedinci günde izlendi. 1 ve 3.gün sırasıyla 6 ve 8 cins saptanırken yedinci günde 17 cins bakteri saptandı. Birinci gün *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinsi bakteriler tespit edilirken aynı gün en fazla saptanan bakteriler *Streptococcus*, *Escherichia*, *Bacteriodes* idi. Üçüncü gün tespit edilen bakteriler ise sırasıyla *Streptococcus*, *Bacteriodes* ve *Staphylococcus*'du. Yedinci gün ise *Streptococcus* ve *Escherichia* oranı ciddi anlamda gerilemiş, yerini *Bacteriodes*, *Enterococcus* ve *Enterobacter*'e bırakmıştı. Aynı gün *Veillonella* da yüksek oranları ile dikkat çekiyordu. YYBÜ'nde izlenen olgularda anaerobların önceki çalışmaların (66,149) aksine bu derece

Açıklama [gg244]:

42. Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterstrom R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis* 1986; 5: 533-9

Açıklama [gg245]:

Fanaro C. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr. Suppl.* 441:48-55. 2003

Açıklama [gg246]:

Schwartz A, Gruhl B. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatric Research* vol.54, No 3, 2003

Açıklama [gg247]:

Penders J., Thijs C. Factors Influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006;118;511

Açıklama [gg248]:

Songinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, 69 (3), 638-641, 2005

Açıklama [gg249]:

Schwartz A, Gruhl B. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatric Research* vol.54, No 3, 2003

Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. *Am J Infect Control* 1993;21:231-4. 56.

yüksek oranda izlenmesi antibiyotik alan olguların sayıca az oluşuyla ilişkilendirildi. Zira tek başına hem yoğun antibiyotik alan hem de YYBÜ'nde uzun süreli izlenen Olgu 7 incelendiğinde yedinci günde en fazla *Enterococcus* (%65), sonrasında ise sırasıyla *Klebsiella* (%32) ve *Enterobacter* (%3) cinsi bakteriler izole edildi ki bu durum daha önce yapılan çalışmalar (18,66,68,149) ile uyumluydu. Ek olarak bu olgudaki mikroflora homojenitesi olgunun yeterli anne sütü almaması ile de ilişkilendirilebilir.

Hayatın ilk günlerinde yenidoğanlardaki geniş spektrumlu antibiyotiklere maruziyetin gastrointestinal kanal florasının ekolojik dengesine etkisini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır (150). Özellikle bu dönemde alınan antibiyotiklerin hayatın ileriki dönemlerinde gelişebilecek otoimmün hastalıkların tetiğini çekebildiği de bilinmektedir (151,152,153). Tanaka ve ark. (154) term doğan ve doğum sonrası geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan 26 olgunun gayta örneklerini antibiyotik almayan kontrol grubuyla birlikte ilk 5 gün hergün, sonraki 2 ay boyunca da ayda bir kez T-RFLP, DGGE ve Q-PCR ile değerlendirmiş, antibiyotik alan grupta total bakteri dağılımı anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Kontrol grubunda *Bifidobacter*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus* ve *Eubacter*'in ilk ayda hızla arttığı ve mutlak anaerob floranın hızla oluştuğu görülmüştür. Dengeli mikrofloraya işaret eden bifidus florasının (*Bifidobacter*'den zengin flora) oluşumu ise 1. ayda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Antibiyotik alan grupta ise *Bifidobacter*'in florada izlenmesi 1. ayın sonlarında olmuştur. *Enterococcus* (*E. faecium*) ilk günden yüksek oranlarda gözlenmiş, *Enterobacter* 1. ayda %100 kolonize saptanmıştır. Bu olgularda *Bacteriodes* tespit edilememiştir. Bu olgularda *Bifidobacter* gibi *Veillonella*'ya da ilk hafta saptanmamıştır. Başka bir çalışmada saptanan düşük *Bifidobacter* düzeyinin antifungal olarak verilen miconazol ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (47). Ancak çalışmada antibiyotikle beraber mi yoksa tek başına kullanıldığında mı bu etkisi görülüyor, belirtilmemiştir. Bizim çalışmamızda antibiyotik alan olgularda ilk gün amplikon yoktu. 3.gün *Streptococcus*, *Enterobacter* ve *Raoultella* tespit edildi. 7.günde de *Enterococcus*, *Enterobacter* ve *Klebsiella* ilk sıradaydı ve *Klebsiella* bu gruptaki tek anaerob bakteriydi. Antibiyotik almayan olgularda gerek toplam bakteri sayısı gerekse de çeşitliliği antibiyotik alan gruba göre fazlaydı. *Bacteriodes*, *Lactobacillus* ve *Lactococcus* ilk günden itibaren florada izlenirken, yedinci günde *Bacteriodes* ve *Veillonella*'nın hızlı pikleri dengeli bir floranın oluşacağına işaretlerini veriyordu.

Açıklama [gg250]:
DGGE BANDINDAKİ KALINLIĞA BAĞLI YÜZDE OLARAK İFADE EDİLİYOR

Açıklama [gg251]:
intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. Pediatric Research vol.54, No 3, 2003

Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. Am J Infect Control 1993;21:231-4. 56.

Songjiinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. Biosci Biotechnol Biochem, 69 (3), 638-641, 2005

Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterstrom R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotics. J Antimicrob Chemother 1990;25:1081-1090. [... [80]

Açıklama [gg252]:
Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT & McMurdo ME (2004) Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. Appl Environ Microb 70 : 3575-3581. [... [81]

Açıklama [gg253]:
Droste JH, Wieringa MH, Weyler JJ, Nelen VJ, Vermeire PA & Van Bever HP (2000) Does the use of antibiotics in early childhood increase the risk of asthma and allergic disease? Clin Exp Allergy 30 : 1547-1553.

Kozyskyj AL, Ernst P & Becker AB (2007) Increased risk of asthma in children with early antibiotic exposure. J Allergy Clin Immunol 119 : 1181-1187. [... [82]

Açıklama [gg254]:
Tanaka S, Kobayashi T. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. FEMS Immunol Med Microbiol 56 : 2009 80-87

Açıklama [gg255]:
Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the gut microbiota in early infancy. Pediatrics 2006;118:511-21 52.

Gelişmekte olan ülkelerde infantlar, özellikle spontan vajinal doğum sonrasında yüksek oranlarda bakteriye maruz kalır ve bu durum bağırsağın kolonizasyon şeklini de etkilemektedir (47). Öyle ki bu ülkelerde, sezaryen ile doğan infantlarda da fekal bakteriyel floranın sıklıkla çevrelerinde olmasından dolayı *E. Coli*, *Bifidobacteria* ve *Bacteroides* gibi genellikle vajinal doğan olguların edindiği bakteriler ile gelişmiş ülkelerdeki yaşlılarına kıyasla daha erken karşılaşmaktadırlar (6). Adlerberth ve ark. (56) yaptığı çalışmada sezaryen ile doğan İsveç ve Pakistan'lı bebekler karşılaştırılmış, İsveç'li yenidoğanlarda *Enterobacter* ve *Streptococcus* türleri mekonyum örneklerinde 4-7. saatte tespit edilmiş, Pakistan'lı olgularda *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* kolonizasyonu doğumun ilk saatlerinden itibaren saptanmıştır. Yine bu olgularda anne sütü almalarına karşın 6. ayda hala durağan bir *E. coli* florası tespit edilememiştir. Bizim çalışmamızda olgularımızın altısının annesi köy ve ilçede ikamet etmekteydi. Bu olgularda, çalışmanın genel bulgularıyla uyumlu şekilde yedinci güne doğru tespit edilen bakteri çeşitliliği arttı. Birinci gün ilk sırada *Streptococcus*, *Escherichia* ve *Propionibacterium* cinsi bakteriler rastlandı. Ancak tür düzeyinde değerlendirdiğimizde *Escherichia coli* en çok tespit edilen bakteriydi. Üçüncü gün ise ilk sırada yine *Streptococcus* (*Streptococcus salivarius*) cinsi varken diğer hakim grubu *Bacteroides* (*Bacteroides vulgatus*) ve *Enterococcus* (*Enterococcus faecalis*) cinsine ait bakteriler oluşturmuyordu. Yedinci gün ise mutlak bir *Bacteroides* (*Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides clarus*, *Bacteroides ovatus*) hakimiyeti söz konusuydu. Bu grubu *Enterococcus* (*Enterococcus faecalis*), *Enterobacter* (*Enterobacter aerogenes*) takip ediyordu.

Gelişmiş ülkelerde ise gelişen kişisel ve çevresel hijyen koşulları nedeniyle özellikle sezaryen ile doğan bebekler, annelerinin vajen ve bağırsak florası ile direkt karşılaşmadığından *Bacteriodes*, *Bifidobacteria* ve *E. coli* ile karşılaşmaları gecikmektedir (45,47,60,62). Öyle ki bu olguların beklenen *E. coli* ve *Bacteriodes* kolonizasyonlarını sırasıyla 6 ve 12. ayda yakaladığı gösterilmiştir (62). Gelişmiş ülkelerde tespit edilen anaerobik dolayısıyla matür intestinal floranın stabilleşmesindeki bu gecikme daha yüksek katılımlı çalışmalar ile de doğrulanmıştır (45). Bizim çalışmamızda ailesi şehirde ikamet eden olgularımızın değerlendirilmesi sonucunda her üç taksonomik düzeyde de (filum, cins ve tür) şehir dışında yaşayan örneklere kıyasla sayısal gerilik söz konusuydu. Bu olgularda birinci gün sırasıyla en sık *Enterobacter* (*Enterobacter aerogenes*), *Escherichia* (*Escherichia coli*) ve *Streptococcus* (*Streptococcus salivarius*) türlerine rastlandı. Üçüncü gün sıralama *Escherichia* (*Escherichia coli*), *Enterobacter* (*Enterobacter aerogenes*), *Enterococcus* (*Enterococcus*

Açıklama [gg256]:
PendersJ,ThijsC,VinkC,StelmaFF,SnijdersB,KummelingI,etal.Factors influencing the composition of the bağırsak microbiota in early infancy. Pediatrics 2006;118:511-21
52.
AdlerberthI,StrachanDP,MatricardiPM,Ahrn ' eS,OrfeiL, °
AbergN,etal.Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007;120:343-50.
53.
AdlerberthI,LindbergE,AbergN,HessmarB,SaalmanR,StrannegardIL,etal.Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel:an effect of hygienic lifestyle? PediatrRes 2006;59:96-101.

Açıklama [gg257]:
Establishment of the gut microbiota in Western infants IAdlerberth,AEWold ActaPaediatrica ISSN0803-5253

Açıklama [gg258]: 51. AdlerberthI,CarlssonB,deManP,JalilF,KhanSR,LarssonP, etal.Bağırsak kolonizasyonu ile Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. Acta Paediatr Scand 1991;80:602-10.

Açıklama [gg259]:
BEŞ OLGU YIBUNDE İZLENMİŞTİ

Açıklama [gg260]:
32.HallMA,ColeCB,SmithSL,FullerR,RollersCJ.Factors influencing the presence of faecal lactobacilli on early infancy. ArchDisChild 1990;65:185-88.
34.
PendersJ,ThijsC,VinkC,StelmaFF,SnijdersB,Kummeling ... [83]

Açıklama [gg261]:
53.
AdlerberthI,LindbergE,AbergN,HessmarB,SaalmanR,StrannegardIL,etal.Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel:an effect of hygienic lifestyle? Pediatr ... [84]

Açıklama [gg262]:
AdlerberthI,StrachanDP,MatricardiPM,Ahrn ' eS,OrfeiL, °
AbergN,etal.Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007;120:343-50.

faecalis) şeklinde değışti. Yedinci gün *Escherichia* (*Escherichia coli*) hakimiyeti azalmakla birlikte devam ediyorken bu sefer sıralama oldukça değışti. Cins ve tür düzeyinde *Veillonella* (*Veillonella parvula*) ikinci sıradaydı. *Enterobacter* (*Enterobacter aerogenes*) cins düzeyinde üçüncü sıradayken *Klebsiella oxytoca* tür düzeyinde onu takip ediyordu. Annesi şehirde yaşayan olguların tamamı, annesi şehir dışında olan olguların dördü sezaryen ile doğmuştu. Özellikle annesi şehir dışında yaşayan ve doğal hayat ile daha yakın temas halinde olan olguların erken bağırsak kolonizasyon bulguları annesi şehirde ikamet eden yaşlıtlarından bakteri sayı ve çeşitliliği açısından oldukça farklıydı. Dolayısıyla bizim çalışmamız da kırsal ve az gelişmiş toplumlarda doğan olgularda anaerobik ve kapsamlı floranın daha çabuk oluştuğu hipotezini de desteklemektedir (45,62).

Sonuç olarak çalışmamızda yenidoğan bağırsak florasında ilk haftadan itibaren yoğun bakteri kolonizasyonu olduğu, bu bakterilerin çeşitliliğinin sıklıkla beslenme, hastaneye yatış ve antibiyotik kullanımından etkilendiği tespit edilmiştir. Tanımlayıcı nitelikteki bu çalışmanın ilerleyen dönemlerde yapılacak mikrobiyoflora araştırmalarında yol gösterici olacağı kanısına varılmıştır.

