



**PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE
SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Özlem Selime MERTER

**DOKTORA TEZİ
HEMŞİRELİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2021

Özlem Selime MERTER tarafından hazırlanan “PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Hemşirelik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Naime ALTAY

Hemşirelik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

.....

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Özlem Selime MERTER tarafından hazırlanan “PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Hemşirelik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Gülten KOÇ

Kadın Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Özlem Selime MERTER tarafından hazırlanan “PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Hemşirelik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: Prof. Dr. Ebru KILIÇARSLAN TÖRÜNER

Hemşirelik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Özlem Selime MERTER tarafından hazırlanan “PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Hemşirelik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: Prof. Dr. Sıdika Songül YALÇIN

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Özlem Selime MERTER tarafından hazırlanan “PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Hemşirelik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: Doç. Dr. Serap BALCI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Özlem Selime MERTER tarafından hazırlanan “PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Hemşirelik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: Doç. Dr. Figen YARDIMCI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 29/06/2021

Jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Özlem Selime MERTER

29/06/2021

PREMATÜRE BEBEKLERDE TAZE YA DA DONDURULMUŞ ANNE SÜTÜYLE
BESLENMENİN BAĞIRSAK MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ
(Doktora Tezi)

Özlem Selime MERTER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2021

ÖZET

Bu araştırma prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütüyle beslenmenin bağırsak mikrobiyatası üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla prospektif gözlemsel olarak yapılmıştır. Araştırma yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen gestasyon yaşı 28-32⁶ hafta olan taze anne sütü almış (n:20), dondurulmuş anne sütü almış (n:20) toplam 40 prematüre bebek ile yapılmıştır. Veriler “Tanımlayıcı Bilgi Formu” ve “Bebek İzlem Formu” ile toplanmıştır. Örneklem seçim kriterlerine uygun bebeklerin doğumdan sonraki ilk mekonyum ve beslenmelerinin 10. günü gaita örnekleri alınmış ve analiz zamanına kadar -80° C’ de saklanmıştır. Bebeklerin aldıkları beslenme solüsyonlarının türü (taze anne sütü, dondurulmuş anne sütü, bebek formülü) ve miktarı 10 gün süreyle düzenli olarak kaydedilmiştir. 10 günlük beslenmelerinin %70’inden fazlasını hangi beslenme türü oluşturuyorsa bebek o gruba dahil edilmiştir. 10 günlük beslenmelerinin %70’inden fazlasını bebek formülü oluşturan bebekler çalışma dışında tutulmuştur. Verilerin değerlendirilmesinde Mann-Whitney U, Ki-kare Testi ve T-testi kullanılmıştır. Mikrobiyata analizi için ekstrakte edilmiş DNA’dan 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesinin sekanslanması yöntemi ile gaita numuneleri analiz edilmiştir. Büyük çoğunluğu insan patojeni ve hastalık etkeni kabul edilen bakterilerden olan *Streptococcus* ve *Enterobacteriales* türlerinin dondurulmuş anne sütü alan bebeklerdeki bolluklarının (*Streptococcus* %69, *Enterobacteriales* %79) taze anne sütü alan bebeklerdeki bolluklara (*Streptococcus* %16, *Enterobacteriales* %49) göre daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Anne sütünde en çok bulunan ve bebek için en faydalı tür olduğu bilinen bakterilerden *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin taze anne sütü alan bebeklerdeki bolluklarının (*Lactobacillus* %17 ve *Bifidobacterium* %12) dondurulmuş anne sütü alan bebeklerdeki bolluklara (*Lactobacillus* %3 ve *Bifidobacterium* %1) göre daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Taze anne sütü almanın dondurulmuş anne sütü almaya göre bebek bağırsak mikrobiyata çeşitliliğini olumlu yönde etkilediği, bebek bağırsağında daha sağlıklı mikroçevre oluşturduğu belirlenmiştir. Hemşirelerin, tüm bebeklerin özellikle yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerin taze anne sütü ile beslenmelerinin sağlanmasında destekleyici olmaları önerilmektedir.

Bilim Kodu : 1032.8
Anahtar Kelimeler : Anne sütü, Prematüre, Bebek, Bağırsak mikrobiyotası, Hemşirelik, Yenidoğan yoğun bakım ünitesi
Sayfa Adedi : 160
Danışman : Prof. Dr. Naime ALTAY

AN INVESTIGATION OF THE EFFECT OF FRESH AND FROZEN BREAST MILK ON GUT MICROBIOTA IN PRETERM NEONATES

(Ph. D. Thesis)

Özlem Selime MERTER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

June 2021

ABSTRACT

This paper prospectively and observationally investigated the effect of fresh and frozen breast milk on gut microbiota in preterm neonates. The sample consisted of 40 preterm neonates with a gestational age of 28-32⁶ weeks monitored at a neonatal intensive care unit (NICU). The sample was equally divided into two: fresh breast milk group (n=20) and frozen breast milk group (n=20). Data were collected using a Descriptive Information Form and a Neonatal Follow-Up Form. According to the inclusion criterias. The first meconium and day-10 stool samples that were obtained from neonates who were selected according to the inclusion criteria were stored at -80 °C until analysis. The type and amount of nutritional solutions (fresh breast milk, frozen breast milk, and formula) were regularly recorded for ten days. A neonate was assigned to either of the three groups depending on which type of nutritional solutions constituted more than 70% of its 10-day feeding. Neonates whose more than 70% of their diets consisted of formula were excluded from the study. The data were analyzed using the Mann-Whitney U test, Chi-square test, and t-test. The stool samples were analyzed sequencing the V3-V4 region of the 16S rRNA gene from the extracted DNA. Streptococcus was more abundant in the frozen breast milk group (69%) than in the fresh breast milk group (16%). Enterobacteriaceae was more abundant in the frozen breast milk group (79%) than in the fresh breast milk group (49%). Streptococcus and Enterobacteriaceae spp. are considered human pathogens and disease agents. Lactobacillus was more abundant in the fresh breast milk group (17%) than in the frozen breast milk group (3%). Bifidobacterium was more abundant in the fresh breast milk group (12%) than in the frozen breast milk group (1%). Lactobacillus and Bifidobacterium are two species of common probiotics with many health benefits. The results showed that fresh breast milk was better than frozen breast milk at maintaining infant gut microbiota and creating a healthier microenvironment. Therefore, it is recommended that nurses be supportive in making sure that all neonates, especially those monitored in NICUs, are fed fresh breast milk.

Science Code : 1032.8
Key Words : Breast milk, Premature, Infant, Gut microbiata, Nursing, Neonatal Intensive Care Unit
Page Number : 160
Supervisor : Prof. Dr. Naime ALTAY

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgisi, tecrübesi ve anlayışı ile beni hep daha ileriye taşıyan kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Naime ALTAY'a

Doktora eğitim sürecimde ve tez izleme komitesinde bilgi ve tecrübesiyle daima destek olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ebru KILIÇARSLAN TÖRÜNER'e

Doktora tez izleme komitesinde yer alarak çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle tezimi daha iyi seviyeye getirmemi sağlayan hocam Sayın Doç. Dr. Gülten KOÇ'a

Tez sürecimin her aşamasında bana değerli katkıları olan Sayın Samet ECE ve Sayın Mücahit KAYA'ya

Tüm doktora eğitim sürecinde manevi desteğini benden esirgemeyen aynı yolda yürüdüğüm kıymetli arkadaşım Zeynep KİSECİK ŞENGÜL'e

Tezimin verilerini toplarken destek olan tüm bebeklerin ailelerine ve başta Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi sorumlu hocası Prof. Dr. Erdal TAŞKIN olmak üzere ünite çalışan tüm hemşirelere,

Manevi desteklerini her zaman hissettiren canım ailem, annem Nurangül BAYDİLEK, babam Mehmet BAYDİLEK, kayınvalidem İmran MERTER ve kayınpederim Feridun MERTER ile tezimin başından sonuna her aşamasında yanımda olan bilgisi ve tecrübesiyle daima yol göstericim olan sevgili eşim Mustafa MERTER'e

Hayatıma girdiklerinden beri eğitim hayatıma şahit olup bu süreçte bana destek olmaya çalışan biricik kızım Zeynep MERTER ve biricik oğlum Selim MERTER'e en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Doktora tezim için **47/2019-11** proje kodu ile gerekli bütçeyi sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Yenidoğan Mikrobiyatasının Gelişimi	7
2.2. Yenidoğan Mikrobiyatasının Gelişimine Etki Eden Etmenler.....	11
2.3. Anne Sütü ve Mikrobiyata İlişkisi.....	20
2.4. Yenidoğanda Mikrobiyata Gelişiminin Uzun Vadede Sağlığa Etkileri	21
2.5. Yenidoğanda Sağlıklı Mikrobiyata Gelişimine Yönelik Hemşirelik Uygulamaları	23
2.5.1. Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları.....	24
2.5.2. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerde sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları.....	25
2.6. Bağırsak Mikrobiyata Analizinin Değerlendirilmesi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Araştırmanın Şekli.....	31
3.2. Araştırmanın Değişkenleri	31
3.3. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri	31
3.4. Araştırmanın Evreni	32
3.5. Araştırmanın Örneklem Seçimi.....	32

	Sayfa
3.6. Araştırma Kriterleri	33
3.6.1. Dışlama kriterleri	34
3.7. Verilerin Toplanması.....	35
3.7.1. Veri toplama formları.....	35
3.7.2. Gaita örneği toplama protokolü	36
3.8. Araştırmanın Uygulanması.....	37
3.8.1. Steril gaita örneklerinin toplanması	39
3.9. Bağırsak Mikrobiyaya Analizi	39
3.9.1. Dizileme verisi elde edilemeyen numuneler	44
3.10. Etik Konular	45
3.11. Verilerin Değerlendirilmesi.....	46
3.11.1. Bağırsak mikrobiyaya analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.....	46
4. BULGULAR.....	49
4.1. Taze ve Dondurulmuş Anne Sütü Grubundaki Bebeklerin ve Annelerinin Tanımlayıcı Özelliklerine İlişkin Bulgular.....	49
4.2. Taze ve Dondurulmuş Anne Sütü Grubundaki Bebeklerin Bağırsak Mikrobiyotası Analiz Sonuçlarına İlişkin Bulgular	52
4.2.1. Gruplandırma analizi.....	53
4.2.2. Alfa çeşitlilik (Alpha diversity)	54
4.2.3. Beta çeşitlilik (Beta diversity) - temel bileşen analizi (principle component analysis-PCA).....	61
4.2.4. Bray-Curtis ısı haritası (Heatmap)	68
4.2.5. OTU Venn analizi	71
4.2.6. Bebeklerin bağırsak mikrobiyotalarının Taxa-bar Plots ile göreceli bolluk analizi.....	72
5. TARTIŞMA.....	91
5.1. Gruplandırma Analizi Sonuçlarının Tartışması	91
5.2. Alfa Çeşitlilik (Alpha diversity) Analizi Sonuçlarının Tartışması.....	92

	Sayfa
5.3. Beta Çeşitlilik (Beta diversity) Analizi Sonuçlarının Tartışması.....	93
5.4. Bray-curtis Isı Haritası Analizi Sonuçlarının Tartışması	93
5.5. OTU Venn Analizi Sonuçlarının Tartışması	94
5.6. Taxa-bar plots Analizi Sonuçlarının Tartışması.....	94
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	103
6.1. Sonuçlar.....	103
6.2. Öneriler.....	106
KAYNAKLAR	109
EKLER.....	127
EK-1. Tanımlayıcı Bilgi Formu.....	128
EK-2. Bebek İzlem Formu	130
EK-3. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	131
EK-4. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	132
EK-5. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	133
EK-6. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	134
EK-7. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	135
EK-8. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	136
EK-9. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	137
EK-10. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	138
EK-11. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	139

Sayfa

EK-12. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	140
EK-13. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	141
EK-14. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	142
EK-15. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	143
EK-16. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	144
EK-17. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	145
EK-18. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	146
EK-19. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	147
EK-20. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	148
EK-21. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	149
EK-22. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	150
EK-23. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	151
EK-24. Etik Komisyon izin yazısı.....	152
EK-25. Hastane izin yazısı	155
EK-26. Katılımcılar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu.....	157
ÖZGEÇMİŞ	160

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Mekonyum analizi çalışmaları	10
Çizelge 2.2. Taze/dondurulmuş anne sütü ve bebek formülü çalışmaları.....	15
Çizelge 2.3. Bağırsak mikrobiyata analizi yöntemleri	30
Çizelge 4.1. Taze ve dondurulmuş anne sütü grubundaki bebeklerin tanımlayıcı özelliklerine göre dağılımları	49
Çizelge 4.2. Taze ve dondurulmuş anne sütü grubundaki bebeklerin annelerinin tanımlayıcı özelliklerine göre dağılımları	51
Çizelge 4.3. Adonis ve MRPP gruplandırma analizi.....	53
Çizelge 4.4. Taze ve dondurulmuş anne sütü grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyataları ile taze ve dondurulmuş anne sütü alma durumlarına göre bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyatalarında gözlemlenen mikroorganizmalar	81
Çizelge 4.5. TAS ve DAS grubundaki tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyatalarında gözlemlenen mikroorganizmalar	82
Çizelge 4.6. Taze ve dondurulmuş anne sütü alma durumlarına ve cinsiyete göre bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyatalarında gözlemlenen mikroorganizmalar	89

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yenidoğan mikrobiyatasına etki eden etmenler	12
Şekil 2.2. Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları.....	27
Şekil 3.1. Akış şeması	35
Şekil 3.2. Mekonyum/gaita numunelerinin alınması.....	37
Şekil 3.3. Bağırsak mikrobiyata analizi hazırlık ve sekanslama aşamasında izlenen işlem basamakları.....	40
Şekil 3.4. Gaita numunelerinin kuru buz ile transferi	41
Şekil 3.5. Veri analizi iş akışı.....	44
Şekil 4.1. Anosim gruplandırma analizi	54
Şekil 4.2. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları ve 10. gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	55
Şekil 4.3. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	56
Şekil 4.4. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	57
Şekil 4.5. TAS alan tüm bebeklerin 10.gün gaitaları ile DAS alan tüm bebeklerin 10.gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	58
Şekil 4.6. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumları ile erkek bebeklerin mekonyumlarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	59
Şekil 4.7. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	60
Şekil 4.8. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması	61
Şekil 4.9. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının PCA gösterimleri	62
Şekil 4.10. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının PCA gösterimleri	63
Şekil 4.11. TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitaları ile DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının PCA gösterimleri	64

Şekil	Sayfa
Şekil 4.12.TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaitalarının PCA gösterimi.....	65
Şekil 4.13.TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumları ile erkek bebeklerin mekonyumlarının PCA gösterimleri	66
Şekil 4.14.TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları PCA gösterimleri.....	67
Şekil 4.15.DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları PCA gösterimleri.....	68
Şekil 4.16.TAS ve DAS grubundaki tüm bebeklerin mekonyumları ile TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının cins düzeyinde taksonomik bollukları ısı haritası.....	70
Şekil 4.17.TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının OTU Venn analizi	71
Şekil 4.18.TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyotalarının OTU Venn analizi.....	72
Şekil 4.19.TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	73
Şekil 4.20.TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	74
Şekil 4.21.DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	75
Şekil 4.22.DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	76
Şekil 4.23.TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	77
Şekil 4.24.TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	78
Şekil 4.25.TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyotalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	79
Şekil 4.26.TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyotalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	80
Şekil 4.27.TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyum mikro filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	83

Şekil	Sayfa
Şekil 4.28. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri.....	84
Şekil 4.29. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	85
Şekil 4.30. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	86
Şekil 4.31. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	87
Şekil 4.32. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklama
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
BF	Bebek Formülü
DAS	Dondurulmuş Anne Sütü
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EMR	Erken Membran Rüptürü
IL-10	İnterlökin-10
IUGG	Intrauterin Gelişme Geriliği
MRPP	Multiple Response Permutation Procedure-Çoklu Yanıt Permütasyon Prosedürü
NEK	Nekrotizan Enterokolit
OG	Orogastrik
OTU	Operional Taxanomic Unit-Operasyonel Taksonomik Birim
PCA	Principle Component Analysis-Temel Bileşen Analizi
PCR	Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PM	Prematüre
QC	Quality Control-Kalite Kontrol
RDS	Respiratuvar Distres Sendromu
RNA	Ribo Nükleik Asit
TAK	Toplam Antioksidan Kapasitesi
TAS	Taze Anne Sütü
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
YYBÜ	Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi

1. GİRİŞ

Problem durumu/konunun tanımı

Her yıl yaklaşık on beş milyon bebek 37. gebelik haftasını tamamlamadan önce doğmaktadır (World Health Organization [WHO], 2018). Bu bebekler, bireysel gereksinimlerine bağlı olarak günler hatta aylar boyunca yenidoğan yoğun bakım ünitesinde (YYBÜ) kalmaktadırlar. Yoğun bakım ünitesi, uterusun koruyucu ortamından farklı olarak bebeğin gelişiminin devam ettiği bir ortamdır (El-Metwally ve Medina, 2020). İngiltere'deki veri analizi raporuna göre hayatta kalan bebeklerin YYBÜ'lerde medyan yatış süreleri ileri derecede prematüre bebekler için 93 gün, orta derece prematüre bebekler için 44 gün, geç prematüre bebekler için ise 13 gündür (Villaruel ve diğerleri, 2019). Yenidoğanın YYBÜ'de gelişimsel özelliğine bağlı olarak pek çok gereksinimi vardır ve bakım hizmetleri çeşitli fizyolojik zorluklara bağlı olarak karmaşıktır (Rodriguez, Jordan, Mutic, Thul, 2017). Beslenme ile ilgili problemler prematüre bebeklerin en önemli sorunlarından birisidir bu yüzden beslenmeye mümkün olan en erken dönemde başlanmalıdır (Kumar ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte YYBÜ'deki bebeklerin annelerinin doğum travmasına bağlı laktasyon sürecinde bebeğine yeterli anne sütü sağlama konusunda birçok zorlukla karşılaştıkları bilinmektedir (Palmquist, Holdren, Fair, 2020).