Açıklama [gg263]:
Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahm ' eS, Orfei L, °
Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007;120:343–50. 53.
Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? Pediatr Res 2006;59:96–101.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Tüm bulgular değerlendirildiğinde sekans analizi sonucunda 5 filum, 32 cins ve 80 türe ait 676 bakteri bulunmuştur. 676 bakterinin 322'si (%47,6) Firmicutes, 252'si (%37,3) Proteobacteria, 83'ü (%12,3) Bacteroidetes, 18'i (%2,7) Actinobacteria ve 1 tanesi (%0,1) Chloroflexi filumuna aitti.
2. En sık saptanan cinsler; *Streptococcus* (%26), *Escherichia* (%15,83), *Enterobacter* (%10,95), *Bacteroides* (%10,65) ve *Enterococcus* (%10,5) idi.
3. En sık tespit edilen bakteriler; *Escherichia coli* (%15,4), *Streptococcus salivarius* (%15,1), *Enterococcus faecalis* (%9,9), *Bacteroides vulgatus* (%9,3) ve *Enterobacter aerogenes* (%8,2) idi.
4. 1.gün 6 olguda 188, 3.gün 8 olguda 225 ve 7.gün 9 olguda 263 adet bakteri tespit edildi. Bakteri sayıları örnek alım günleri ilerledikçe arttı.
5. 1.gün 10 olgunun 6'nda 5 filum ve 11 cinse ait 188 bakteri saptandı. Cins düzeyinde en sık *Streptococcus* (% 41,5), *Escherichia* (%31,4), tür düzeyinde en sık; *Escherichia coli* (%29,8), *Streptococcus salivarius* (%23,4) izlendi.
6. 3.gün 9 olgudan 8'nde 4 filum ve 19 cinse ait 225 adet bakteri tespit edildi. En sık tespit edilen cinsler *Streptococcus* (%36), *Enterococcus* (%14), *Bacteriodes* (%12) idi. Tür düzeyinde en sık *Streptococcus salivarius* (%23,6), *Enterococcus faecalis* (%12,4), *Bacteroides vulgatus* (%11,1) izlendi.
7. 7.gün 9 olguda 4 filum ve 23 cinse ait 263 adet bakteri tespit edildi. Cins dağılımı; *Enterococcus* (%15,2), *Bacteriodes* (%15,2), *Veillonella* (%12,2) şeklindeydi. Tür düzeyinde en sık *Enterococcus faecalis* (%14,8), *Bacteroides vulgatus* (%12,5), *Escherichia coli* (%9,5) izlendi.
8. Çalışmamızdaki hiçbir örnekte *Bifidobacter* cinsine ait bakteri tespit edilmedi.
9. Çalışmamızda ilk günlerde saptanan belirli türlerin predominansı gerileyerek, yerini daha kalabalık ve çeşitli bakteri gruplarına bıraktı. 3 ve 7.günlerde asemptomatik olgularda *Salmonella* (*Salmonella enterica*), *Shigella* (*Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*) ve yedinci günde de yine asemptomatik olgularda *Clostridium* (*Clostridium paraputrificum*, *Clostridium*

perfringens, *Clostridium tertium*) türleri saptandı. Patojen bakterilerin asemptomatik olgularda erken florada düşük oranda olsa da saptanması, komplike floranın sınırlandırıcı ve koruyucu etkisi olarak yorumlandı.

10. Sezaryen ve vajinal doğan olgular toplam bakteri cinsleri açısından karşılaştırıldığında vajinal yol ile doğan olgularda ilk sırada *Bacteroides*, *Escherichia* ve *Enterococcus*; sezaryen ile doğan olgularda ise *Streptococcus*, *Enterobacter* ve *Escherichia* yer alıyordu. Sezaryen ile doğan olguların hiçbirinde *Bacteroides* cinsine ait bakteriye rastlanmadı. Çalışmamızda sezaryen ile doğan olgularda ilk gün anaerob bakteri izlenmezken yedinci günde %32,1 oranında tespit edildi. Bu artışın nedeni *Veillonella* türü bakterilerdeki artış olarak yorumlandı.

11. Anne sütü ile beslenen olgulardaki cins dağılımı 1.gün; *Escherichia* (%37,3), *Streptococcus* (%31), *Enterobacter* (%15,8); 3.gün *Streptococcus* (%26,7), *Enterococcus* (%15,4), *Bacteroides* (%14), *Escherichia* (%12), *Enterobacter* (%9,2) ve 7.gün *Escherichia* (%18,1), *Enterobacter* (%17,2), *Bacteroides* (%13,6), *Veillonella* (%9) idi.

12. Anne sütü alan olgularda tür dağılımı 1.gün *Escherichia coli* (%35,4), *Streptococcus salivarius* (%16,5), *Enterobacter aerogenes* (%14); *Streptococcus salivarius* (%18,5), *Enterococcus faecalis* (%13,8), *Bacteroides vulgatus* (%12,8), *Escherichia coli* (%11,8) ve 7.gün *Escherichia coli* (%18,1), *Enterobacter aerogenes* (%12,6), *Bacteroides vulgatus* (%10,1) şeklindeydi.

13. Bu çalışmada anne sütü alan olgularda ilk gün haricinde örneklerde *Staphylococcus* izole edildi. *Streptococcus* tüm günlerde yüksek düzeyde tespit edilirken, *Lactobacillus* cinsi bakteriler bir ve üçüncü günde tespit edildi. Yedinci günde bu bakteriye rastlanmadı. *Bacteriodes* grubunun oranı günler ilerledikçe arttı. Çalışmamızda kültürel yöntemler ile uyumlu olacak şekilde *Escherichia* cinsi bakteriler her üç günde de yüksek düzeyde saptandı. Daha önce yapılan moleküler çalışmalarda E.coli düşük veya yok olmasının nedeninin kullanılan spesifik primerlerin *Escherichia*'yı kapsamaması olarak yorumlandı. Farklı moleküler çalışmalarda ilk gün gaytasından izole edilen *Enterococcus* ve *Enterobacter* türleri bu çalışmada üç ve yedinci günlerde saptandı. Bizim çalışmamızda özellikle yedinci günde oluşan heterojen mikroflorada *Clostridium*, *E. coli*, *Veillonella* ve *Lactobasil* değişen oranlarda tespit edildi. Mutlak anaerob olan *Veillonella*, *Bacteriodes*, *Parabacteriodes* grubu

bakterilerin yedi gün gibi kısa bir sürede florada dominans göstermesi ise anne sütüyle beslenen infantlarda kapsamlı floranın daha kısa sürelerde oluştuğunun kanıtı olarak yorumlandı.

14. Anne sütü ve formül mama alan olgulardan biri anne yanında diğeri de yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendiğinden ayrı değerlendirildi. Anne yanında izlenen olgunun (Olgu 5) 1.gün 2 cinse ait (%96,6 *Streptococcus*, %3,4 *Lactococcus*), 3.gün 2 cinse ait (%96,7 *Streptococcus*, %3,3 *Enterococcus*) ve 7.gün yedi cinse ait (*Veillonella* %43,7, *Clostridium* %18,8, *Enterococcus* %12,5, *Escherichia* %9,4, *Streptococcus* %9,4, *Enterobacter* %3,1, *Staphylococcus* %3,1) bakteriler saptandı. 1.gün en sık rastlanan bakteriler *Streptococcus salivarius* (%60) ve *Streptococcus thermophilus* (%33,3) iken 3.gün *Streptococcus salivarius* (%56,7), *Streptococcus thermophilus* (%26,7) ve yedinci gün *Veillonella ratti* (%43,9), *Clostridium paraputrificum* (%15,6), *Enterococcus faecalis* (%9,4), *Escherichia coli* (%9,4) ve *Streptococcus parasanguinis* (%6,3) idi. YYBÜ’nde izlenen, anne sütü ve formül mama alan Olgu 7’de 1 ve 3.gün amplikona rastlanmadı. 7.gün gayta örneğinde 2 filum (%65,7 *Firmicutes*, %34,3 *Proteobacteria*) 3 cinse (*Enterococcus* %65,7, *Klebsiella* %31,2, *Enterobacter* %3,1) ait tespit edilen bakteriler *Enterococcus faecalis* (%65,7), *Klebsiella pneumoniae* (%28,1), *Enterobacter cloacae* (%3,1), *Klebsiella variicola* (%3,1) idi.

15. Anne yanında izlenen olgularda 1.gün 9, 3.gün 19 ve 7.gün 16 cinse ait bakteri saptandı. En sık rastlanan bakteriler 1.günde *Escherichia coli* (%35,4), *Enterobacter aerogenes* (%26,8), *Propionibacterium acnes* (%12,2), 3.günde *Enterococcus faecalis* (%24,5), *Escherichia coli* (%17,9), *Enterobacter aerogenes* (%10,4) ve 7.gün *Escherichia coli* (%15), *Enterococcus faecalis* (%13,3), *Parabacteroides distasonis* (%9,7) idi. Çalışmamızda anne yanında izlenen olgularda özellikle üçüncü günde cins ve tür düzeyinde artış saptandı.

16. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen olgularda 1.gün 6, 3.gün 8 ve 7.gün 17 cins bakteri tespit edildi. 1.gün en sık rastlanan bakteriler *Streptococcus salivarius* (%36,8), *Escherichia coli* (%25,5), *Streptococcus thermophilus* (%18,9), 3.gün *Streptococcus salivarius* (%44,5), *Bacteroides vulgatus* (%21), *Streptococcus thermophilus* (%13,5) ve 7.gün en sık rastlanan bakteriler *Bacteroides vulgatus* (%16,7), *Enterococcus faecalis* (%16), *Enterobacter aerogenes* (%10), *Veillonella ratti* (%9,3) idi.

17. YYBÜ’nde izlenen olgularda anaerobların **önceki çalışmaların** aksine yüksek oranda izlenmesi antibiyotik alan olguların sayıca az oluşu ve yeterli anne sütü alamayışlarıyla ilişkilendirildi.

18. Antibiyotik tedavisi verilen olgularda 1.gün amplikon yoktu. 3. gün tek olguda (Olgu 8) 3 cinse ait bakteriler tespit edildi. En sık rastlanılan bakteri % 80 ile *Streptococcus salivarius* idi. 7.gün olgu 7 ve 8’e ait toplam 8 cins bakteri tespit edildi. En sık rastlanılan bakteriler *Enterococcus faecalis* (%34,4), *Enterobacter aerogenes* (%24,6), *Klebsiella pneumoniae* (%15) idi.

19. Antibiyotik verilmeyen olgularda 1.gün 5 filuma ait 11 cins bakteri tespit edildi. En sık tespit edilen bakteriler *Escherichia coli* (%29,8), *Streptococcus salivarius* (%23,4), *Streptococcus thermophilus* (%12,2), *Enterobacter aerogenes* (%11,7) idi. 3.gün 4 filuma ait 19 cins bakteri saptandı. En sık *Streptococcus salivarius* (%15), *Enterococcus faecalis* (%14,4), *Bacteroides vulgatus* (%13), *Escherichia coli* (%12) tespit edildi. 7.gün 4 filum ve 19 cins bakteri tespit edildi, en sık rastlanılan bakteriler *Bacteroides vulgatus* (%16), *Escherichia coli* (%12,5), *Enterococcus faecalis* (%9), *Veillonella ratti* (%7) idi.

20. Aileleri şehir dışında ikamet eden olgularda 1.gün 9, 3.gün 11, ve 7.gün 18 cinse ait bakteri saptandı. 1.gün en sık tespit edilen bakteriler *Escherichia coli* (%32,0), *Streptococcus salivarius* (%29,0), *Streptococcus thermophilus* (%14,9), *Propionibacterium acnes* (%7,4), 3.gün en sık tespit edilen bakteriler *Streptococcus salivarius* (%35,3), *Bacteroides vulgatus* (%16,3), *Enterococcus faecalis* (%10,7), *Streptococcus thermophilus* (%10,7) ve 7.gün en sık tespit edilen bakteriler *Enterococcus faecalis* (%20), *Bacteroides vulgatus* (%17,4), *Enterobacter aerogenes* (%8), *Veillonella ratti* (%7,4) idi.

21. Ailesi şehirde ikamet eden olgularda 1.gün 7, 3.gün 13 ve 7.gün 14 cinse ait bakteriler tespit edildi. 1.gün en sık tespit edilen bakteriler *Enterobacter aerogenes* (%39,5), *Escherichia coli* (%24,5), *Streptococcus salivarius* (%9,4), 3.gün en sık tespit edilen bakteriler *Escherichia coli* (%25,4), *Enterococcus faecalis* (%16), *Enterobacter aerogenes* (%14,7) ve 7.gün en sık tespit edilen bakteriler *Escherichia coli* (%23,3), *Veillonella parvula* (%12,3), *Klebsiella oxytoca* (%11), *Enterobacter aerogenes* (%6,7) idi.