Tüm yenidoğan bebeklerde olduğu gibi prematüre bebeklerin de anne sütü ile beslenmeleri çok önemlidir. Anne sütü, bağırsak gelişimi ve olgunlaşması için doğru mikroçevrenin oluşmasına yardımcı olan çeşitli fonksiyonel ve koruyucu besinler içermektedir. Buna ek olarak anne sütü, enfeksiyonu önlemeye ve yararlı bakterilerin büyümesini desteklemeye yardımcı olan lizozim, laktoferrin ve oligosakkaritler gibi faktörleri de içermektedir (Cabrera-Rubio ve diğerleri, 2012). Anne sütünde bulunan oligosakkaritler probiyotik işlevi görerek *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi faydalı mikroorganizmaların büyümesini ve aktivitesini arttırmaktadırlar (Cong ve diğerleri, 2017; Maukonen ve Saarela, 2015). Anne sütündeki oligosakkaritler aynı zamanda patojen olarak kabul edilen *Escherichia coli*, *Helicobacter jejuni*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* ve *Salmonella* gibi mikroorganizmaların bağırsak epitel yüzeyine yapışmasını azaltarak yenidoğan enfeksiyon riskini azaltmaktadırlar (Cong ve diğerleri, 2017). Emzirme döneminde sindirim sistemi, *Actinobacteria* ve *Firmicutes* tarafından kolonize edilmektedir bu yüzden anne sütüyle

beslenen bebeklerin mikrobiyotalarının sağlıklı mikroçevre oluşumuna olumlu etkisi olan *Bifidobakteri* tarafından baskın olduğunu bilinmektedir (Yang ve diğerleri, 2019).

Mikrobiyata, insan vücudunda yaşayan mikroorganizmaların tamamını ifade etmektedir. İnsan vücudu, içinde yaşayan milyonlarca mikroorganizmaya ev sahipliği yapmaktadır (Xu ve Knight, 2015). Bu mikroorganizmalar insan vücudunda gastrointestinal sistem, deri, tükürük, oral mukoza ve konjonktiva dahil olmak üzere iç ve dış yüzeylerde bulunmaktadır (Sender, Fuchs ve Milo, 2016). Gastrointestinal sistem özofagustan rektuma kadar uzanan geniş yüzey alanı ve içerdiği zengin besin öğeleri nedeniyle bakteri kolonizasyonu açısından en uygun ortamı sunmaktadır (Hillman, Lu, Yao ve Nakatsu, 2017). İnsan mikrobiyotası, insan fizyolojisine içsel olarak o kadar bağlıdır ki, artık kendi başına ayrı bir vücut organı olarak kabul edilmektedir (Baquero ve Nombela, 2012; Evans, Morris ve Marchesi, 2013).

Doğumdan itibaren bağırsak mikrobiyotasının koruyucu, metabolik ve trofik olmak üzere üç önemli rolü bulunmaktadır. Bağırsak mikroorganizmaları patojenik organizmaların çoğalmasına karşı bir bariyer görevi görerek koruyuculuk etkisi yapmaktadır. Metabolik fonksiyonlar; kolostrumun sindirimini ve metabolizmasını, toksik maddelerin ve ilaçların atılımını, vitamin sentezini ve iyon emilimini içermektedir. Trofik fonksiyonlar; bağırsak lümenini kaplayan epitel hücrelerinin büyüme ve farklılaşmasını, gıda antijenlerine tolerans dahil olmak üzere bağışıklık sisteminin homeostatik bakımını içermektedir (Yang ve diğerleri, 2016). Bağırsakların yaşamın yaklaşık ilk üç yılı içinde meydana gelen tam kolonizasyonu ile immün homeostazisi sağlanmaktadır (Koleva, Bridgman ve Kozyskyj, 2015a; Walker, 2017).

Yenidoğan bağırsak mikrobiyotası anne yenidoğan maruziyetlerinden (doğum şekli, antibiyotik kullanımı ve beslenme şekli gibi) etkilenir ve ilk üç yılın sonunda bebek bağırsak mikrobiyotası yetişkin bağırsağının çeşitliliğine ve bileşimine benzemektedir (Brooks ve diğerleri, 2014; Moore ve Townsend, 2019; Rodríguez ve diğerleri, 2015). Bağırsak mikrobiyotası genel olarak dört ana türden oluşmaktadır; *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* (Yang ve diğerleri, 2016).

Hayatın ilk ayında yenidoğanın bağırsaklarında anne sütünden ve annenin cilt florasından gelen bakteriler baskındır. Çoğunlukla anne sütü ile beslenen bebeklerde ilk bir ayda bağırsak bakterilerinin yaklaşık %40'ı oluşmaktadır (Pannaraj ve diğerleri, 2017).

Emzirmenin bebeklerde bağırsak mikrobiyota gelişimini değiştirdiği bildirilmiştir. Çünkü anne sütü bebeğin sağlığı ile ilgili metabolik ve immünolojik programlamayı düzenleyen en önemli postpartum öğelerden biri olarak kabul edilmektedir (Cabrera-Rubio ve diğerleri, 2012). Anne sütü bakterileri, katı gıda alımından sonra devam eden etki ile bebek mikrobiyotasının oluşumunu ve gelişimini etkilemektedir (Pannaraj ve diğerleri, 2017). Anne sütü ile beslenen bebeklerde immün ilişkili hastalıklarda, morbidite ve mortalitede azalma gözlemlenmektedir (Brahm ve Valdes, 2017; Jost, Lacroix, Braegger ve Chassard, 2013). Bununla birlikte anne sütünün özellikle prematüre bebeklerin hastanede kaldıkları süre boyunca toplam alınan miktarı ile nöro gelişim arasında pozitif bir ilişki olduğu düşünülmektedir (Boquien, 2018). Prematüre bebeklerin tüm sistemlerinin immatür olması sebebi ile birçok sorunla karşı karşıya kaldıkları belirlenmiş ve bunlardan en önemlilerinden birisinin de beslenme ile ilgili sorunlar olduğu belirtilmiştir. Çünkü birçok sebepten dolayı bu bebeklerin anne sütü alma oranları istendik düzeyde sağlanamamaktadır.

Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde tedavi gören bebeklerin beslenmesi primer olarak hemşirelerin sorumluluğundadır. Yenidoğanın YYBÜ'ye kabul edilmesinden itibaren yenidoğan hemşiresinin beslenme gibi yenidoğanda mikrobiyota gelişmesini etkileyen faktörleri ve hastalık gelişiminde mikrobiyatanın rolünü bilmesi önemlidir. Optimal mikrobiyota gelişimi için yenidoğan hemşiresinin uygulayabileceği bazı anahtar bakım yöntemleri mevcuttur. Bunlardan biri de taze anne sütü ile beslenmenin sağlanmasıdır (Rodriguez ve diğerleri, 2017).

Anne sütünün taze olarak kullanılması, bağırsakların yararlı bakterilerle, özellikle anne sütü oligosakkaritlerini beslenme için kullanan probiyotik bakterilerle kolonize edilmesine neden olmaktadır. Taze kolostrum ve anne sütü, nekrotizan enterokolit (NEK) gelişmesini önleyen laktoferrin, lizozim, diğer antimikrobiyal proteinler ve immünomodülatör ajanlar içermektedir. Anne sütünün dondurulmasının sütün immünolojik koruyucu bileşenlerini ve bakteriyal kompozisyonunu azalttığı belirtilmiştir (Sherman, Zaghouni ve Niklas, 2015). Taze anne sütü, besin maddeleri ve bağışıklık antikorları bakımından zengindir ancak özellikle YYBÜ'de izlenen bebekler için doğrudan emzirmenin mümkün olmadığı durumlarda anne sütü genellikle sonradan kullanılmak üzere dondurulmaktadır (Hung, Hsu, Su ve Chang, 2018). Bu dondurma işleminin anne sütündeki immünolojik koruyucu bileşenlerde ve bakterilerde azalmaya yol açtığı bilinmektedir (Rodriguez ve diğerleri, 2017). Hung ve diğerleri (2018) yaptıkları çalışmada anne sütünün dondurulmasının sütün

içeriğindeki asit miktarını artırarak tadının ekşimesine neden olduğu gözlenmiştir (Hung ve diğerleri, 2018). Aksu ve diğerleri (2015) yılında yapmış oldukları çalışmada anne sütünün dondurulmasının sütün total antioksidan kapasitesini düşürdüğünü belirlemişlerdir (Aksu ve diğerleri, 2015).

Literatür incelendiğinde taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmenin yenidoğan mikrobiyotası üzerindeki etkisini gösteren bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Yapılacak böyle bir çalışma ile taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmenin mikrobiyota üzerindeki etkilerine yönelik uygun yaklaşım ile prematüre bebeklerin sağlığı korunup hemşirelik bakımının kalitesi yükseltilebilir.

Araştırmanın amacı

Bu araştırma YYBÜ’de izlenen prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütüyle beslenmenin bağırsak mikrobiyotasına etkisini incelemek amacıyla prospektif gözlemsel bir çalışma olarak yapılmıştır.

Araştırmanın hipotezleri

H_0 : Prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmenin bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkisi yoktur

H_1 : Prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmenin bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkisi vardır.

Araştırmanın önemi

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) (2018) verilerine göre bebek ölümleri özellikle prematüre bebeklerde daha fazla olmaktadır (WHO, 2018). Dünyada her yıl yaklaşık on beş milyon bebek prematüre olarak dünyaya gelmektedir (Kumar ve diğerleri, 2017). Prematüre ölümleri tüm yenidoğan ölümlerinin %80’inden fazlasını oluşturmaktadır (United Nations International Children's Emergency Fund [UNICEF], 2018).

Yenidoğan mikrobiyotası; doğum şekli, beslenme şekli, cilt bakımı, antibiyotik kullanımı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Mikrobiyatanın kompozisyonu ve çeşitliliğinin NEK

gelişimi, geç başlangıçlı sepsis, fiziksel büyüme, sinir sistemi gelişimi gibi birçok parametreyi etkilediği düşünülmektedir (Rodriguez ve diğerleri, 2017).