22. Şehir dışında yaşayan ve doğal hayat ile daha yakın temas halinde olan olguların erken bağırsak kolonizasyon bulguları şehirde ikamet eden yaşlılarından bakteri sayısı ve çeşitliliği

Açıklama [gg264]:

Schwartz A, Gruhl B. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. Pediatric Research vol.54, No 3, 2003

Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. Am J Infect Control 1993;21:231-4. 56.

açısından farklıydı. Dolayısıyla bizim çalışmamız da kırsal toplumlarda doğan olgularda anaerobik ve kapsamlı floranın daha çabuk oluştuğu hipotezini de desteklemektedir

23. Çalışmada tanımlanan bakteriler oksijen kullanımlarına göre değerlendirildiğinde 536'sı (%79,3) fakültatif anaerob, 115'i (%17) anaerob ve 25'i (%3,7) aerob idi. Fakültatif anaerob bakteriler çoğunlukta olsa da 3 ve 7.günlerdeki yüzdelerinde belirgin düşüş, buna karşın anaerob bakteri yüzdesinde kademeli bir artış saptandı

24. Vajinal yol ile doğan olgularda ilk gün belirlenen bakterilerin büyük çoğunluğu fakültatif anaerob iken, 3 ve 7.günlerdeki *Bacteroides* hakimiyeti ile birlikte anaerob oranları arttı

25. C/S ile doğan olgularda zamanla azalmakla birlikte her üç günde de fakültatif anaerob bakteri hakimiyeti mevcuttu. Yedinci gün %32,1 anaerob bakteri saptandı

26. Beslenme şekliyle bakterilerin oksijen kullanımı ilişkisini değerlendirdiğimizde 1 ve 3.günde anne sütü ve formül mama ile beslenen Olgu 5'de tespit edilen tüm bakteriler fakültatif anaerobdu. 7.günde ise fakültatif anaerob bakterilere ilaveten anaerob bakteriler de tespit edildi. Sadece anne sütü ile beslenen olgularda 1.gün % 95,6 fakültatif anaerob, % 3,2 anaerob ve % 1,2 aerob bakteri saptandı. 3.günde bu oran % 76,5 fakültatif anaerob, % 17,4 anaerob, % 6,1 aerob şeklinde değişti. 7.gün örneklerinde %66 fakültatif anaerob, %34 anaerob idi.

27. Anne yanında izlenen olgulardan 1.gün %97,6 fakültatif anaerob, %2,4 aerob bakteriler tespit edildi ve anaerob bakteriye rastlanmadı. 3.günde %85,8 fakültatif anaerob, %11,4 aerob ve % 2,8 anaerob bakteri izlendi. 7.günde %64,6 fakültatif anaerob, izlenirken anaerob bakterilerdeki artış belirgindi.

28. YYBÜ'nde izlenen olgularda 1.gün %95,2 fakültatif anaerob, %4,8 anaerob, 3.gün %77,3 fakültatif anaeroblar, %21,9 anaeroblar, %0,8 aerob ve 7.günde %60 fakültatif %29,3 anaerob ve %4,7 aerob bakteriler saptandı.

29. Antibiyotik verilen olgularda %70,3 fakültatif anaerob, %19,9 anaerob, %9,8 aerob bakterilere rastlandı. Antibiyotik verilmeyen olgularda ise bu oran sırasıyla %63,9, %34,1 ve %2 idi

30. Bizim çalışmamızda anne sütleri kolostrumu yansıtmaması ve bakteriyolojik açıdan daha matür olması amacıyla yedinci günde alındı. Anne sütlerinin hiçbirinden amplikon elde edilemedi. Sütlerden DNA ekstraksiyonu için iki ayrı yöntem kullanılmasına rağmen sonucun değişmediği görüldü. Mevcut durum bizi öncelikle sütlerde bakteri olmaması ihtimaline yönlendirdiğinden anne sütlerinden nonspesifik besiyerlerine direkt kültür ekimi yapıldı. Oluşan az miktarda koloniden (5-15 cfu/ml) izole edilen bakteriler Staphylococcus ve mikrokok cinsine aitti. Dolayısıyla çalışmamızda anne sütünden 16S rRNA amplifikasyonunun olmamasının nedeni; ilk haftada sütte bakteri yoğunluğunun az olması veya DNA ekstraksiyon yöntemlerinin yetersizliği olarak yorumlandı.

ÖZET

ANNE SÜTÜ VE YENİDOĞAN BAĞIRSAK FLORASININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE TESPİTİ

Açıklama [gg265]:
Analysis of breast milk and intestinal flora of the newborn by molecular techniques

Doğum öncesinde fetusun çeşitli yollardan kolonize olabileceği ve doğumdan hemen sonra mikroorganizmalar ile temas ederek florasını oluşturduğu bilinmektedir. Beslenme, doğum şekli, hospitalizasyon, prematürite, antibiyotik alımı ve gelişmişlik düzeyinin intestinal floraya etkisi birçok çalışmada araştırılmıştır.

Açıklama [gg266]:
As described before, the fetus can colonized before and after delivery. Colonization of intestinals will create the gut flora. The influence of type of feeding, mode of delivery, hospitalization, prematurity, administration of antibiotics and developmental structure of countries to the flora has investigated by several studies.

Floradaki bakterilerin %60-80'nin kültürü yapılamayan bakteriler olması nedeniyle günümüzde araştırmacılar moleküler genetik metodları tercih etmektedir. En sık kullanılan yöntemler FISH, 16S rRNA, DGGE ve TGGE'dir. 16S rRNA amplifikasyon ve klonlama sonrası sekans analizi diğer yöntemler ile kıyaslandığında sonuç verimliliği açısından daha avantajlıdır.

Açıklama [gg267]:
The investigators prefer molecular methods to analyze the intestinal flora because of the %60-80 of flora bacteria uncultured. FISH, 16S rRNA, DGGE and TGGE analysis usually performed by the investigators. Comparing to other methods, 16S rRNA amplification and cloning has advantages about results.

Çalışmadaki amacımız; hasta ve sağlıklı term yenidoğanların gayta ve anne sütü bakteri dağılımının moleküler yöntemler ile tespit edilerek anne sütü ve çevresel etkenlerle yenidoğan bağırsak florasında ilk haftada oluşan kolonizasyon değişikliklerinin belirlenmesidir.

Açıklama [gg268]:
The aim of this study is to analyze the flora of newborn and their mothers breast milk by molecular techniques and determine the dynamics of flora bacteria at the first week of life.

Çalışmaya 10 yenidoğan- anne çifti dahil edildi ve her yenidoğandan doğumunun 1, 3, 7.günlerinde gayta, annelerinden de 7.günde anne sütü alındı. Toplam 30 gayta ve 10 anne sütü örneğine 16S rRNA amplifikasyon ve klonlama sonrasında sekans analizi uygulandı ve analiz sonrasında mikroorganizma tiplendirilmesi yapıldı.

Açıklama [gg269]:
Ten baby-mother pairs were recruited for the study. Fecal samples were collected at 1, 3, 7. days and breast milk samples were collected at 7. days of life. Thirty fecal and 10 milk samples were analyzed by 16S rRNA amplification and cloning. After the sequencing we determined the characterization of microorganisms.

Anne sütlerinden DNA ekstraksiyonu için iki ayrı yöntem kullanılmasına rağmen ekstraksiyon gerçekleşmedi. Sütlerde bakteri olmaması ihtimali açısından nonspesifik besiyerlerine direkt kültür ekimi yapıldı ve az miktarda koloniye rastlandı.

Tanımlanan mikroorganizmalar örnek alım günleri, olguların doğum şekli, beslenme durumu, antibiyotik kullanımı, yoğun bakım veya anne yanında izlemi, gelişmişlik düzeyi ve bakterilerin oksijen kullanımları açısından değerlendirildi.

Açıklama [gg270]:
The effect of delivery mode, type of feeding, antibiotics, place of nursery (NICU or mother), developmental structures and the type of using oxygen by microorganisms are also investigated.

Yenidoğanda bakteri yoğunluğunun doğum sonrası 24. saatte başladığı ve günler ilerledikçe bakteri sayısı ve çeşitliliğinin arttığı görüldü. En sık rastlanılan cins *Streptococcus* (%26), en sık rastlanılan bakteri türü *Escherichia coli* (%15,4) idi. Çalışmamızdaki hiçbir

örnekte *Bifidobacter* cinsine ait bakteri tespit edilmedi. Asemptomatik olgularda *Salmonella*, *Shigella* ve *Clostridium* cinsi bakteriler özellikle 3 ve 7.günlerde tespit edildi.

Vajinal yol ile doğan olgularda en sık *Bacteroides*; sezaryen ile doğan olgularda en sık *Streptococcus* tespit edildi. Sezaryen ile doğan olgularda kommensal bir bakteri olan *Bacteroides*'e rastlanmadı.

Anne sütü alan olgularda yedinci günde oluşan heterojen mikroflorada *Clostridium*, *E. coli*, *Veillonella* ve *Lactobacillus* tespit edildi.

Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatışın ilk hafta florasının içeriğinde azalmaya neden olduğu tespit edildi. Bu olgularda mikroorganizma çeşitliliği de daha azdı.

Erken dönemde alınan antibiyotiklerin ilk hafta kolonizasyonunu özellikle 1 ve 3.günde azalttığı saptandı.

Anneleri şehir dışında yaşayan olgularda anaerobik ve kapsamlı flora erken dönemde oluştu.

Sonuç olarak çalışmamızda yenidoğan bağırsak florasında ilk haftadan itibaren yoğun bakteri kolonizasyonu olduğu, bu bakterilerin çeşitliliğinin sıklıkla beslenme, hastaneye yatış ve antibiyotik kullanımından etkilendiği tespit edilmiştir. Tanımlayıcı nitelikteki bu çalışmanın ilerleyen dönemlerde yapılacak mikroflora araştırmalarında yol gösterici olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: 16S rRNA, intestinal mikroflora, yenidoğan, anne sütü

Açıklama [gg271]:

The babies whose delivered by vaginally was colonized by *Bacteroides* and delivered by cesarean section was colonized by *Streptococcus* mostly. One of the commensal bacteria *Bacteroides* was never detected in fecal samples.

Açıklama [gg272]:

NICU nursery

SUMMARY

DETERMINATION OF INTESTINAL FLORA OF NEWBORN AND BREAST MILK USING MOLECULAR METHODS

It is well known that the fetus can be colonized in contact with the microorganisms after but also before delivery by many ways. Several studies were done that show many factors may affect intestinal flora including of feeding type, mode of delivery, hospitalization, prematurity, administration of antibiotics and the level of development of country.

A total of 60-80% of intestinal bacteria consist of uncultured bacteria for which reason the investigators prefer molecular methods to analyze the intestinal flora. The most used methods by the investigators are FISH, 16S rRNA, DGGE, TGGE analysis and sequences after cloning that have advantages compared to cultural methods.

The aim of this study was to analyze the fecal flora of newborn and breast milk flora of their mothers by molecular techniques and determine the dynamics of intestinal bacterial flora during the first week of life.

Ten baby-mother pairs were recruited for the present study. Fecal samples were collected at 1, 3, 7. days and breast milk samples were collected at 7. days after delivery. Thirty fecal and 10 milk samples were analyzed by 16S rRNA amplification and cloning. After analysis of sequencing results the bacterial flora was determined.

Although two distinct methods were used to extract DNA from breast milk. No 16S rRNA were amplified. Culture analysis of breastmilk showed very low quantity of colonies.

The bacteria defined by molecular method were classified by delivery mode, feeding type, antibiotic use, place of nursery (NICU or mother), life style, and oxygen use and analysed.

The results showed that the colonization started immediately after birth. The number and diversity of microorganisms increased day by day during the study. For all days

that samples were taken, the most detectable genus was *Streptococcus* (%26), the most detectable species was *Escherichia coli* (%15,4).

None of the samples was positive for *Bifidobacteria*. Pathogen bacteria like *Salmonella*, *Shigella* and *Clostridium* were positive in 10 % of the feces samples of asymptomatic babies, especially at third and seventh days after birth.

The most common bacteria were *Bacteroides* among vaginally delivered babies and *Streptococcus* among delivered by cesarean section. None of the fecal samples from cesarean section babies was positive for *Bacteroides*.

The breastfed babies had an heterogeneous intestinal flora at the seventh day of life which include *Clostridium*, *E. coli*, *Veillonella* and *Lactobacillus*.

Our study showed that stay at newborn intensive care unit at first week of life causes decrease in intestinal flora as well as the diversity of intestinal flora.

The colonisation of intestine at first week of life affected by antibiotic use especially at first and third day samples.

Our study indicated differences between intestinal flora of the babies of mothers who lives in countryside and cities; babies from countryside and low income had anaerobic heterogen flora than babies from city and high income.

We conclude that intestine of newborn is colonized intensively at the first week of the life. The diversity of bacterial flora is affected by alimentation type, stay at hospital, and use of antibiotics. Our study which defined establishment of intestinal flora during first week of life will be a base for further studies on intestinal flora.

Key words: 16S rRNA, intestinal microflora, newborn, breast milk

KAYNAKLAR

1. Jimenez E, Marin ML. Is meconium from healthy newborns actually sterile? Research in Microbiology 2008; 159: 187- 193.
2. Satokari R, Gronroos T, Laitinen K. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. Letters in Applied Microbiology 2009; 48: 8- 12.
3. Rotimi VO, Olowe SA, Ahmed I. The development of bacterial flora in premature neonates. J Hyg Camb 1985; 94: 309–18.
4. Simon GL, Gorbach SL. Intestinal flora in health and disease. Gastroenterology 1984; 86: 174-93.
5. Bengmark S. Ecological control of gastrointestinal tract: the role of the probiotic flora. Gut 1998; 42: 2- 7.
6. Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. Acta Pædiatrica 2008; ISSN 0803–5253.
7. Newburg DS, Walker AW. Protection of the Neonate by the Innate Immune System of Developing Gut and of Human Milk. Pediatric Research 2007; Vol.61:No.1.
8. Kalliomäki M, Kirjavainen P. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2001; 107: 129-134.
9. Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, Diabetes, and Gut Microbiota. The hygiene hypothesis expanded? Diabetes Care 2010; 33:2277–2284.
10. Solis G. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. Anaerobe 2010; 16: 307-310.
11. Huurre A, Kalliomäki M, Rautava S. Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity. Neonatology 2008; 93:236–240.

12. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7: 688–693.
13. O'Sullivan DJ. Methods for Analysis of the Intestinal Microflora. *Curr Issues Intest Microbiol* 2000; 1(2): 39-50.
14. Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nutr* 2008; 138:1791–1795.
15. Dominguez-Bello M G. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010 June 29; 107(26): 11971–11975.
16. Favier C. Molecular Monitoring of succession of Bacterial Communities in Human Neonates. *Microbiology* Jan 2002; 219-226.
17. Biasucci G. Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacteria. *J. Nutr* 2008; 138: 1796–1800.
18. Songjinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69 (3): 638-64.
19. Babalola OO. Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. *African Journal of Biotechnology* 2003;12: 710-713.
20. Wintzingerode F, Gobel UB. Determination of microbial diversity in enviromental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol.Rev.* 2006; 21, 213-229.
21. Park H K. Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant. *The Journal of Microbiology* 2005; 8: 345-353.
22. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology* 2007; 92: 64-66.
23. Martin R, Nauta AJ. Early life: gut microbiota and immune development in infancy. *Beneficial Microbes* 2010; 1(4): 367-382.

24. Mason KL, Huffnagle G.B, Noverr MC. Overview of gut immunology. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2008; 635: 1-14.
25. Neutra MR, Mantis NJ. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nature Immunology* 2001; 2: 1004-1009.
26. Neutra MR, Frey A, Kraehenbuhl JP. Epithelial M cells: gateways for mucosal infection and immunization. *Cell* 1996; 86: 345-348.
27. Strober W, Kelsall B. Oral tolerance. *Journal of Clinical Immunology* 1998; 18: 1-30.
28. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews Immunology* 2003; 3: 331-341.
29. Calder PC. Immunological parameters: what do they mean? *Journal of Nutrition* 2007; 137: 773-780.
30. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307: 1915-1920.
31. Roitt IB, Brostoff J, Male D. Immunology <http://www.roitt.com/els.asp>. 15.11.2011.
32. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual Reviews of Immunology* 2002; 20: 197-216.
33. Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 65-80.
34. He B, Xu W, Santini PA. Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 2007; 26: 812-826.
35. Wong OH, Huang FP. Differential responses of cord and adult blood-derived dendritic cells to dying cells. *Immunology* 2005; 116: 13-20.
36. Marchant A, Goldman M. T cell-mediated immune responses in human newborns: ready to learn? *Clinical and Experimental Immunology* 2005; 141: 10-18.

37. Aksu G, Genel F, Koturoglu G, Kurugol Z. Serum immunoglobulin (I, IgM, IgA) and I subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2006; 48: 19-24.
38. Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005;122: 107-118.
39. Macpherson AJ, Geuking MB, McKoy KD. Immune responses that adapt the bağırsak microbiota to commensal bağırsak bacteria. *Immunology* 2005; 115: 153-162.
40. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *British Medical Journal* 1989; 299: 1259-1260.
41. Singh M, Ranjan Das R. Probiotics for allergic respiratory diseases – putting it into perspective. *Pediatric Allergy and Immunology* 2010; 21: 368-376.
42. Brandtzaeg P. Food allergy: separating the science from the mythology. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 2010;7: 380-400.
43. Romagnani S. Coming back to a missing immune deviation as the main explanatory mechanism for the hygiene hypothesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007; 119: 1511-1513.
44. Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, Van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002;296: 490- 494.
45. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:343–50.
46. 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. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1999; 28: 19-25.
47. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118: 511-521.
48. Heikkilä MP, Saris PE. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology* 2003; 95: 471-478

49. Kirjavainen PV, Kalliomaki M, Salminen SJ. Postnatal effects of obstetrical epidural anesthesia on allergic sensitization. *Allergy* 2007; 62: 88-89.
50. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of faecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiol Immunol* 1984; 28: 975–86.
51. Orrhage K. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatr suppl* 1999;430:47-57.
52. Simhon A, Douglas JR, Drasar BS, Soothill JF. Effect of feeding on infant's faecal flora. *Arch Dis Child* 1982; 57: 54–8.
53. Naaber P, Klaus K, Sepp E, Bjorksten B, Mikelsaar M. Colonization of infants and hospitalized patients with *Clostridium difficile* and *Lactobacilli*. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 189–90.
54. Bennet R, Eriksson M, Tafari N, Nord CE. Intestinal bacteria of newborn Ethiopian infants in relation to antibiotic treatment and colonisation by potentially pathogenic Gram-negative bacteria. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 63–9.
55. Mata L J, Urrutia JJ. Intestinal colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. *Ann NY Acad Sci* 1971;176:93–109.
56. Adlerberth I, Carlsson B. Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:602–10.
57. Adlerberth I, Jalil F, Carlsson B, Mellander L, Hanson L. High turnover rate of *Escherichia coli* strains in the intestinal flora of infants in Pakistan. *Epidemiol Infect* 1998;121:587–98.
58. Sepp E, Naaber P. Development of the intestinal microflora during the first month of life in Estonian and Swedish infants. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2000;12:22–6.
59. Fanaro S, Chierici R. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr. Suppl* 2003; 441: 48-55.
60. Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli on early infancy. *Arch Dis Child* 1990;65:185–88.

61. Murono K, Fujita K, Yoshikawa M, Saijo M, Inyaku F, Kakehashi H. Acquisition of nonmaternal Enterobacteriaceae by infants delivered in hospitals. *J Pediatr* 1993; 122: 120–5.
62. Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006; 59: 96–101.
63. Adlerberth I, Hanson L. The ontogeny of the intestinal flora. Development of the gastrointestinal tract. Hamilton, Ontario: B.C. Decker Inc. 1999:279–92.
64. Ahrne S, Lonnermark E, Wold AE, Aberg N. Lactobacilli in the intestinal microbiota of Swedish infants. *Microbes Infect* 2005;7:1256–62.
65. Vaela C, Desagerb K. The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. *Curr Opin Pediatr* 2009; 21:794–800.
66. Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. *Am J Infect Control* 1993;21:231–4.56.
67. Hallstrom M, Eerola E, Vuento R, Janas M, Tammela O. Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:463–70.
68. Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterstrom R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:533–9.
69. Adlerberth I. Establishment of anormal intestinal flora in the newborn infant. Hanson LA, Yolken RH. Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Nestle Nutrition Workshop Series, no 42. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999:63–78.
70. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur JPediatr* 1985;144:186–90.
71. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birth weight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999;80:167–73.

72. Claud EC, Allan Walker A. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEBJ* 2001;15:1398–403.
73. Mackie RI, Sghir A, Gaskin HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999;69Suppl:1035S–45S.
74. Wang M, Ahrne S, Antonsson M, Molin G. T-RFLP combined with principal component analysis and 16SrRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of fecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Methods* 2004;59:53–69.
75. Shanahan F. The host–microbe interface within the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 915–931.
76. Xu J, Gordon JI. Inaugural Article: Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100: 10452–10459.
77. Weinstein PD, Cebra JJ. The preference for switching to IgA expression by Peyer’s patch germinal center B cells is likely due to the intrinsic influence of their microenvironment. *J Immunol* 1991;147: 4126–4135.
78. Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1046–1051.
79. Tezcan Fİ. İntestinal immun sistem. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2007; 3(6): 65-7.
80. Kültürsay N. Bebeklikte barsak florası gelişimi ve immün sisteme etkileri. *Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Dergisi* 2009; 3: 75-8.
81. Jimenez E, Fernandez L. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy meonates born by Cesarean section. *Current Microbiology* 2005; 51:270-274.
82. Hong PY, Lee BW. Comparative analysis of fecal microbiota in infants with and without eczema. *PLoS ONE* 2010; 5: 9964.
83. Zetterstrom R, Bennet R, Nord CE. Early infant feeding and microecology of the gut. *Acta Paediatr Japon* 1994; 36: 562–71

84. Orskow F, Sorenson KB. *Escherichia coli* serogroups in breast-fed and bottle-fed infants. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1975; 83: 25–30.
85. Rotimi VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol* 1981;14:51–62.24.
86. Stark PL, LeeA. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. *J Med Microbiol* 1982; 15: 189–203.
87. Yoshioka H, Iseki K, Fujita J. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breastfed and bottlefed infants. *Pediatrics* 1983; 72: 317–21.
88. Persson KM, Bjerre B, Elfstrom L, Polberger S, ForsgrenA. Faecal carriage of group B streptococci. *EurJ Clin Microbiol* 1986; 5: 156–9.
89. Mitsuoka T, Kaneuchi C. Ecology of the bifidobacteria. *Am J Clin Nutr* 1977; 30: 1799–810.
90. Mevissen-Verhage EA, Marcelis JH. *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, and *Clostridium* spp.in fecal samples from breast-fed and bottle-fed infants with and without iron supplement. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 285–9.
91. Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE. Normal indigenous intestinal flora. In: Hentges DJ, editors. *Human intestinal microflora in health and disease*. London:AcademicPress 1983: 3–31.
92. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5:177.
93. Bezirtzoglou E, Maipa V, Chotoura N. Occurrence of *Bifidobacterium* in the intestine of newborns by fluorescence in situ hybridization. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2006;29:345–52.
94. Magne F, Hachelaf W, Suau A. A longitudinal study of infant faecal microbiota during weaning. *FEMS Microbiol Ecol*.2006; 58: 563–71.

95. Hopkins MJ, Macfarlane GT, Furrie E, Fite A, Macfarlane S. Characterisation of intestinal bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiol Ecol* 2005; 54: 77–85.
96. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000; 30: 61–7.
97. Stewart JA, Chadwick VS, Murray A. Carriage, quantification, and predominance of methanogens and sulfate-reducing bacteria in faecal samples. *Lett Appl Microbiol* 2006; 43: 58–63.
98. Fallani M, Rigottier-Gois L, Aguilera M, Bridonneau C. *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* species detected in infant faecal microbiota using 16S rRNA targeted probes. *J Microbiol Methods* 2006; 67: 150–61.
99. Turrone F, Ribbera A, Foroni E. Human gut microbiota and bifidobacteria: from composition to functionality. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 94: 35–50.
100. Round JL, Mazmanian S.K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology* 2009; 9: 313-323.
101. Bjorksten B. Disease outcomes as a consequence of environmental influences on the development of the immune system. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 2009; 9: 185-189.
102. Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and inflammation in the intestine. *Cell* 2010; 140: 859-870.
103. He F, Ouwehand AC, Isolauri E. Comparison of mucosal adhesion and species identification of bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2001; 30: 43-47.
104. Penders J, Stobberingh EE, Thijs C. Molecular fingerprinting of the intestinal microbiota of infants in whom atopic eczema was or was not developing. *Clinical and Experimental Allergy* 2006; 36: 1602-1608.

105. Ly N, Ruiz-Perez B, Onderdonk A. Mode of delivery and cord blood cytokines: a birth cohort study. *Clinical and Molecular Allergy* 2006; 4: 13.
106. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet* 2001;357: 1076-1079.
107. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007; 119: 192-198.
108. Giongo A, Gano KA, Neu J. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *International Society for Microbial Ecology* 2011; 5, 82–91
109. Newburg DS. Innate Immunity and Human Milk. *American Society for Nutritional Sciences* 2005;135, s.1308-1312.
110. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine* 2003; 21:3382–3388.
111. Rautava S, Walker WA. Academy of Breastfeeding Medicine Founder's Lecture 2008: Breastfeeding—An Extrauterine Link Between Mother and Child. *Breastfeeding Medicine* 2009; 4: 1
112. Atkinson SA. Human milk feeding of the micropremie. *Clin Perinatol* 2000; 27(1):235-47.
113. Spear HJ. Breastfeeding & support. *AWHONN Lifelines*.2005; 9:181-3.
114. Pickering LK, Baker CJ, Long SS, McMillan JA. American Academy of Pediatrics. Human milk. In : *Red Book : Report of the Committee on Infectious Diseases*. 26th ed. Elk Grove Village, IL : American Academy of Pediatrics; 2003;117
115. Darragh A. Human Milk. Massey University, Palmerston North, New Zealand Elsevier Science. 2002;1350-1360.
116. Martin R, Langa S, Reviriego C, Jimenez E. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics* 2003; 143: 754-758.

117. Martin R, Langa S, Reviriego C, Jimenez E. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends in Food Science and Technology* 2004; 15: 121-127.
118. Kawada M, Okuzumi K, Hitomi S, Sugishita C. Transmission of *Staphylococcus aureus* between healthy, lactating mothers and their infants by breast feeding. *J Hum Lact* 2003;19: 411-7.
119. Martin R, Jimenez E, Heilig H. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 2009; 75: 965-969.
120. Perez PF, Dore J, Leclerc M. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 2007;119: 724-732.
121. Fernandez L, Marin M, Langa SA. Novel genetic label for detection of specific probiotic lactic acid bacteria. *Food Science and Technology International* 2004; 10: 101-108.
122. Reid G, Howard J, ve Gan BC. Can bacterial interference prevent infection? *Trends in Microbiology* 2001; 9: 424-428.
123. Vael C. The importance of the Development of the intestinal microbiota in infancy. *Curr Opin Pediatr* 2009;21: 794-800.
124. Hur IA. Method for Comparing Multiple Bacterial Community Structures from 16S rDNA Clone Library Sequences. *The journal of Microbiology* 2004; 3: 9-13.
125. Rondon MR. The Earth's bounty: assessing and accessing soil microbial diversity. *Trends in Biotechnology* 1999; 17: 403-409
126. Collado MC, Delgado S, Maldonado A. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology* 2009; 48: 523-528.
127. Martin R. Cultivation independent assesment of bacterial diversity of breastmilk among healthy women. *Research in Microbiology* 2007; 158:31-37.