Yapılacak olan bu çalışmada taze ve dondurulmuş anne sütünün yenidoğan mikrobiyotası üzerine etkilerinin karşılaştırılması ile taze ya da dondurulmuş süt kullanımının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri incelenerek hemşirelere ve diğer sağlık çalışanlarına yenidoğanın beslenmesi ve sağlıklı mikrobiyata geliştirmesine yönelik bakım konularında yol gösterici olacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda özellikle çalışan annelerin bebeklerine ve YYBÜ’de izlenen bebeklere taze (dondurulmamış) anne sütü temini konusunda da yol gösterici olacaktır. Anne sütünden elde edilen en fazla yarar ile özellikle prematüre bebeklere sağlanan bakımın kalitesinde artmaya ve bebeğin sağlıklı gelişimine katkıda bulunulacaktır.

Sınırlılıklar

Araştırma premature ve antibiyotik tedavi alan bebekler üzerinde yürütüldüğü için araştırma sonuçları term sağlıklı ve antibiyotik kullanmayan bebeklere genellenemez. Çalışmamızda taze ve dondurulmuş anne sütü alan toplam 40 bebekten alınan 40 adet mekonyum örneğinin 12’sinin mikrobiyata analizi yapılmış, 28 mekonyum örneğinin analizi yapılamamıştır. Mekonyum analizi yapılan 12 örneğin 8 adedi taze anne sütü (TAS) grubundan, 3 adedi dondurulmuş anne sütü (DAS) grubundandır. Mikrobiyata analizi yapılan 1 mekonyum örneğinin de karşılaştırılacak olan 10. gün gaita örneğinin mikrobiyata analizi yapılamamıştır. Bu sebepten dolayı 11 adet mekonyum örneği analizde dikkate alınmıştır. Mikrobiyata çalışmalarında mekonyum analizleri gaita analizlerine göre mikrobiyata analizi açısından daha zor olduğu için çalışmanın sınırlılıkları içinde yer almaktadır. TAS getiren annelerin bir kısmı sütlerini hastanede bir kısmı da evde sağıp standart kilitli anne sütü saklama poşetleri ile üniteye getirmişlerdir. Tüm TAS’ların üniteye sağılıp verilmemesi çalışmanın sınırlılıkları içinde yer almaktadır. Çalışmaya alınan bebeklerin tümünü planlı sezeryan doğumlar oluşturduğu ve bu doğumları genellikle ikiz gebelikler oluşturduğu için çalışmaya ikiz eşleri de dahil edilmiştir. İkiz eşlerinin örnekleme dahil edilmesi çalışmanın sınırlılıkları içinde yer almaktadır.

Tanımlar*Mikyobiyom/mikrobiyata*

İnsan vücudunda yaşayan mikroorganizmaların tamamına verilen isimdir (Xu & Knight, 2015).



2. GENEL BİLGİLER

Yoğun bakım ünitesinde yenidoğanın hemşirelik bakımı bebeğin dış ortama uyumunun sağlanması, sağlıklı büyüme ve gelişmesinin izlenmesi, anne sütü ile beslenmesinin sağlanması, hastalıklardan korunmasının sağlanması ve sağlığının en üst düzeye çıkarılması gibi çok yönlü bakımı içermektedir (Yıldız, 2008:3-14). Tüm bu bakım bebeği birçok yönden etkilediği gibi mikrobiyatayı da etkilemektedir. Mikrobiyata insan vücudunda bulunan mikroorganizmalar topluluğudur (Rodriguez ve diğerleri, 2017).

Yenidoğan mikrobiyal kolonizasyonu doğum şekli, beslenme şekli ve YYBÜ’de uygulanan bakım seçenekleri de dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Hartz, Bradshaw ve Brandon, 2015). Herhangi bir vücut bölgesindeki mikroorganizmaların dengesizliğinin kısa vadede etkilerinin yanı sıra şizofreni, depresyon, anksiyete, otizm, multiple skleroz gibi uzun vadeli etkilerinin de olduğu düşünülmektedir (Proctor, Thiennimitr, Chattipakorn S. ve Chattipakorn S.C., 2017). Bu yüzden yenidoğan mikrobiyatasının gelişim özelliklerinin, anne sütünün mikrobiyata içeriğinin, yenidoğan bağırsak mikrobiyatası ile ilişkili sağlık sonuçlarının, YYBÜ’de izlenen bebeklerin bağırsak mikrobiyatasının sağlıklı gelişmesine katkı sağlayacak hemşirelik bakım uygulamalarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Genel bilgiler bölümü altı başlık altında ele alınmıştır:

1. Yenidoğan mikrobiyatasının gelişimi,
2. Yenidoğan mikrobiyatasının gelişimine etki eden etmenler,
3. Anne sütü ve mikrobiyataya etkisi,
4. Yenidoğanda mikrobiyatanın gelişiminin uzun vadede sağlığa etkileri
5. Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyata gelişimi ve hemşirelik uygulamaları
6. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerde sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları

2.1. Yenidoğan Mikrobiyatasının Gelişimi

İnsan vücudu bünyesinde 100 trilyondan fazla mikrobiyal hücre ve tahmini 1 katrilyon virüsü barındırmaktadır (Clemente, Ursell, Parfrey ve Knight, 2012). Bu mikroorganizmaların vücudumuzun "steril" olarak kabul edilen vücut ortamlarında da kolonize olduğu artık yaygın bir şekilde kabul edilmektedir. Bu düşünce aynı şekilde fetüsün içinde bulunduğu ortam için de geçerlidir (D’Argenio, 2018). Birçok çalışma fetüsün,

plasentanın ve amniyotik sıvının steril olmadığını mikrobiyal kolonizasyonun uterusu başladığını ileri sürmektedir (Collado ve diğerleri, 2015; Perez-Munoz, Arrieta, Ramer-Tait ve Walter, 2017; Willyard, 2018). Fetal mikrobiyata kökenlerini ve bileşimini etkileyebilecek faktörleri anlamak, hastalık patogenezi açıklığa kavuşturmak ve yetişkinlik dönemi de dahil olmak üzere hastalıkların gelişimine zemin hazırlayabilen maternal faktörleri tanımlamak için önemlidir (Saavedra ve Dattilo, 2012; Stinson, Payne ve Keelan, 2017).

Plasenta yakın zamana kadar maternal toksinler ve mikroorganizmalar tarafından fetal kontaminasyonu önleyen, fetüsü koruyan ve uygun fetal gelişimi sağlayan bir bariyer olarak düşünülmektedir (Koleva, Kim, Scott ve Kozyskyj, 2015b; Perez-Munoz ve diğerleri, 2017). Bu inanışların aksine, son 5 yılda yapılmış araştırmalar mikroorganizmaların amniyotik sıvıda, göbek kordonunda ve plasentada kolonileştiğini göstermektedir (D'Argenio, 2018; Koleva ve diğerleri, 2015b; Mor, Aldo ve Alvero, 2017; Neu, 2016; Nuriel-Ohayon, Neuman ve Koren, 2016; Perez-Munoz ve diğerleri, 2017; Saavedra ve Dattilo, 2012; Stinson ve diğerleri, 2017). Bu çalışma sonuçları fetüste maternal mikrobiyal kolonizasyonun uterusu başlayabileceğini düşündürmektedir. Metagenomikteki teknolojik gelişmeler, fetüsün steril bir uterus içinde kaldığını ve yalnızca doğumda bakteri tarafından kolonize edildiğini belirten görüşleri reddetmiştir (D'Argenio, 2018; Rodríguez ve diğerleri, 2015). Başlangıçta uterusun steril olduğuna inanılsa da, mekonyum analizleri, doğum öncesi bebek bağırsağının *Staphylococcus*, *Enterobacteria*, *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* gibi fakültatif anaeroblarla minimal kolonize olduğunu göstermiştir (Martin ve diğerleri, 2016). Mekonyum analizlerine yönelik yapılan çalışmalar literatür taraması sonucu araştırmacılar tarafından oluşturulan Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Mikrobiyatanın uterusu gastrointestinal sistem gelişimini etkilemesi için, uygun mikrobiyal maruziyeti sağlayacak bir mekanizma olması gerekmektedir. Böyle bir sistem için en uygun ortam, gelişmekte olan fetüsü içine alan amniyotik sıvıdır. Özellikle, amniyotik sıvının bileşimi, gebelik süresince değişmektedir. Amniyotik sıvı esas olarak fetal idrardan oluşmakla birlikte aynı zamanda hormonlar ve büyüme faktörlerini de içermektedir (Chong, Bloomfield ve O'Sullivan, 2018).

Gelişmekte olan gastrointestinal sistemin amniyotik sıvı içindeki mikrobiyal ürünlere maruz kalmasına neden olan yollardan birinin yutma yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Fetüs

10. haftadan itibaren amniyotik sıvıyı yutmaya başlamaktadır (Bagci ve diğerleri, 2016). Gebeliğin son üç ayında fetüs günde 700 ile 1000 mL amniyotik sıvı yutmaktadır. Bu durum bakterilerin ve bakteriyel ürünlerin (örneğin, glikoproteinler, Ribo Nükleik Asit (RNA) ve Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) geliştirmekte olan bağırsağa geçebileceği olası bir ortam sağlamaktadır (Chong ve diğerleri, 2018).