128. Martín V. Sharing of Bacterial Strains Between Breast Milk and Infant Feces. *J Hum Lact* 2012; 28: 36.
129. Jiménez E. *Staphylococcus epidermidis*: A differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiol* 2008;8: 143.
130. Lundequist B, NordCE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 45–51.
131. Kleessen B, Bunke H, Tovar K, Noack J, Sawatzki G. Influence of two infant formulas and human milk on the development of the faecal flora in newborn infants. *Acta Paediatr* 1995; 84: 1347–56.
132. Balmer SE. Diet and faecal flora in the newborn: breast milk and infant formula. *Arch Dis Child* 1989;64:1672-7.
133. Chierici R. Experimental milk formulae with reduced protein content and desialylated milk proteins: influence on the faecal flora and the growth of term newborn infants. *Acta paediatr* 1997;86:557-63.
134. Yoshioka H, Fujita K, Sakata H, Muro K, Isaeki K. Development of the normal intestinal flora and its clinical significance in infants and children. *Bifidobact Microflora* 1991; 10: 11–7.
135. Roberts AK, Chierici R, Sawatzki G, Hill MJ, Volpato S, Vigi V. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin: 1. Effect on the infant faecal flora. *Acta Paediatr* 1992; 81: 119–24.
136. Mitsuoka T. Recent trend in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1982; 1: 3–24.
137. George M, Nord KE, Ronquist G, Hedenstierna G, Wiklund L. Faecal microflora and urease activity during the first six months of infancy. *Ups J Med Sci* 1996; 101: 233–50.
138. Kay B, Fuller R, Wilkinson AR, Hall MA, McMichael JE, Cole CB. High levels of staphylococci in the faeces of breast-fed babies. *Microb Ecol Health Dis* 1990; 3: 277–9.

139. EL-Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery:relationship to human milk use and systemic sepsis. *Am J Infect Control* 1993; 21: 231–4.
140. Grönlund MM. Maternal breast milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clinical and Experimental Allergy* 2007; 37: 1764-1772.
141. Echarri P.P. Assesment of intestinal microbiota of full term breast fed infants from two different geographical locations. *Early Human Development* 2011;87: 511-513.
142. Mitsou EK. Fecal microflora of Greek healthy neonates. *Anaerobe* 2008;14: 94– 101.
143. Shi HN, Walker A. Bacterial colonization and the development of intestinal defences. *Can J Gastroenterol* 2004;18: 493–500.
144. Qutaishat SS, Stemper ME, Spencer SK. Transmission of Salmonella enterica serotype typhimurium DT104 to infants through mother’s breast milk. *Pediatrics* 2003;111:1442-1446.
145. Neu J. Cesarean versus vaginal delivery: long term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clin perinatolo* 2011; 38:321-331.
146. Bennet R, Nord CE. Development of the faecal anaerobic microfora after caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. *Infection* 1987; 15: 332–6.
147. Neut C. Bacterial colonization of the large intestine in newborns delivery by cesarean section. *Zentralbl Bacteriol Microbiol Hyg* 1987; 266: 330- 7.
148. Bezirtzoglou E, Ramond C. Occurance of bifidobacterium in the feces of newborns delivered by cesarean section. *Biol Neonate* 1990; 58: 247- 51
149. Schwartz A, Gruhl B. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatric Research* 2003; 54: 3
150. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, McMurdo ME. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by

using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl Environ Microb* 2004; 70 : 3575–3581.

151. Droste JH, Wieringa MH, Weyler JJ, Nelen VJ, Vermeire PA, Van Bever HP. Does the use of antibiotics in early childhood increase the risk of asthma and allergic disease? *Clin Exp Allergy* 2000;30 : 1547–1553.

152. Kozyrskyj AL, Ernst P, Becker AB. Increased risk of childhood asthma from antibiotic use in early life. *Chest* 2007; 131: 1753–1759.

153. Kummeling I, Stelma FF, Dagnelie PC, Snijders BE, Penders J, Huber M. Early life exposure to antibiotics and the subsequent development of eczema, wheeze, and allergic sensitization in the first 2 years of life: the KOALA Birth Cohort Study. *Pediatrics* 2007; 119:225–231.

154. Tanaka S, Kobayashi T. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 56: 80-87

155. Watson J. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection among healthy newborns. *JAMA* 2006; 296:36-38.

Ek. 1

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR METNİ

“Anne sütünün ve yenidoğan barsak florasının moleküler yöntemlerle tespiti ” başlıklı çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan ve Hastalıkları Bilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı tarafından yürütülmektedir.

Bu çalışmada yenidoğan yoğunbakım servisine olan anne sütleri doğum sonrası 7. günde ve bu annelerin bebeklerinden dışkı örnekleri doğum sonrası 1, 3, 7. günlerde alınacak ve anne sütündeki bakterilerin hangilerinin bebeğe geçtiği tespit edilmeye çalışılacaktır.

Bu işlemler sırasında çocuğa herhangi bir ilaç uygulanmayacak, canı yanmayacaktır.

Çalışmada kullanılacak testler ve diğer tetkiklerin ücretleri tarafımıza ve kurumunuza ödettirilmeyecektir. Tüm çalışma boyunca tarafımızdan karşılanacaktır.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik Araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı, İmzası, Tarih, Adresi (telefon no, varsa faks no.)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı, İmzası, Tarih, Adresi (telefon no varsa faks no)

Açıklamalar yapan araştırmacının Adı, İmzası, Tarih

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı, İmzası, Tarih, Görevi:

* Çalışmadaki gönüllülere sunulan bilgilendirilmiş olur metni formlarının gönüllüler tarafından bizzat kendilerinin kendi adı-soyadını yazması ve imzalamasının sağlanması ile adreslerinin eksiksiz olarak formlara yazılmasına dikkat.

+ Bu belgenin birer kopyası gönüllüye ve hekime verilecek ve hasta dosyasına eklenecektir.

Ek. 3

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

1. Aşağıda imzası olan ben “Anne sütünün ve yenidoğan barsak florasının moleküler yöntemlerle tespiti ” başlıklı çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.
2. Bu çalışmayı yürüten Dr. Gül Güner Nar çalışmanın yapısı, amacı ve muhtemel süresi, ne yapmam istendiği ve yan etkilerle karşılaşsam ne yapmam gerektiği hakkında ayrıntılı sözlü ve yazılı bilgi verdi.
3. Dr.Gül Güner Nar’a çalışmasıyla ilgili her soruyu sorma fırsatını buldum. Cevapları ve bana verilen bilgiyi anladım.
4. Dr. Gül Güner Nar’a hastalığımızın geçmişini ve kullandığım ilaçları anlattım ve onu bu bilgilerin ayrıntılarını açıklamaya, hasta ve doktor arasındaki sırları koruması şartıyla yetkili kılıyorum.
5. Çalışma boyunca tüm kurallara uyacağıma, Dr.Gül Güner Nar ile tam bir uyum içinde çalışacağıma ve sağlığımla ilgili herhangi bir sorun çıktığında hemen onu arayacağımı kabul ediyorum.
6. Bu çalışmanın sonuçlarının kullanılmasını kısıtlamayacağımı ve özellikle dünya çapında tıp yetkililerine verebileceğini kabul ediyorum.
7. Bu çalışmadan istediğim zaman çıkabileceğimi anladım.

OKUDUM VE ONAYLADIM.

Hastanın adı, soyadı, adresi .

İmza, tarih :

Doktorun adı, soyadı, adresi :

İmza, tarih :

Tanığın adı, soyadı, adresi :

İmza, tarih :

* Çalışmadaki gönüllülere sunulan bilgilendirilmiş olur formunun gönüllüler tarafından bizzat kendilerinin kendi adı-soyadını yazması ve imzalamasının sağlanması ile adreslerinin eksiksiz olarak formlara yazılmasına dikkat edilmelidir.

* Bu belgenin birer kopyası gönüllüye ve hekime verilecek ve hasta dosyasına eklenecektir.

Ek 4.**Olgu Rapor Formu**

Yenidoğan Bilgileri:			
Adı- Soyadı:		Cinsiyet(K/E)	
Doğum Tarihi ve Saati:		Gestasyon Haftası:	
Doğum Şekli:		ADÜ Dosya No:	Grubu(Ç/K):
Adres: günü:		Telefon:	Örnek alım
Anne Bilgileri:			
Anne Adı- Soyadı:		Eğitim Durumu (OY değil/OY/İlköğretim/ Lise/	
Üniversite/Lisansüstü/Doktora):			
Akraba Evliliği: Büyükşehir):		Yaşadığı yerleşim birimi (Köy/Kasaba/ Şehir/	
Gebelik sayısı (G/P/A/DC):		Hamilelikte Geçirdiği Hastalıklar:	
Hamilelikte Kullanılan İlaçlar:		Erken/Uzamış Membran Ruptürü Öyküsü:	
Hamilelikte Probiyotik/Prebiyotik Gıda Kullanımı:		Doğum Sonrası Probiyotik/Prebiyotik Gıda Kullanımı:	
Doğum Öyküsü:			
Tanı:		YDYBÜ'ne Kabul Ediliş Saati:	Kullanılan antibiyotik(ler):
Mekanik Ventilator Desteği(Evet/Hayır):			
Beslenme Şekli :	O Anne sütü	O Formula	O TPN
Kullanılan formülada prebiyotik varlığı:			
İzole Edilen Mikroorganizmalar (Sıklık sırasına göre):			
Anne sütü:	1. Gün Bebek Gaitası	3. Gün Bebek Gaitası	7. Gün Bebek Gaitası
1-.....	1-.....	1-.....	1-.....
2-.....	2-.....	2-.....	2-.....
3-.....	3-.....	3-.....	3-.....
4-.....	4-.....	4-.....	4-.....
6-.....	6-.....	6-.....	6-.....
7-.....	7-.....	7-.....	7-.....
8-.....	8-.....	8-.....	8-.....
9-.....	9-.....	9-.....	9-.....
10-.....	10-.....	10-.....	10-.....

Ek 5.

Olguların 1, 3, 7. gün gaytalarında sekans analizi sonucunda elde edilen bakteri türleri

1. Olgu-1. Gün	n (%)	1. Olgu-3. Gün	n (%)	1. Olgu-7. Gün	n (%)
<i>Escherichia coli</i>	13 (50)	<i>Escherichia coli</i>	17 (74)	<i>Escherichia coli</i>	17 (70,8)
<i>Streptococcus salivarius</i>	5 (19)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2 (8,8)	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	2 (8,2)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	3 (11,5)	<i>Lactobacillus casei</i>	1 (4,3)	<i>Salmonella enterica</i>	1 (4,2)
<i>Lactobacillus paracase</i>	1 (3,9)	<i>Salmonella enterica</i>	1 (4,3)	<i>Shigella sonnei</i>	1 (4,2)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1 (3,9)	<i>Shigella flexneri</i>	1 (4,3)	<i>Streptococcus salivarius</i>	1 (4,2)
<i>Escherichia fergusonii</i>	1 (3,9)	<i>Shigella sonnei</i>	1 (4,3)	<i>Citrobacter diversus</i>	1 (4,2)
<i>Escherichia hermannii</i>	1 (3,9)			<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (4,2)
<i>Propionibacterium granulosum</i>	1 (3,9)				
TOPLAM	26 (100)	TOPLAM	23 (100)	TOPLAM	24 (100)
2. Olgu-1. Gün	n (%)	2. Olgu-3. Gün	n (%)	2. Olgu-7. Gün	n (%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	21 (77,8)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	11 (44)	<i>Veillonella parvula</i>	9 (39,1)
<i>Citrobacter freundii</i>	3 (11,1)	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	3 (12)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	4 (17,4)
<i>Enterobacter ludwigii</i>	1 (3,7)	<i>Acinetobacter bereziniae</i>	2 (8)	<i>Veillonella tobetsuensis</i>	3 (13)
<i>Raoultella planticola</i>	1 (3,7)	<i>Acinetobacter bouvetii</i>	2 (8)	<i>Citrobacter freundii</i>	2 (8,8)
<i>Streptococcus infantis</i>	1 (3,7)	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1 (4)	<i>Veillonella dispar</i>	2 (8,8)
		<i>Citrobacter freundii</i>	1 (4)	<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (4,3)
		<i>Enterobacter hormaechei</i>	1 (4)	<i>Enterobacter hormaechei</i>	1 (4,3)
		<i>Enterobacter ludwigii</i>	1 (4)	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1 (4,3)
		<i>Escherichia coli</i>	1 (4)		
		<i>Averyella dalhousiensis</i>	1 (4)		
		<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1 (4)		
TOPLAM	27 (100)	TOPLAM	25 (100)	TOPLAM	23 (100)
3. Olgu-1. Gün	n (%)	3. Olgu-3. Gün	n (%)	3. Olgu-7. Gün	n (%)
AMPLİKON YOK	0 (0)	<i>Enterococcus faecalis</i>	12 (44,4)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	8 (30,8)
		<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	5 (18,5)	<i>Clostridium perfringens</i>	3 (11,6)

		<i>Streptococcus oralis</i>	3 (11,2)	<i>Enterobacter cloacae</i>	3 (11,6)
		<i>Rothia mucilaginosa</i>	2 (7,4)	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	3 (11,6)
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2 (7,4)	<i>Citrobacter freundii</i>	2 (7,8)
		<i>Streptococcus mitis</i>	1 (3,7)	<i>Edwardsiella tarda</i>	1 (3,8)
		<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (3,7)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (3,8)
		<i>Escherichia coli</i>	1 (3,7)	<i>Enterobacter asburiae</i>	1 (3,8)
				<i>Serratia marcescens</i>	1 (3,8)
				<i>Veillonella dispar</i>	1 (3,8)
				<i>Enterobacter ludwigii</i>	1 (3,8)
				<i>Enterococcus faecalis</i>	1 (3,8)
TOPLAM	0 (0)	TOPLAM	27 (100)	TOPLAM	26 (100)
4. Olgu-1. Gün	n (%)	4. Olgu-3. Gün	n (%)	4. Olgu-7. Gün	n (%)
<i>Escherichia coli</i>	16 (55,3)	<i>Enterococcus faecalis</i>	14 (45,2)	<i>Enterococcus faecalis</i>	14 (35)
<i>Propionibacterium acnes</i>	10 (34,5)	<i>Enterococcus durans</i>	3 (9,7)	<i>Parabacteroides distasonis</i>	11 (27,5)
<i>Corynebacterium accolens</i>	1 (3,4)	<i>Staphylococcus aureus</i>	3 (9,7)	<i>Bacteroides vulgatus</i>	8 (20)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (3,4)	<i>Staphylococcus hominis</i>	2 (6,5)	<i>Bacteroides clarus</i>	5 (12,5)
<i>Sphaerobacter thermophilus</i>	1 (3,4)	<i>Veillonella parvula</i>	2 (6,5)	<i>Bacteroides ovatus</i>	1 (2,5)
		<i>Bacteroides uniformis</i>	1 (3,2)	<i>Bacteroides stercorisoris</i>	1 (2,5)
		<i>Janibacter sanguinis</i>	1 (3,2)		
		<i>Micrococcus terreus</i>	1 (3,2)		
		<i>Paracoccus chinensis</i>	1 (3,2)		
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (3,2)		
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 (3,2)		
		<i>Veillonella dispar</i>	1 (3,2)		
TOPLAM	29 (100)	TOPLAM	31 (100)	TOPLAM	40 (100)
5. Olgu-1. Gün	n (%)	5. Olgu-3. Gün	n (%)	5. Olgu-7. Gün	n (%)
<i>Streptococcus salivarius</i>	18 (60)	<i>Streptococcus salivarius</i>	17 (56,7)	<i>Veillonella ratti</i>	14 (43,8)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	10 (33,4)	<i>Streptococcus thermophilus</i>	8 (26,7)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	5 (15,6)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 (3,3)	<i>Streptococcus sanguinis</i>	3 (10)	<i>Escherichia coli</i>	3 (9,4)
<i>Lactococcus garvieae</i>	1 (3,3)	<i>Streptococcus mitis</i>	1 (3,3)	<i>Enterococcus faecalis</i>	3 (9,4)

		Enterococcus faecalis	1 (3,3)	Streptococcus parasanguinis	2 (6,3)
				Clostridium tertium	1 (3,1)
				Enterobacter cloacae	1 (3,1)
				Staphylococcus epidermidis	1 (3,1)
				Streptococcus thermophilus	1 (3,1)
				Enterococcus avium	1 (3,1)
TOPLAM	30(100)	TOPLAM	30 (100)	TOPLAM	32 (100)
7. Olgu-1. Gün	n (%)	7. Olgu-3. Gün	n (%)	7. Olgu-7. Gün	n (%)
AMPLİKON YOK	0 (0)	AMPLİKON YOK	0 (0)	Enterococcus faecalis	21 (65,6)
				Klebsiella pneumoniae	9 (28,2)
				Enterobacter cloacae	1 (3,1)
				Klebsiella variicola	1 (3,1)
TOPLAM	0 (0)	TOPLAM	0 (0)	TOPLAM	32 (100)
8. Olgu-1. Gün	n (%)	8. Olgu-3. Gün	n (%)	8. Olgu-7. Gün	n (%)
AMPLİKON YOK	0 (%)	Streptococcus salivarius	24 (80)	Enterobacter aerogenes	15 (51,71)
		Enterobacter aerogenes	3 (10)	Raoultella omithinolytica	3 (10,34)
		Streptococcus thermophilus	2 (6,7)	Citrobacter freundii	2 (6,9)
		Raoultella omithinolytic	1 (3,3)	Klebsiella oxytoca	2 (6,9)
				Raoultella planticola	2 (6,9)
				Enterobacter cloacae	1 (3,45)
				Erwinia amylovora	1 (3,45)
				Kluyvera cryocrescens	1 (3,45)
				Raoultella terrigena	1 (3,45)
				Streptococcus salivarius	1 (3,45)
TOPLAM	0 (0)	TOPLAM	30 (100)	TOPLAM	29 (100)
9. Olgu-1. Gün	n (%)	9. Olgu-3. Gün	n (%)	9. Olgu-7. Gün	n (%)
Streptococcus salivarius	21 (52,5)	Streptococcus salivarius	12 (41,4)	Staphylococcus epidermidis	7 (26)
Streptococcus thermophilus	10 (25)	Streptococcus thermophilus	6 (20,7)	Streptococcus thermophilus	5 (18,5)
Streptococcus vestibularis	8 (20)	Staphylococcus epidermidis	6 (20,7)	Streptococcus salivarius	3 (11,1)
Streptococcus anginosus	1 (2,5)	Enterococcus faecalis	1 (3,44)	Streptococcus parasanguinis	2 (7,4)
		Streptococcus suis	1 (3,44)	Veillonella dispar	2 (7,4)

		Veillonella parvula	1 (3,44)	Blautia luti	1 (3,7)
		Streptococcus lactarius	1 (3,44)	Corynebacterium simulans	1 (3,7)
		Staphylococcus capitis	1 (3,44)	Gemella haemolysan	1 (3,7)
				Rothia mucilaginosa	1 (3,7)
				Staphylococcus hominis	1 (3,7)
				Streptococcus lactarius	1 (3,7)
				Streptococcus mitis	1 (3,7)
				Veillonella parvula	1 (3,7)
TOPLAM	40 (100)	TOPLAM	29 (100)	TOPLAM	27 (100)
10. Olgu-1. Gün	n (%)	10. Olgu-3. Gün	n (%)	10. Olgu-7. Gün	n (%)
Escherichia coli	27 (75)	Bacteroides vulgatus	25 (83,4)	Bacteroides vulgatus	25 (83,3)
Bacteroides vulgatus	5 (13,8)	Escherichia coli	4 (13,3)	Escherichia coli	5 (16,7)
Lactobacillus murinus	1 (2,8)	Bacteroides dorei	1 (3,3)		
Enterobacter cloacae	1 (2,8)				
Enterobacter hormaechei	1 (2,8)				
Escherichia fergusonii	1 (2,8)				
TOPLAM	36 (100)	TOPLAM	30 (100)	TOPLAM	30 (100)

Ek 6.

Tanımlanan bakterileri tür adı, sekans sonucunda saptanan sayıları ve toplamdaki yüzdeleri (n=80)

Tür adı	Sayı	(%)	Tür adı	Sayı	(%)
<i>Escherichia coli</i>	104	15,38	<i>Acinetobacter bereziniae</i>	2	0,3
<i>Streptococcus salivarius</i>	102	15,09	<i>Acinetobacter bouvetii</i>	2	0,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	67	9,91	<i>Averyella dalhousiensis</i>	1	0,15
<i>Bacteroides vulgatus</i>	63	9,32	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1	0,15
<i>Enterobacter aerogenes</i>	56	8,28	<i>Bacteroides dorei</i>	1	0,15
<i>Streptococcus thermophilus</i>	45	6,66	<i>Bacteroides ovatus</i>	1	0,15
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15	2,22	<i>Bacteroides stercorisoris</i>	1	0,15
<i>Veillonella ratti</i>	14	2,07	<i>Bacteroides uniformis</i>	1	0,15
<i>Veillonella parvula</i>	13	1,92	<i>Blautia luti</i>	1	0,15
<i>Enterobacter cloacae</i>	11	1,63	<i>Citrobacter diversus</i>	1	0,15
<i>Parabacteroides distasonis</i>	11	1,63	<i>Clostridium tertium</i>	1	0,15
<i>Citrobacter freundii</i>	10	1,48	<i>Corynebacterium accolens</i>	1	0,15
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	1,48	<i>Corynebacterium simulans</i>	1	0,15
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	1,48	<i>Edwardsiella tarda</i>	1	0,15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	1,33	<i>Enterobacter asburiae</i>	1	0,15
<i>Streptococcus vestibularis</i>	8	1,18	<i>Enterococcus avium</i>	1	0,15
<i>Raoultella ornithinolytic</i>	8	1,18	<i>Erwinia amylovora</i>	1	0,15
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	8	1,18	<i>Escherichia hermannii</i>	1	0,15
<i>Veillonella dispar</i>	6	0,89	<i>Gemella haemolysan</i>	1	0,15

<i>Clostridium paraputrificum</i>	5	0,74	<i>Haemophilus influenzae</i>	1	0,15
<i>Bacteroides clarus</i>	5	0,74	<i>Janibacter sanguinis</i>	1	0,15
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	4	0,59	<i>Klebsiella variicola</i>	1	0,15
<i>Streptococcus sanguinis</i>	4	0,59	<i>Khuyvera cryocrescens</i>	1	0,15
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	3	0,44	<i>Lactobacillus casei</i>	1	0,15
<i>Clostridium perfringens</i>	3	0,44	<i>Lactobacillus murinus</i>	1	0,15
<i>Enterobacter ludwigii</i>	3	0,44	<i>Lactobacillus paracase</i>	1	0,15
<i>Enterobacter hormaechei</i>	3	0,44	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1	0,15
<i>Enterococcus durans</i>	3	0,44	<i>Lactococcus garvieae</i>	1	0,15
<i>Raoultella planticola</i>	3	0,44	<i>Micrococcus terreus</i>	1	0,15
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	0,44	<i>Paracoccus chinensis</i>	1	0,15
<i>Rothia mucilaginosa</i>	3	0,44	<i>Propionibacterium granulosum</i>	1	0,15
<i>Staphylococcus hominis</i>	3	0,44	<i>Raoultella terrigena</i>	1	0,15
<i>Streptococcus mitis</i>	3	0,44	<i>Shigella flexneri</i>	1	0,15
<i>Streptococcus oralis</i>	3	0,44	<i>Serratia marcescens</i>	1	0,15
<i>Veillonella tobetsuensis</i>	3	0,44	<i>Sphaerobacter thermophilus</i>	1	0,15
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	0,3	<i>Staphylococcus capitis</i>	1	0,15
<i>Streptococcus lactarius</i>	2	0,3	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0,15
<i>Shigella sonnei</i>	2	0,3	<i>Streptococcus infantis</i>	1	0,15
<i>Salmonella enterica</i>	2	0,3	<i>Streptococcus anginosus</i>	1	0,15
<i>Escherichia fergusonii</i>	2	0,3	<i>Streptococcus suis</i>	1	0,15

Ek 7.

Mikroorganizmaların Taksonomik Sınıflaması



Sayfa 2: [1] Açıklama [gg11]	Gül Güner	29.09.2012 02:59:00
14-Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. J Nutr 2008; 138:1791S-1795S.		
Sayfa 2: [2] Açıklama [gg12]	Gül Güner	29.09.2012 02:46:00
15-Dominguez-Bello M. G.,Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 June 29; 107(26): 11971–11975. Microbiology		
Sayfa 2: [3] Açıklama [gg13]	Gül Güner	29.09.2012 02:48:00
16-Favier C. Molecular Monitoring of succession of Bacterial Communities in Human Neonates. Microbiology, Jan 2002. P. 219-226		
Sayfa 2: [4] Açıklama [gg14]	Gül Güner	29.09.2012 02:50:00
17-Biasucci G. Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacteria. J. Nutr. 138: 1796S–1800S, 2008.		
Sayfa 2: [5] Açıklama [gg15]	Gül Güner	29.09.2012 02:51:00
18-Songjiinda P. Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of japanese infants. Biosci.,Biotechnol. Biochem., 69 (3), 638-641, 2005		
Sayfa 2: [6] Açıklama [gg16]	Gül Güner	29.09.2012 02:52:00
19-Babalola O.O. Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. African Journal of Biotechnology Vo l. 2 (12), pp. 710-713, December 2003		
20-Wintzingerode F. Gobel U.B. determination of microbial diversity in enviromental samples:pitfalls of PCR-based rRNA analysis. FEMS Microbiol. Rev. 21, 213-229		
Sayfa 2: [7] Açıklama [gg17]	Gül Güner	29.09.2012 02:55:00
21-Park H K., Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant. The journal of microbiology, August 2005, p.345-353		
Sayfa 2: [8] Açıklama [gg18]	Gül Güner	29.09.2012 02:56:00
22-Gueimonde, M., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2007. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? Neonatology 92: 64-66.		
Sayfa 12: [9] Açıklama [gg52]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak kolonizasyonu of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93–109.		
26. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Bağırsak kolonizasyonu with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. Acta Paediatr Scand 1991;80:602–10.		
42. Adlerberth I, Jalil F, Carlsson B, Mellander L, Hanson L ° A, Larsson P, et al. High turnover rate of Escherichia coli strains in the bağırsak flora of infants in Pakistan. Epidemiol Infect 1998;121:587–98.		
54. Rotimi VO, Olowe SA, Ahmed I. The development of bacterial flora in premature neonates. J Hyg Camb 1985;94: 309–18.		
57. Bennet R, Eriksson M, Tafari N, Nord C-E. Bağırsak bakterileri of newborn Ethiopian infants in relation to antibiotic treatment and colonization with potentially pathogenic Gram-negative bacteria. Scand J Infect Dis 1991;23: 63–9.		
Sayfa 12: [10] Açıklama [gg53]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
42. Adlerberth I, Jalil F, Carlsson B, Mellander L, Hanson L ° A, Larsson P, et al. High turnover rate of Escherichia coli strains in the bağırsak flora of infants in Pakistan. Epidemiol Infect 1998;121:587–98.		