Mikrobiyal kolonizasyon fetüste başlamakla birlikte bebeğin bağırsak mikrobiyotası doğumdan sonra şekillenmektedir (Tanaka ve Nakayama, 2017). Doğumda yenidoğanın bağırsağında aerob ortam hakimdir ve başlıca *Enterobacteriaceae* ailesinden aerotolerant bakteriler baskındır. Doğumdan sonraki birkaç gün içinde mikroorganizmaların bağırsak lümenindeki oksijeni azaltmasıyla lümen anaerob hale gelmektedir ve bu durum özellikle *Bifidobacterium*, *Clostridium* ve *Bacteroides* ailelerine ait anaerob olduğu bilinen bakterilerin kolonizasyonuna izin vermektedir (Drago ve diğerleri, 2019; Hill ve diğerleri, 2017).

Yaşamın ilk aylarında yenidoğan beslenmesini büyük oranda anne sütü oluşturmaktadır. Anne sütü, oligosakkaritleri fermente eden başta *Bifidobacterium*'lar olmak üzere *Enterococcaceae*, *Streptococcaceae* ve *Lactobacillaceae* ailelerine ait bakterilerin bağırsak mikrobiyotasında hakim hale gelmelerini sağlamaktadır (Drago ve diğerleri, 2019). Yenidoğan bağırsak mikrobiyotasının gelişmesi bebekler arasında büyük farklılıklar göstermektedir ve hem iç konakçı özellikleri hem de dış faktörler mikrobiyotanın oluşumunu etkilemektedir (Hill ve diğerleri, 2017).

Doğum haftası, doğum şekli, beslenme şekli (anne sütü, bebek formülü), süttten kesme, antibiyotik kullanımı gibi durumlar mikrobiyata oluşumunda çok önemli bir yere sahiptirler. Yetişkin mikrobiyotasının şekillenmesindeki en önemli aşamalar yenidoğan dönemi ve yaşamın ilk yıllarında gerçekleşmektedir (Milani ve diğerleri, 2017).

Çizelge 2.1. Mekonyum analizi çalışmaları

Yapılan çalışmalar	Örneklem Özelliği	Saptanan Bakteriler
Jiménez ve diğerleri (2008)	21 sağlıklı term yenidoğan mekonyum örnekleri değerlendirilmiştir.	Ağırlıklı olarak <i>Enterococcus</i> ve <i>Staphylococcus</i> cinslerine ait mikroorganizmalar tanımlanmıştır.
Mshvildadze ve diğerleri (2010)	23-32 gestasyon haftasında doğmuş 23 prematüre yenidoğan mekonyum örnekleri değerlendirilmiştir.	Prematüre olarak doğmanın mikrobiyal çeşitlilikte azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Mekonyumda intrauterin orijinli olduğunu düşündüren mikrobiyal DNA tespit edilmiştir.
Madan ve diğerleri (2012)	24-27 gestasyon haftasında doğmuş 6 prematüre yenidoğana ait 18 mekonyum örneği değerlendirilmiştir.	<i>Lactobacillus</i> , <i>Staphylococcus</i> ve <i>Enterobacteriales</i> baskın olarak bulunmuştur.
Ardissone ve diğerleri (2014)	23-41 gestasyon haftasında doğmuş 52 yenidoğan mekonyum örnekleri değerlendirilmiştir.	<i>Enterobacter</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Photobacter</i> ve <i>Tannerella</i> türlerinin gebelik yaşı ile negatif korelasyon gösterdiği ve erken doğumda nedensel bir rolü düşündüren inflamatuvar tepkileri başlattığı bildirilmiştir. Ek olarak, bu çalışma mekonyum ve amniyon sıvısı arasında benzer mikrobiyal özellikler ortaya çıktığını ve böylece gebeliğin son üç aylık döneminde fetus tarafından yutulan amniyotik sıvının bir sonucu olarak mekonyum mikrobiyotasının intrauterin orijinli hipotezini desteklediğini bildirmiştir.
Bäckhed ve diğerleri (2015)	98 term yenidoğan ve annelerinden alınan gaita örnekleri incelenmiştir.	Mekonyum mikrobiyotasında <i>Escherichia-Shigella</i> ve <i>Enterococcus</i> cinsinin daha bol olduğu gösterilmiştir.
Collado, Rautava, Aakko, Isolauri ve Salminen (2016)	Prenatal ve neonatal mikrobiyal transferi ve bağırsak kolonizasyonunu araştırmak amacıyla 15 anne-bebek çiftinden maternal gaita, plasenta, amniyotik sıvı, kolostrum, mekonyum ve bebek gaita örnekleri incelenmiştir.	Plasenta, mekonyum ve amniyon sıvısı olmak üzere anne-bebek çiftlerinden alınan çoklu numunelerde ortak mikrobiyal özelliklerin varlığı vurgulanmıştır.
Tapiainen ve diğerleri (2018)	Bir hastanede 218 ardışık yenidoğan örneklem olarak alınmıştır. 212 mekonyum örneği mikrobiyatayı etkileyen hem prenatal hem de perinatal faktörleri belirlemek için çok değişkenli bir model kullanılarak incelenmiştir.	Gebelik sırasında ortaya çıkan maternal faktörlerin mekonyum mikrobiyata bileşimini etkilediğini ve mikroorganizmaların uterus içi transferi hipotezini desteklediğini bulmuşlardır.
Dong ve diğerleri (2018)	301 yenidoğana ait mekonyum örnekleri incelenmiştir.	Mekonyum mikrobiyotasına <i>Firmicutes</i> ve <i>Proteobacteria</i> türlerinin hakim olduğu gözlenmiştir.

2.2. Yenidoğan Mikrobiyatasının Gelişimine Etki Eden Etmenler

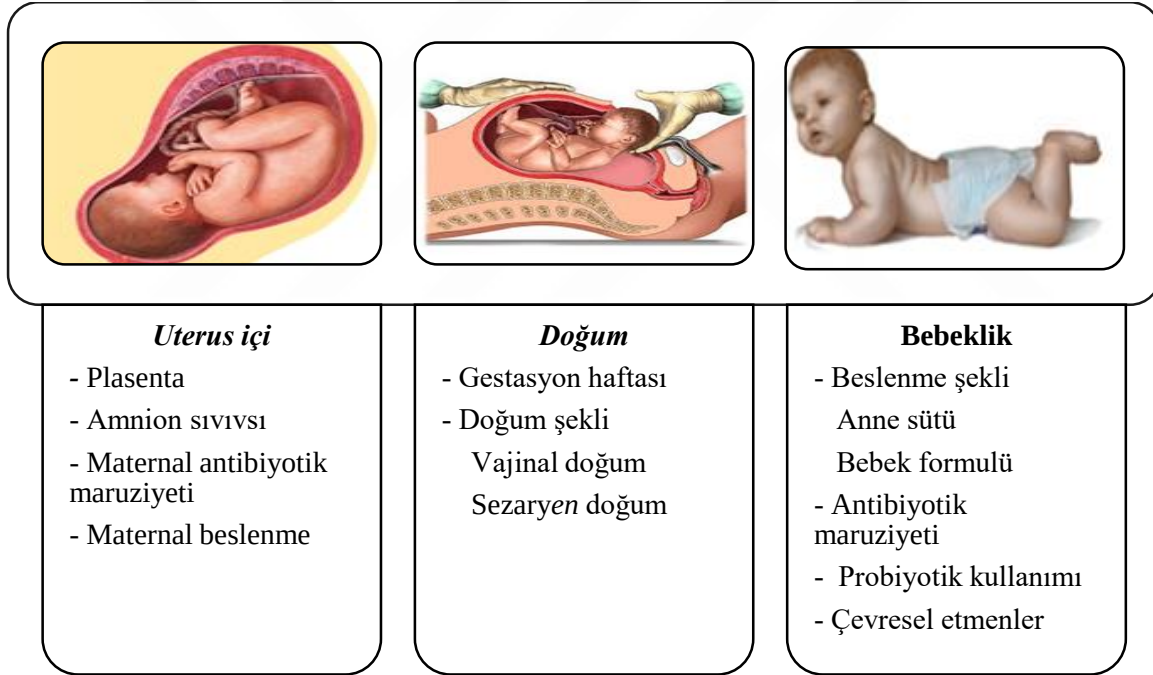
Gebelik, maternal mikrobiyata dahil annenin tüm vücut sistemlerini etkilemektedir. Gebelikte maternal vajinal ve bağırsak mikrobiyatasındaki değişiklikler özellikle önemlidir. Çünkü bu vücut bölgelerinden vajinal doğum sırasında yenidoğana dikey mikrobiyal geçiş olmaktadır (Mueller, Bakacs, Combellick, Grigoryan ve Dominguez-Bello, 2015). Dikey mikrobiyal geçiş doğumdan hemen önceki ve sonraki dönemde patojen bir mikroorganizmanın anneden bebeğe geçişidir. Bu geçiş plasentada, anne sütünde, doğum anında veya doğum sonrasında doğrudan temas yoluyla gerçekleşmektedir (Shiel, 2008).