22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. *Ann NY Acad Sci* 1971; 176:93–109.

52. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrn 'e S, Orfei L, °
Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120:343–50.

57. Bennet R, Eriksson M, Tafari N, Nord C-E. Bağırsak bacteria of newborn Ethiopian infants in relation to antibiotic treatment and colonization with potentially pathogenic Gram-negative bacteria. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 63–9.

Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli on early infancy. *Arch Dis Child* 1990; 65:185–88.

40. Bennet R, Nord CE. Development of the faecal anaerobic micro?ora after caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. *Infection* 1987; 15: 332–6

Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli on early infancy. *Arch Dis Child* 1990; 65: 185–88.

Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118: 511–21.

Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrn 'e S, Orfei L, Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 343–50.

Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006; 59: 96–101.

Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrn 'e S, Orfei L, Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 343–50.

Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006; 59: 96–101.

51. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Bağırsak colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80: 602–10.

Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80: 602–10.
Rotimi VO, Olowe SA, Ahmed I. The development of bacterial flora in premature neonates. *J Hyg Camb* 1985; 94: 309–18.

Weinstein PD, Cebra JJ (1991) The preference for switching to IgA expression by Peyer's patch germinal center B cells is likely due to the intrinsic influence of their microenvironment. *J Immunol* 147: 4126–4135

Cebra JJ (1999) Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 69: 1046S–1051S

Shanahan F (2002) The host–microbe interface within the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 16: 915–931

Sayfa 17: [19] Açıklama [gg92]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

6-Saevedra JM. Nutrition in clinical practice 2007; 22: 351-65
Tezcan Fİ. İntestinal immun sistem. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2007; 3(6): 65-7.

7-Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease
Gastroenterology 2009; 136: 65-80

O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7:688–693

Sayfa 18: [20] Açıklama [gg93]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Satokari, R., Gronroos, T., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2009. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Letters in Applied Microbiology* 48: 8-12.

Jimenez, E., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in Microbiology* 159: 187-193.

Jimenez E. Fernandez L. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord Blood of healthy meonates born by Cesarean section. *Current Microbiology* vol. 51 (2005), pp.270-274

Sayfa 18: [21] Açıklama [gg94]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Hong, P.Y., Lee, B.W., Aw, M., Shek, L.P., Yap, G.C., Chua, K.Y. and Liu, W.T., 2010. Comparative analysis of fecal microbiota in infants with and without eczema. *PLoS ONE* 5: e9964.

Jimenez, E., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in Microbiology* 159: 187-193.

Satokari, R., Gronroos, T., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2009. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Letters in Applied Microbiology* 48: 8-12.

Sayfa 18: [22] Açıklama [gg95]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

10. Brook I, Barrett C, Brinkman C, Martin W, Finegold S. Aerobic and anaerobic bacterial flora of the maternal cervix and newborn gastric fluid and conjunctiva: a prospective study. *Pediatrics* 1979; 63: 451–5

11. Zetterstrom R, Bennet R, Nord CE. Early infant feeding and micro-ecology of the gut. *Acta Paediatr Japon* 1994; 36: 562–71

Sayfa 18: [23] Açıklama [gg101]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Early life: gut microbiota and immune development in infancy. R. Martin¹, A.J. Nauta¹, K. Beneficial Microbes, December 2010; 1(4): 367-382

Sayfa 18: [24] Açıklama [gg102]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

6.Adlerberth I.Establishment of a normal gastrointestinal microflora in the newborn infant. In: Hanson LA °, Yolken RH, editors. Probiotics, other nutritional factors and gastrointestinal microflora. Nestle Nutrition Workshop Series, no 42. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999: 63–78.

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.
22. MataLJ,UrrutiaJJ.Bağırsakcolonizationofbreastfed childreninaruralareaoflowsocio-economiclevel. AnnNY AcadSci 1971;176:93–109.
23. RotimiVO,DuerdenBI.Thedevelopmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
- 24.

StarkPL, LeeA. Themicrobialecolofyofthelargebowelof breast-fedandformula-fedinfantsduringthefirstyearoflife. J MedMicrobiol 1982;15:189–203.

25.

YoshiokaH,IsekiK,FujitaJ.Developmentanddifferencesof bağırsakfloraintheneonatalperiodinbreastfedand bottlefedinfants. Pediatrics 1983;72:317–21.

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.
23. RotimiVO,DuerdenBI.Thedevelopmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
26. AdlerberthI,CarlssonB,deManP,JalilF,KhanSR,Larsson P,etal.BağırsakcolonizationwithEnterobacteriaceaein PakistaniandSwedishhospitaldeliveredinfants. Acta PaediatrScand 1991;80:602–10.

6-Saevedra JM. Nutrition in clinical practice 2007; 22: 351-65

Tezcan Fİ. İntestinal immun sistem. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2007; 3(6): 65-7.

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.
23. RotimiVO,DuerdenBI.Thedevelopmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
25. YoshiokaH,IsekiK,FujitaJ.Developmentanddifferencesof bağırsakfloraintheneonatalperiodinbreastfedand bottlefedinfants. Pediatrics 1983;72:317–21.

22. MataLJ,UrrutiaJJ.Bağırsakcolonizationofbreastfed childreninaruralareaoflowsocio-economiclevel. AnnNY AcadSci 1971;176:93–109.
23. RotimiVO,DuerdenBI.Thedevelopmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.
24. StarkPL, LeeA. Themicrobialecolofyofthelargebowelof breast-fedandformula-fedinfantsduringthefirstyearoflife. J MedMicrobiol 1982;15:189–203.
25. YoshiokaH,IsekiK,FujitaJ.Developmentanddifferencesof bağırsakfloraintheneonatalperiodinbreastfedand bottlefedinfants. Pediatrics 1983;72:317–21.

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.
29. MitsuokaT,KaneuchiC.Ecolofyofthebifidobacteria. AmJ ClinNutr 1977;30:1799–810.
30. Mevissen-VerhageEA,MarcelisJH,deVosMN, Harmsen-vanAmerongenWC,VerhoefJ.Bifidobacterium, Bacteroides,andClostridiumssp.infecalsamplesfrom breast-fedandbottle-fedinfantswithandwithoutiron supplement. JClinMicrobiol 1987;25:285–9.

3. Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE. Normal indigenous bağırsak flora. In: Hentges DJ, editors. Human bağırsak microflora in health and disease. London: Academic Press, 1983:3–31.
21. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
30. Mevissen-Verhage EA, Marcelis JH, de Vos MN, Harmsen-van Amerongen WC, Verhoef J. Bifidobacterium, Bacteroides, and Clostridium spp. in fecal samples from breast-fed and bottle-fed infants with and without iron supplement. J Clin Microbiol 1987;25:285–9.
31. Rotimi VO, Duerden BI. Bacteroides species in the normal neonatal faecal flora. J Hyg Camb 1981;87:299–304.

21. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
23. Rotimi VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. J Med Microbiol 1981;14:51–62.
30. Mevissen-Verhage EA, Marcelis JH, de Vos MN, Harmsen-van Amerongen WC, Verhoef J. Bifidobacterium, Bacteroides, and Clostridium spp. in fecal samples from breast-fed and bottle-fed infants with and without iron supplement. J Clin Microbiol 1987;25:285–9.

6. Adlerberth I. Establishment of a normal bağırsak microflora in the newborn infant. In: Hanson LA, Yolken RH, editors. Probiotics, other nutritional factors and bağırsak microflora. Nestle Nutrition Workshop Series, no 42. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999:63–78.
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93–109.
24. Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. J Med Microbiol 1982;15:189–203.

32. Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli in early infancy. Arch Dis Child 1990;65:185–88.

21. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93–109.

21. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. Microbiol Immunol 1984;28:975–86.
22. Mata LJ, Urrutia JJ. Bağırsak colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. Ann NY Acad Sci 1971;176:93–109.
24. Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. J Med Microbiol 1982;15:189–203.

Sayfa 20: [36] Açıklama [gg117]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

21. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak microflora of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. *Microbiol Immunol* 1984;28:975–86.

Sayfa 21: [37] Açıklama [gg123]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nutr* 2008; 138:1791S–1795S. An interesting summary of the results obtained with DNA methods on faecal samples of infants including the limitations of these data and the potential bias introduced by these molecular techniques.

Sayfa 21: [38] Açıklama [gg124]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, *et al.* Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5:e177.

Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nutr* 2008; 138:1791S–1795S. An interesting summary of the results obtained with DNA methods on faecal samples of infants including the limitations of these data and the potential bias introduced by these molecular techniques.

Sayfa 21: [39] Açıklama [gg125]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, *et al.* Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5:e177.

Sayfa 21: [40] Açıklama [gg126]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

33. Hopkins MJ, Macfarlane GT, Furrie E, Fite A, Macfarlane S. Characterisation of bağırsak bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiol Ecol* 2005;54:77–85.
34. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, *et al.* Factors influencing the composition of the bağırsak microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118: 511–21.
35. Wang M, Ahrne S, Antonsson M, Molin G. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of faecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Methods* 2004;59:53–69.

Sayfa 21: [41] Açıklama [gg127]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

33. Hopkins MJ, Macfarlane GT, Furrie E, Fite A, Macfarlane S. Characterisation of bağırsak bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiol Ecol* 2005;54:77–85.
35. Wang M, Ahrne S, Antonsson M, Molin G. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of faecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Methods* 2004;59:53–69.
36. Fallani M, Rigottier-Gois L, Aguilera M, Bridonneau C, Collignon A, Edwards CA, *et al.* *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* species detected in infant faecal microbiota using 16S rRNA targeted probes. *J Microbiol Methods* 2006;67:150–61.

Sayfa 21: [42] Açıklama [gg128]	Gül Güner	28.09.2012 02:07:00
--	------------------	----------------------------

35. Wang M, Ahrne S, Antonsson M, Molin G. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of faecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Methods* 2004;59:53–69.

37. FavierCF, VaughanEE, DeVosWM, AkkermansAD. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:219–26.

Sayfa 21: [43] Açıklama [gg129]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Hopkins MJ, Macfarlane GT, Furrie E, et al. Characterisation of bağırsak bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiol Ecol* 2005; 54:77–85.

Sayfa 21: [44] Açıklama [gg130]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

35. WangM, AhrneS, AntonssonM, MolinG. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of fecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Methods* 2004;59:53–69.

Sayfa 25: [45] Açıklama [gg147]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

50. MartinR, LangaS, ReviriegoC, JimenezE, MarinML, XausJ, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *JPediatr* 2003;143:754–8.

51. KawadaM, OkuzumiK, HitomiS, SugishitaC. Transmission of *Staphylococcus aureus* between healthy, lactating mothers and their infants by breastfeeding. *J Hum Lact* 2003;19:411–7.

Sayfa 25: [46] Açıklama [gg149]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J. ve Rodríguez M.J., 2004, The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: *Trends in Food Science and Technology*, 15, s.12–27

Sayfa 26: [47] Açıklama [gg150]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Martin, R., Jimenez, E., Heilig, H., Fernandez, L., Marin, M.L., Zoetendal, E.G. and Rodriguez, J.M., 2009. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 965-969.

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics* 143: 754-758.

Sayfa 26: [48] Açıklama [gg151]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J. ve Rodríguez M.J., 2004, The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: *Trends in Food Science and Technology*, 15, s.12–27

Sayfa 26: [49] Açıklama [gg153]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Perez, P.F., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., Segura-Roggero, I., Schiffrin, E.J. and Donnet-Hughes, A., 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 119: e724-e732.

Fernandez, L., Marín, M., Langa, S., Martin, R., Reviriego, C., Fernandez, A., Olivares, M., Xaus, J. and Rodriguez, J., 2004. A novel genetic label for detection of specific probiotic lactic acid bacteria. *Food Science and Technology International* 10: 101-108.

Sayfa 26: [50] Açıklama [gg154]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Olivares, M., Boza, J., Jimenez, J., Fernandez, L., Xaus, J. and Rodriguez, J., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends in Food Science and Technology* 15: 121-127

Sayfa 26: [51] Açıklama [gg156]

Gül Güner

28.09.2012 02:07:00

Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Olivares M., Boza J., Jiménez J., Fernández L., Xaus J. ve Rodríguez M.J., 2004, The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics: Trends in Food Science and Technology, 15, s.12–27.

Sayfa 91: [52] Açıklama [gg166]

Gül Güner

25.09.2012 17:50:00

Babalola O.O. Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. African Journal of Biotechnology Vo l. 2 (12), pp. 710-713, December 2003

Wintzingerode F. Gobel U.B. determination of microbial diversity in enviromental samples:pitfalls of PCR-based rRNA analysis. FEMS Microbiol. Rev. 21, 213-229

Sayfa 91: [53] Açıklama [gg167]

Gül Güner

30.09.2012 14:49:00

O’Sullivan D. J. Methods for Analysis of the Intestinal Microflora. Curr. Issues Intest. Microbiol. (2000) 1(2): 39-50.