Maternal mikrobiyotadan kaynaklanan moleküler sinyaller, gebelik sırasında bebeğe plasenta yoluyla, doğumdan sonra ise anne sütü ile ulaşabilmektedir (Macpherson, Agüero ve Ganai-Vonarburg, 2017). Son zamanlarda annenin beslenme şekli ile yenidoğanın gastrointestinal mikrobiyal çeşitliliği arasındaki ilişki araştırılmaktadır. Annenin beslenme şekli anne sütündeki bazı maddelerin (örn. yağ asitleri) konsantrasyonunu etkilediği için, dolaylı olarak mikrobiyal çeşitliliği şekillendirmeye yardımcı olduğu düşünülmektedir (Williams ve diğerleri, 2017). Padilha ve diğerleri (2019) yapmış oldukları çalışmada annenin beslenme şeklinin anne sütü mikrobiyotasını etkilediğini ve bu etkilerin hamilelik ve emzirme dönemi için farklı görüldüğünü göstermişlerdir. Gebelik sırasındaki beslenme şeklinin, emzirmenin ilk ayındakine kıyasla mikrobiyal topluluğun yapısı üzerinde daha güçlü bir etkiye sahip olduğu; bunun aksine, belirli besinlerin belirli bakteri cinslerini farklı şekilde etkilediğini göstermişlerdir (Padilha ve diğerleri, 2019). Lundgren ve diğerleri (2018) yapmış oldukları çalışmada, anne beslenme şeklinin bebek bağırsak mikrobiyotasını etkilediğini ve bu etkilerin doğum şekline göre farklılık gösterdiğini belirlemişlerdir (Lundgren ve diğerleri, 2018).

Yenidoğan mikrobiyotasını doğum sırasında da etkileyen maternal ve çevresel faktörler vardır (Kumbhare, Patangia, Patil, R. H., Shouche ve Patil, N. P., 2019). Mikroorganizmalar özellikle tükürük, ter, idrar, burun akıntısı, vajinal mukus ve kan gibi insan vücudu sıvılarının olduğu yerlerde bol miktarda bulunup ve çoğalmaktadırlar. Vajina, insan vücudunda kendine özgü florasından dolayı önemli mikrobiyata oluşumuna elverişli ortamlardan biridir. Vajinal mikrobiyotanın tür çeşitliliği kadının yaşı, ikamet yeri (iklim bölgesi), hijyen uygulamalarının kalitesi ve sıklığı, kullanılan ilaçlar (antibiyotikler, steroidler, immünosupresanlar), hormon seviyeleri, gibi birçok faktöre bağlı olarak

değişiklik göstermektedir. Sağlıklı kadınların vajinasında kolonileşen baskın bakteri grubu *Lactobacillus*'un kollarıdır (Pytko, Kordowska-Wiater ve Jarocki, 2019).

Yenidoğan döneminden erken bebekliğe kadar bağırsak mikrobiyotasının gelişimini etkileyen faktörler arasında annenin vajinal ve bağırsak mikrobiyotası, doğum şekli, beslenme tipi, gebelik yaşı, büyük kardeşler ya da ev hayvanları, antibakteriyel ajan kullanımı ve kültürel farklılıklar yer almaktadır. Bunlardan mikrobiyata üzerinde en etkili olanı doğum şekli ve beslenme şeklidir (Akagawa ve diğerleri, 2019). Bunun yanı sıra antibiyotik kullanımı da mikrobiyata gelişimine etki eden önemli faktörlerden biridir (Milani ve diğerleri, 2017). Tüm bu literatür taraması sonucunda araştırmacılar tarafından hazırlanan yenidoğan mikrobiyotasının gelişimine etki eden etmenler Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Yenidoğan mikrobiyotasına etki eden etmenler

Gestasyon yaşı ve doğum şekli

Prematüre olarak doğmak bebek morbiditesi ve mortalitesi açısından büyük risk oluşturmaktadır. Çok düşük doğum ağırlıklı bebekler, bariyer işlevi olan olgunlaşmamış bir bağırsağa ve gelişmemiş peristaltizme sahip oldukları için, beslenme intoleransı, NEK ve sepsis açısından yüksek risk taşımaktadırlar (Li ve diğerleri, 2020).

Yenidoğanın ilk mikrobiyal maruziyeti vaginal doğum ile doğum kanalından geçişi sırasında gerçekleşmektedir. Sezaryen doğumlarda mikrobiyal maruziyet çevresel faktörler ve cilt teması ile gerçekleşmektedir. Sezaryen doğum uygulamalarında, yenidoğanlar doğumdan birkaç saat sonra anneleriyle cilt temasında bulunmaktadırlar, bu süre zarfında yenidoğan, sağlık personellerinin tıbbi girişimlerine ve ameliyathane ortamının yüzeylerine maruz kalmaktadır (Dunn, Jordan, Baker ve Carlson, 2017). Sezaryenle doğan bebeklerde, vajinal mikrobiyotaya ile temas olmamaktadır ve ilk mikrobiyal temas *Clostridium* türleri gibi fakültatif anaerobların varlığı ile karakterizedir (Salminen, Gibson, McCartney ve Isolauri, 2004). Bu durum doğum şeklinin erken mikrobiyal kolonizasyonun gelişimindeki rolünü göstermektedir (Rutayisire, Huang, Liu ve Tao, 2016).

Doğum şekli, yenidoğanlarda mikrobiyotaya bileşiminin önemli bir belirleyicisidir (Dominguez-Bello ve diğerleri, 2016). Yenidoğanların ilk büyük mikrobiyal kolonizasyonu doğumda, annelerinin mikrobiyotasıyla olmaktadır (Kim, Sitarik, Woodcroft, Johnson ve Zoratti, 2019). Vajinal yolla doğan bebekler, anne vajinasına benzeyen bakteri topluluklarını barındırırken, sezaryen ile doğan bebekler cilt mikrobiyotası bakımından zenginleştirilmiştir (Dominguez-Bello ve diğerleri, 2016). Araştırmalar, erken doğmuş bebeklerin farklı bağırsak mikrobiyotaya topluluklarının doğum modlarından kaynaklandığını ve sezaryenle doğan bebeklere göre vajinal yolla doğan bebeklerde daha çeşitli bağırsak mikrobiyotasının gözlemlendiğini göstermiştir (Chernikova ve diğerleri, 2018a; Li ve diğerleri, 2020; Stewart ve diğerleri, 2017). Bu çalışmaların çoğunda, vajinal yolla doğan bebeklere kıyasla sezaryen ile doğan bebeklerde genel mikrobiyal çeşitliliğinde azalma, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ve *Lactobacillus* oranlarında düşme gözlenmiştir (Kim ve diğerleri, 2019). Yenidoğanın aldığı ilk mikrobiyal aşı doğum şeklinden dolayı farklılaşmaktadır çünkü sezaryenle doğan bebekler anne vajinal ve anal bölge mikrobiyotalarına maruz kalmamaktadırlar ve çevredeki ortamdan alınan deri bakterileri tarafından kolonize olmaktadır (Francino, 2018).

Yenidoğan doğum şeklinin vajinal doğumdan sezaryen doğuma geçişi geçen yüzyıldan itibaren başlamıştır ve kanıtlar sezaryenle doğan bebeklerin istikrarlı ve önemli ölçüde arttığını göstermiştir (Neu, 2017). Vajinal yolla doğan bebeklerin ilk bakteri kolonizatörleri, annelerin doğum kanalını kolonize eden mikroorganizmalar iken, sezaryenle doğan bebekler ilk olarak ebeveynlerin ve sağlık personelinin cilt mikrobiyotasına maruz kalmaktadır (Rutayisire ve diğerleri, 2016). Sezaryen bebekleri, vajinal yoldan doğan bebeklerin aksine,

Staphylococcus, *Corynebacterium* ve *Propionibacterium* gibi deri mikrobiyal çeşitliliğe benzeyen bakteri toplulukları barındırmaktadırlar. Sezaryen bebeklerinde doğal ilk aşı olmaması, gastrointestinal sistem kanallarında bakteri topluluğunun gelişimini etkilemektedir; ayrıca vajinal yolla doğan bebeklere kıyasla belirli patojenlere karşı duyarlılıklarında artış olmaktadır. Örneğin, yenidoğanlarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ile cilt enfeksiyonu vakalarının %64 - %82'si sezaryen ile doğan bebeklerde görülmektedir (Dominguez-Bello, Blaser, Ley ve Knight, 2011).

Doğum şekline bağlı mikrobiyal çeşitlilikteki azalmasının sebebinin normal doğum ile doğan bebeklerin doğum kanalı ile fiziksel temasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Antony, Ma ve Aagaard, 2014; Collado ve diğerleri, 2015; Dominguez-Bello ve diğerleri, 2011). Bu teori, *Lactobacillus*, *Prevotella* ve *Sneathia* gibi yaygın vajinal mikroorganizmaların normal doğum ile doğan bebeklerin mikrobiyal topluluklarının çoğunu oluşturduğu doğrulanmaktadır (Dominguez-Bello ve diğerleri, 2011). Sezaryen ile doğan bebeklerde, doğum sırasında maternal mikrobiyaya maruziyetinin azalması nedeniyle astım, alerji, tip 1 diyabet ve obezite gelişme riskinin arttığı düşünülmektedir (Bokulich ve diğerleri, 2016). Dominguez-Bello ve diğerleri (2016) yapmış oldukları pilot çalışmada çalışmada 7'si vajinal olarak doğmuş ve 11'i planlanmış sezaryen ile doğmuş olmak üzere 18 bebek ve annelerinden örnekler toplanmış ve sezaryen ile doğan bebeklerden 4'ü doğumda maternal vajinal sıvılara maruz bırakılmıştır. Maternal vajinal sıvılara slime yöntemi ile maruz bırakılan bebeklerin mikrobiyotalarının kompozisyonunun vajinal olarak doğan bebeklere daha benzer şekilde geliştiği gözlemlenmiştir (Dominguez-Bello ve diğerleri, 2016).