Babalola O.O. Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. African Journal of Biotechnology Vo l. 2 (12), pp. 710-713, December 2003

Sayfa 92: [54] Açıklama [gg168]

Gül Güner

30.09.2012 14:55:00

Collado, M.C., Delgado, S., Maldonado, A. and Rodriguez, J.M., 2009. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. Letters in Applied Microbiology 48: 523-528.

Gueimonde, M., Laitinen, K., Salminen, S. and Isolauri, E., 2007. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? Neonatology 92: 64-66.

Heikkila, M.P. and Saris, P.E., 2003. Inhibition of Staphylococcus aureus by the commensal bacteria of human milk. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. Journal of Pediatrics 143: 754-758.

Martin, R., Jimenez, E., Heilig, H., Fernandez, L., Marin, M.L., Zoetendal, E.G. and Rodriguez, J.M., 2009. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. Applied and Environmental Microbiology 75: 965-969.

Perez, P.F., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., Segura-Roggero, I., Schiffrin, E.J. and Donnet-Hughes, A., 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 119: e724-e732.

Sayfa 92: [55] Açıklama [gg169]

Gül Güner

30.09.2012 14:40:00

Heikkila, M.P. and Saris, P.E., 2003. Inhibition of Staphylococcus aureus by the commensal bacteria of human milk. Journal of Applied Microbiology 95: 471-478

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Xaus, J., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M., 2003. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. Journal of Pediatrics 143: 754-758.

Sayfa 92: [56] Açıklama [gg170]

Gül Güner

30.09.2012 14:40:00

Martin, R., Langa, S., Reviriego, C., Jimenez, E., Marin, M.L., Olivares, M., Boza, J., Jimenez, J., Fernandez, L., Xaus, J. and Rodriguez, J., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. Trends in Food Science and Technology 15: 121-127.

Perez, P.F., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., Segura-Roggero, I., Schiffrin, E.J. and Donnet-Hughes, A., 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 119: e724-e732.

Sayfa 93: [57] Açıklama [gg178]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

Lundequist B, NordCE, Winberg J. The composition of the faecal microflorain breastfed and bottle fed infants from birth to eightweeks. Acta Paediatr Scand 1985; 74: 45–51

Kleessen B, Bunke H, Tovar K, Noack J, Sawatzki G. Influence of two infant formulas and human milk onthe developmentof the faecal flora in newborn infants. Acta Paediatr1995; 84: 1347–56

Sayfa 93: [58] Açıklama [gg181]

Gül Güner

30.09.2012 15:30:00

Chierici R. Experimental milk formulae with reduced protein content and desialylated milk proteins: influence on the faecal flora and the growth of term newborn infants. Acta paediatr 1997;86:557-63

Sayfa 93: [59] Açıklama [gg183]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

Yoshioka H, Fujita K, Sakata H, Muro K, Isaeki K. Develop-ment of the normal intestinal flora and its clinical significance in infants and children. Bifidobact Microflora 1991; 10: 11–7.

Sayfa 93: [60] Açıklama [gg184]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. Pediatrics 1983; 72: 317–21.

Sayfa 93: [61] Açıklama [gg185]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

Mitsuoka T, Kaneuchi C. Ecology of the bifidobacteria. Am J Clin Nutr 1977; 30: 1799–810.

Mitsuoka T. Recent trend in research on intestinal flora. Bifidobacteria Microflora 1982; 1: 3–24.

Sayfa 94: [62] Açıklama [gg187]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

Lundequist B, NordCE, Winberg J. The composition of the faecal microflorain breastfed and bottle fed infants from birth to eightweeks. Acta Paediatr Scand 1985; 74: 45–51

Kleessen B, Bunke H, Tovar K, Noack J, Sawatzki G. Influence of two infant formulas and human milk onthe developmentof the faecal flora in newborn infants. Acta Paediatr1995; 84: 1347–56

Sayfa 94: [63] Açıklama [gg188]

Gül Güner

30.09.2012 22:25:00

Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. Microbiol Immunol 1984; 28: 975–86.

Stark PL, Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. J Med Microbiol 1982; 15: 189–203.

Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE. Normal indigenous intestinal flora. In: Hentges DJ, editor. Human intestinal microflora in health and disease. New York: Academic Press; 1983: 3–31.

Sayfa 94: [64] Açıklama [gg190]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

George M, Nord KE, Ronquist G, Hedenstierna G, Wiklund L. Faecal microflora and urease activity during the first six months of infancy. Ups J Med Sci 1996; 101: 233–50.

Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. Acta Pædiatr Scand 1985; 74: 45–51.

Kay B, Fuller R, Wilkinson AR, Hall MA, McMichael JE, Cole CB. High levels of staphylococci in the faeces of breast-fed babies. Microb Ecol Health Dis 1990; 3: 277–9

Sayfa 94: [65] Açıklama [gg191]

Gül Güner

30.09.2012 15:15:00

12. Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal micro?ora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 45–51

Sayfa 94: [66] Açıklama [gg192] Gül Güner 30.09.2012 15:15:00

EL-Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery:relationship to human milk use and systemic sepsis. *Am J Infect Control* 1993; 21: 231–4.

Sayfa 94: [67] Açıklama [gg193] Gül Güner 30.09.2012 15:15:00

Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 45–51

Sayfa 94: [68] Açıklama [gg194] Gül Güner 30.09.2012 15:15:00

8. Chierici R, Sawatzki G, Thurl S, Tovar K, Vigi V. Experimental milk formulae with reduced protein content and desialylated milk proteins—in?uence on the faecal ?ora and the growth of term newborn infants. *Acta Paediatr* 1997; 86: 557–63

13. Roberts AK, Chierici R, Sawatzki G, Hill MJ, Volpato S, Vigi V. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin: 1. Effect on the infant faecal ?ora. *Acta Paediatr* 1992; 81: 119–124

Sayfa 94: [69] Açıklama [gg195] Gül Güner 30.09.2012 15:15:00

Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 45–51

Sayfa 98: [70] Açıklama [gg213] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

Mackie RI, Sghir A & Gaskins HR (1999) Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 69 : 1035S–1045S.
Songjinda P, Nakayama J, Kuroki Y, Tanaka S, Fukuda S, Kiyohara C, Yamamoto T, Izuchi K, Shirakawa T & Sonomoto K (2005) Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. *Biosci Biotech Bioch* 69 : 638–641.
Shi HN & Walker A (2004) Bacterial colonization and the development of intestinal defences. *Can J Gastroenterol* 18 : 493–500.

Sayfa 98: [71] Açıklama [gg214] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

Mata LJ, Urrutia JJ. Intestinal colonization of breastfed children in a rural area of low socio-economic level. *Ann NY Acad Sci* 1971; 176: 93–109.
24. Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. *J Med Microbiol* 1982; 15: 189–203.

Sayfa 98: [72] Açıklama [gg215] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE. Normal indigenous bağırsak flora. In: Hentges DJ, editors. *Human bağırsak mikroflorası in health and disease*. London: Academic Press, 1983: 3–31.
21. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The bağırsak mikroflorası of infants: composition of the fecal flora in breastfed and bottlefed infants. *Microbiol Immunol* 1984; 28: 975–86.
30. Mevissen-Verhage EA, Marcelis JH, de Vos MN, Harmsen-van Amerongen WC, Verhoef J. Bifidobacterium, Bacteroides, and Clostridium spp. in fecal samples from breast-fed and bottle-fed infants with and without iron supplement. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 285–9.
31. Rotimi VO, Duerden BI. Bacteroides species in the normal neonatal faecal flora. *J Hyg Camb* 1981; 87: 299–304.

Sayfa 98: [73] Açıklama [gg216] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. J Nutr 2008; 138:1791S-1795S.

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, *et al.* Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol 2007; 5:e177.

Sayfa 98: [74] Açıklama [gg217] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.

29. MitsuokaT,KaneuchiC.Ecologyofthebifidobacteria. AmJ ClinNutr 1977;30:1799–810.

30. Mevissen-VerhageEA,MarcelisJH,deVosMN, Harmsen-vanAmerongenWC,VerhoefJ.Bifidobacterium, Bacteroides,andClostridiumssp.infecalsamplesfrom breast-fedandbottle-fedinfantswithandwithoutiron supplement. JClinMicrobiol 1987;25:285–9.

Sayfa 98: [75] Açıklama [gg218] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.

23. RotimiVO,DuerdenBI.Thedevelopmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.

30. Mevissen-VerhageEA,MarcelisJH,deVosMN, Harmsen-vanAmerongenWC,VerhoefJ.Bifidobacterium, Bacteroides,andClostridiumssp.infecalsamplesfrom breast-fedandbottle-fedinfantswithandwithoutiron supplement. JClinMicrobiol 1987;25:285–9.

Sayfa 98: [76] Açıklama [gg219] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. Adv Pediatr. 1999;46:353-82

Mackie R. I. , Development microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am. J. Clin. Nutr. 69: 1035S-1045S.

Bunların olduğu kaynak" molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates

Sayfa 98: [77] Açıklama [gg220] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

21. BennoY,SawadaK,MitsuokaT.Thebağırsakmicrofloraof infants:compositionofthefecalflorainbreastfedand bottlefedinfants. MicrobiolImmunol 1984;28:975–86.

23. RotimiVO,DuerdenBI.Thedevelopmentofthebacterial florainnormalneonates. JMedMicrobiol 1981;14:51–62.

30. Mevissen-VerhageEA,MarcelisJH,deVosMN, Harmsen-vanAmerongenWC,VerhoefJ.Bifidobacterium, Bacteroides,andClostridiumssp.infecalsamplesfrom breast-fedandbottle-fedinfantswithandwithoutiron supplement. JClinMicrobiol 1987;25:285–9.

Sayfa 102: [78] Açıklama [gg241] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

Martin V. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. J. Human Lact 2012 28:36

Songjinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of japanese infants. Biosci.,Biotechnol. Biochem., 69 (3), 638-641, 2005

Sayfa 102: [79] Açıklama [gg243] Gül Güner 25.09.2012 17:50:00

MohandesAE,KeiserJF,JohnsonLA,RefatM,JacksonBJ. Aerobesisolatedinfecalmicrofloraofinfantsintheintensive carenursery:relationship tohumanmilkuseandsystemic sepsis. AmJInfectControl 1993;21:231–4. 56.

HallstromM,EerolaE,VuentoR,JanasM,TammelaO. [Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants](#)

. EurJ Clin Microbiol Infect Dis 2004;23:463–70.

Neut C, Bezirtzoglou E, Romond C, Beerens H, Delcroix M, Noel AM. Bacterial colonization of the large intestine in newborns delivered by cesarean section. Zbl Bakt Hyg A 1987; 266: 330–7

Sayfa 104: [80] Açıklama [gg251]

Gül Güner

25.09.2012 17:50:00

intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. Pediatric Research vol.54, No 3, 2003

Mohandes AE, Keiser JF, Johnson LA, Refat M, Jackson BJ. Aerobes isolated in fecal microflora of infants in the intensive care nursery: relationship to human milk use and systemic sepsis. Am J Infect Control 1993;21:231–4. 56.

Songjinda P, Nakayama J. Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. Biosci., Biotechnol. Biochem., 69 (3), 638–641, 2005

Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterstrom R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. Pediatr Infect Dis 1986; 5: 533–9.

Sayfa 104: [81] Açıklama [gg252]

Gül Güner

25.09.2012 17:50:00

Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT & McMurdo ME (2004) Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. Appl Environ Microb 70 : 3575–3581.

Sullivan A, Edlund C & Nord CE (2001) Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. Lancet Infect Dis 1: 101–114.

Nord CE, Rasmanis G & Wahlund E (2006) Effect of dalbavancin on the normal intestinal microflora. J Antimicrob Chemother 58 : 627–631.

Sayfa 104: [82] Açıklama [gg253]

Gül Güner

30.09.2012 18:08:00

Droste JH, Wieringa MH, Weyler JJ, Nelen VJ, Vermeire PA & Van Bever HP (2000) Does the use of antibiotics in early childhood increase the risk of asthma and allergic disease? Clin Exp Allergy 30 : 1547–1553.

Kozyrskyj AL, Ernst P & Becker AB (2007) Increased risk of childhood asthma from antibiotic use in early life. Chest 131: 1753–1759.

Kummeling I, Stelma FF, Dagnelie PC, Snijders BE, Penders J, Huber M, van Ree R, van den Brandt PA & Thijs C (2007) Early life exposure to antibiotics and the subsequent development of eczema, wheeze, and allergic sensitization in the first 2 years of life: the KOALA Birth Cohort Study. Pediatrics 119: e225–e231.

Sayfa 105: [83] Açıklama [gg260]

Gül Güner

25.09.2012 17:50:00

32. Hall MA, Cole CB, Smith SL, Fuller R, Rollers CJ. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli on early infancy. Arch Dis Child 1990;65:185–88.

34. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the gut microbiota in early infancy. Pediatrics 2006;118:511–21

52. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrn ' e S, Orfei L, ° Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clin Immunol 2007;120:343–50.

53. Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? Pediatr Res 2006;59:96–101.

Sayfa 105: [84] Açıklama [gg261]

Gül Güner

25.09.2012 17:50:00

53. Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006;59:96–101.