Yenidoğanın bağırsak mikrobiyotasını etkileyen faktörlerden biri de gestasyon yaşıdır. Prematüre bebeklerin bağırsak mikrobiyaya çeşitliliğinin sağlıklı term bebeklerden farklı olduğu bildirilmiştir (Tauchi ve diğerleri, 2019). Mikrobiyal kompozisyonadaki bu farklılıklar genellikle YYBÜ' de uzun süreli yatan bebeklerin beslenme türlerinden, kullanılan antibiyotiklerden, mekanik ventilasyondan ve ten tene temas gibi gerekli bakım uygulamalarından kaynaklanmaktadır (Rodríguez ve diğerleri, 2015). Korpela ve diğerleri (2018) anne sütüyle beslenen, çok düşük doğum ağırlıklı (doğum ağırlığı <1500 g) 45 prematüre bebek ile yapmış oldukları çalışmada, bebekler doğumdan 60 gün sonrasına kadar takip edilmiş ve bebeklerin gaita örnekleri mikrobiyaya çeşitliliği açısından analiz edilmiştir. Hastanede yatan anne sütü alan prematüre bebeklerin term bebeklerinkine benzer normal bir mikrobiyaya geliştirebileceğini göstermişlerdir (Korpela ve diğerleri, 2018).

Çizelge 2.2. Taze/dondurulmuş anne sütü ve bebek formülü çalışmaları

Yazar/yıl/	N	Örneklem Özelliği	Yöntem	Bulgular
Pardou ve diğerleri (1994)	126	Anne sütü	Anne sütü örnekleri gerekli hijyen koşullarına uyularak steril torba ve enjektörlere alınmıştır. Örneklerin bazıları -20°C'de 8 gün saklanmıştır. Bazı süt örnekleri ise 0-4°C'de 8 gün saklanmış ve dondurulmuş sütler eritilerek analiz edilmiştir.	Anne sütünü depolamanın türü ve uzunluğunun bazı süt bileşenleri üzerinde bir etkisi olduğunu, bu etkinin sütün bakteriyel kontaminasyonu tarafından modüle edildiğini ve soğutmanın bakteri büyümesi üzerinde donmadan sonra gözlenmeyen önemli bir inhibitör etkisi olduğunu göstermişlerdir.
Martínez-Costa ve diğerleri (2007)	9	Anne sütü	Gruplar 3 bölüme ayrılmıştır. 1. gruptaki anne sütü örnekleri hemen incelenmiş diğer iki grup 4°C ve 6°C de sırasıyla 48 ve 72 saat süreyle soğutulmuştur.	Taze anne sütlerinin tümünün bakterisidal aktivite sergilediği, 48 saat soğutmanın önemli değişikliklere neden olmadığı ancak 72 saatin üzerinde soğutmanın, bakteriyoliz derecesini taze süte göre önemli ölçüde düşürdüğü gözlenmiştir.
Marín ve diğerleri (2009)	34	Sağlıklı anneden toplanan anne sütü	Anne sütü örnekleri 0. gün ve -20°C' de dondurulduktan 6 hafta sonraki mikrobiyata içerikleri açısından incelenmiştir.	<i>Staphylococci</i> ve <i>Streptococci</i> , hem taze hem de dondurulmuş anne sütü örneklerinde baskın bakteriler olarak görülmüş ve <i>Staphylococcus epidermidis</i> her iki örnekleme zamanında da en bol bulunan tür olarak gözlenmiştir. Laktik asit bakterisi ve <i>Bifidobakteriler</i> taze ve dondurulmuş anne sütü örneklerinde de mevcut olarak saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda anne sütünün -20 °C' de 6 hafta soğuk depolanmasının kantitatif veya kalitatif bakteriyel bileşimini önemli ölçüde etkilemediği gösterilmiştir.
Chang, Chen ve Lin (2012)	42	18 sağlıklı anneden toplanan anne sütü	Her anne sütü numunesi için bir başlangıç makrobesin konsantrasyonu belirlenmiş ve anne sütü örnekleri dokuz farklı ticari süt saklama kabında muhafaza edilerek -20°C'de 2 gün dondurulduktan sonra çözündürülerek ve tekrar analiz edilmiştir.	Protein, yağ ve karbonhidrat içeriği ölçülmüştür. Anne sütü saklama, dondurma ve çözdürme işlemlerine tabi tutulduğunda yağ içeriğinde önemli bir düşüş (% 9'a kadar azalma) olduğu gösterilmiştir.
Hung, Hsu ve Chang (2013)	18	37.gestasyon haftasından küçük premature bebek	Oral beslenme kabiliyetine sahip prematüre bebeklerin iki ardışık öğün sırasında taze ve çözölmüş anne sütü ile beslenmeleri sağlanmıştır. Bebeklerin kalp atış hızı ve oksijen saturasyon seviyeleri başlangıçta ve beslenme sırasında ölçülmüştür.	Dondurulmuş anne sütü ile beslemenin, taze anne sütü ile beslemeye kıyasla, kusma, öksürme ve öğürme gibi daha fazla stres tepkisine neden olduğu gözlemlenmiştir.
Aksu ve diğerleri (2015)	54	Prematüre ve term bebeklerin annelerinden alınan kolostrum ve olgun anne sütü örneği	Anne sütleri analiz zamanına göre üç gruba ayrılmıştır: taze süt, +4 ° C'de 72 saat ve -20 ° C'de 14 gün saklanmak üzere. İnterlökin-10 (IL-10) ve toplam antioksidan kapasite (TAK) seviyeleri kantitatif olarak ölçülmüştür.	+4 ° C'de 72 saat ve -20 ° C'de 14 gün saklanan anne sütleri, taze anne sütü örnekleri ile aynı TAK seviyelerini koruyamadığı gözlenmiştir.

Çizelge 2.2. (devam) Taze/dondurulmuş anne sütü ve bebek formülü çalışmaları

Yazar/yıl/	N	Örneklem Özelliği	Yöntem	Bulgular
Cong ve diğerleri (2017)	33	Stabil premature bebekler	Bebekler yaşamın ilk 30 günü boyunca izlenmiş ve beslenme şekillerine göre gruplara ayırmışlardır.	Kendi annesinin sütü ile beslenen prematüre bebekler (toplam diyetin en az% 70'i), diğer besleme gruplarındaki bebeklere kıyasla en yüksek <i>Clostridiales</i> , <i>Lactobacillales</i> ve <i>Bacillales</i> bolluğuna sahipken, birincil olarak donör süt veya formül ile beslenen bebekler kendi annelerinin sütü ile beslenen bebeklere kıyasla yüksek miktarda <i>Enterobakteriyel</i> içerdiği gözlenmiştir.
Hung ve diğerleri (2018)	10	10 term bebeğin sağlıklı annelerinden elde edilen anne sütü örnekleri	Anne sütleri 3 gruba ayrılmıştır. Bunlar; 1)Taze anne sütleri 2) 7 günlük dondurulmuş anne sütleri 3)30 günlük dondurulmuş anne sütleri. *Taze anne sütleri hemen analiz edilmiş, diğer sütler ev tipi buzdolabında -15 ile -18 °C'de dondurulduktan sonra analiz edilmiştir.	Bu çalışma, anne sütünün dondurulmuş olarak saklanması sırasında ekşimiş bir tat geliştirdiğini ortaya çıkarmıştır. Bebeklerin çözdüğü sütleri reddetdikleri ortaya çıkmıştır. Dondurma süre uzadıkça sütün ekşi tadının daha da arttığı ortaya konulmuştur.
Zanella ve diğerleri (2019)	32 gestasyon haftasından küçük veya eşit 62 prematüre yenidoğan	175 gaita örneği	Bebekler beslenme rejimlerine göre 5 gruba ayrılmıştır. 1) 7 bebek sadece kendi anne sütü, 2) 8 bebek, prematüre bebek formülü (BF), 3) 16 bebek >% 70 kendi anne sütü olmak üzere karışık besleme, 4) 16 bebek >% 70 BF olmak üzere karışık besleme, 5) 15 bebek % 50 anne sütü, %50 BF olmak üzere karışık besleme. *İlk 28 gün boyunca haftada bir gaita örnekleri toplanmıştır. *Mikrobiyal DNA ekstraksiyonu, 16S rRNA amplifikasyonu ve dizileme gerçekleştirilmiştir.	<i>Escherichia</i> ve <i>Clostridium</i> cinsinin ortalama oranları, BF ile beslenen bebeklerde sadece anne sütü ile beslenen bebeklere göre daha yüksek bulunmuştur.
Borewicz ve diğerleri (2019)	443 gaita	313 sağlıklı term bebek alınan gaita örnekleri	Yaşamın ilk 12 haftasındaki sağlıklı antibiyotik almayan term bebekler 3 gruba ayrılmıştır. 1)Anne sütü alan bebekler 2) Prebiyotik ile takviye edilmiş bebek formülü alanlar 3)Karışık beslenen bebeklerin gaitaları analiz edilmiştir.	Sadece kuvvetlendirilmiş bebek formülü alan bebeklerde, <i>Bifidobakterinin</i> egemen olduğu duruma geçiş hızlanırken, karışık beslenme alan bebeklerde sadece anne sütüyle beslenen bebeklere kıyasla geçiş gecikmiş olarak bulunmuştur.
Wang ve diğerleri (2020)	20	20 gaita örneği	Gaita örnekleri, 32 ile 37. gebelik haftaları arasında doğan, tam enteral beslenmeye geçmiş 20 bebekten alınmıştır. Bu bebeklerden 10 tanesi sadece bebek formülü ile beslenmiş, kalan 10 bebek ise sadece anne sütü ile beslenmiş. 20 bebekten 11'i Ampisilin/Gentamisin almış, 6'sı vajinal yolla, 14'ü sezeryan ile doğmuştur. Gaita örnekleri doğumdan sonra 15 ve 17. günlerde alınmıştır.	En çok bulunan taksonlar sadece anne sütü alan bebeklerin <i>Veillonella</i> ve <i>Escherichia / Shigella</i> iken, sadece BF ile beslenen bebeklerin en bol taksonları <i>Streptococcus</i> ve <i>Klebsiella</i> olarak tespit edilmiştir. Besin kaynağının, gaita örneklerindeki bakteri bileşimi ve gen ekspresyon profillerinde farklılıklar oluşturduğu, orta-geç prematüre bağırsak mikrobiyotasını şekillendirmede rol oynadığı gösterilmiştir. Sadece anne sütü alan grupta <i>Propionibacterium</i> zenginleşmiştir.

Antibiyotik kullanımı

Antibiyotik kullanımına ilişkin araştırmalar, antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğı ve bileşimi üzerindeki kısa ve uzun vadeli etkilerini kanıtlamıştır. Yaşamın ilk zamanlarında antibiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğı ve bileşimi üzerindeki kısa ve uzun vadeli etkilerini anlamak, ortaya çıkan riskleri belirlemede kritik öneme sahiptir (Vangay, Ward, Gerber ve Knights, 2015).

Antibiyotik tedavisinin hem yetişkin hem de bebek mikrobiyata bileşimlerini dramatik bir şekilde değıştirdiğı gösterilmiştir (Azad ve diğeri, 2016; Francino, 2015; Neuman, Forsythe, Uzan, Avni ve Koren, 2018; Yassour ve diğeri, 2016). Mikrobiyotadaki bu değışiklikler, mikrobiyal dengesizlik olan disbiyoz olarak adlandırılmaktadır. Disbiyoz, otoimmün hastalıklar, metabolik hastalıklar, malnütrisyon ve birçok hastalık durumu ile ilişkilendirilmiştir (Neuman ve diğeri, 2018).

Erken çocukluk dönemi antibiyotik maruziyetinin obezite, astım, alerji ve iltihaplı bağırsak hastalıkları gibi otoimmün hastalıklar için artmış risk ile ilişkilendirilmiştir (Bokulich ve diğeri, 2016; Korpela ve diğeri, 2016; Mahana ve diğeri, 2016). Ayrıca epidemiyolojik çalışmalar, erken bebeklik döneminde antibiyotik maruziyetinin sebep olduğu mikrobiyal dengesizlikler obezite, diyabet ve astım gibi hastalıkların ortaya çıkması ile ilişkilendirilmiştir (Vangay ve diğeri, 2015). Neonatal geç başlangıçlı sepsisi önlemek amacıyla doğumdan sonraki ilk zamanlarda geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması yenidoğan mikrobiyotasında tür zenginliğinin azalmasına ve yenidoğanda *Bifidobacteria* kolonizasyonunun gecikmesine neden olmaktadır (Van Belkum, Mendoza Alvarez ve Neu, 2020).

Salminen, Endo, Isolauri ve Scalabrin (2016) yapmış oldukları çalışmada *Lactobacillus* ve *Staphylococcus* cinslerinin erken bebeklik dönemindeki bağırsak kolonizasyonundaki rolünün hijyen hipotezi ile ilgili olduğunu öne sürmüştür (Salminen, Endo, Isolauri ve Scalabrin, 2016). Bu hipotez, gelişmiş hijyen ve antibiyotiklerin artan kullanımı gibi birçok faktör nedeniyle erken yaşamda mikrobiyal maruziyetteki değışikliklerin, bebeklerin ekstra uterin yaşamda immünolojik uyumunda farklılıklara yol açtığını öne sürmektedir (Stiemsma, Reynolds, Turvey ve Finlay, 2015).

Beslenme şekli

Beslenme tipinin, bakteriyel proliferasyon ve fonksiyon için substratlar sağlayarak mikrobiyota kompozisyonunu doğrudan etkilediği gösterilmiştir (Guaraldi ve Salvatori, 2012). Beslenme, bağırsak mikrobiyatasının erken gelişimine katkıda bulunan en etkili faktörlerden biri olarak kabul edilmiştir, çünkü anne sütü, bebeklik döneminde sindirim sistemine tanıtılan ilk besindir (Cong ve diğerleri, 2017; Gregory ve diğerleri, 2016; Xu ve diğerleri, 2018). Bebeklik döneminde anne sütü ile beslenme, mikrobiyatanın şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır (Jost, Lacroix, Braegger ve Chassard, 2012).

Hem kültür bağımlı hem de kültür dışı mikrobiyal analiz yöntemleri ile, anne sütündeki aerobik ve anaerobik bakteri türleri tanımlanmıştır. Anne sütündeki bu bakteri türlerinin kaynağı olarak deri, areolar ve bebeğin oral mukozası olduğu ileri sürülmektedir (Kordy ve diğerleri, 2020). Fitzstevens ve diğerleri (2017) yapmış oldukları sistematik incelemede yalnızca kültürden bağımsız olarak tanımlanan bakteri cinsleri dikkate alındığında, *Streptococcus* ve *Staphylococcus* sağlıklı kadınlar tarafından üretilen anne sütünde baskın cinsler olarak tanımlanmıştır (Fitzstevens ve diğerleri, 2017).

Yenidoğan için besin ve enerji sağlamanın yanı sıra, anne sütündeki glikanlar patojenlerin yapışmasını önleyebilmekte ve bağırsak kolonizasyonunu ve probiyotiklerin büyümesini teşvik edebilmekte, bu da emzirilen bebeklerde *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* ile zenginleştirilmiş bağırsak mikro ekosistemine neden olabilmektedir. Bu erken yaşamda şekillenen mikrobiyata, bağışıklık sistemlerinin gelişimini düzenleyerek bebeklerin sağlık sonuçlarına önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Li ve diğerleri, 2019). Emzirilen bebekler, güvenliği açısından iyi bilinen bir cins olan *Bifidobacterium* türleri açısından zengin bir bağırsak mikrobiyatası ile karakterize olmaktadır (Thomson, Medina ve Garrido, 2018).

Ultrason görüntülemeleri ile emzirme sırasında sütün bebeğin ağzından meme bezine retrograd akışını göstermiştir. Bu retrograd akış, süt kanallarının aralıklı olarak genişletilmesiyle mümkün olmaktadır (Ramsay, Owens ve Hartmann, 2004) ve genellikle bebek ağız boşluğunda bulunan *Streptococcus* türlerinin anne sütünde de yaygın olarak nasıl bulunduğunu açıklamaktadır (Aas, Paster, Stokes, Olsen ve Dewhirst, 2005). Anne sütü ve anne derisinin detaylı incelenmesi, anne sütünde tanımlanan *Bifidobacteria* ve

Lactobacilli'nin anne areolar derisinde bulunmadığını ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle anne derisinin, anne sütü bakterilerinin tek kaynağı olduğu düşünülmemektedir. *Bifidobakterilerin* anaerobik bakteriler olduğu da göz önüne alındığında, kaynağın deri olma olasılığını oldukça düşük kılmaktadır (Demmelair, Jiménez, Collado, Salminen ve McGuire, 2020).

Bifidobakteriler probiyotik olarak yaygın olarak kullanılan gram pozitif anaerofilik bakterilerdir ve bebekler için birçok faydası bulunmaktadır. Gastrointestinal sisteminde *Bifidobakteri* baskın olan bebekler patojenler tarafından kolonizasyona karşı daha dirençli olmakla birlikte, bazı aşılarla karşı daha iyi yanıt vermekte ve daha sağlıklı bağırsak bariyerlerine sahip olmaktadır. Anne sütündeki karbonhidratlar bebeğin ince bağırsağından sindirilmemiş olarak geçmektedir ve kolonda *Bifidobakterilerin* oluşumunu destekleyen prebiyotikler olarak hareket etmektedirler (Lewis ve Mills, 2017). Anne sütü, bebekler için temel beslenme kaynağıdır ve BF, bebeklerde mikrobiyota gelişimi üzerinde bozulmalara yol açmaktadır (Liu ve diğerleri, 2016). Bebeklik döneminde, özellikle prematüre yenidoğanlarda birincil enteral beslenme kaynağı olarak anne sütü tercih edilmelidir. Anne sütünün olmadığı durumlarda ise BF kullanılmaktadır. BF anne sütünün yeterince üretilemediği durumlarda tercih edilen alternatiftir bir beslenme türüdür (Wang, Neupane, White, J., Wang, X. ve Marzano, 2020).

Yapılan çalışmalarda *Clostridia*, *Klebsiella*, *Veillonella* ve *Bacteroides* gibi potansiyel olarak patojenik olarak kabul edilen türler BF ile beslenen term bebeklerin bağırsaklarında anne sütü ile beslenen bebeklerinkinden daha iyi kolonileştiği gözlenmiştir (Adlerberth ve Wold, 2009; Bezirtzoglou, Tsiotsias ve Welling, 2011; Lee ve diğerleri, 2015). Anne sütü ile beslenen bebeklerin gaitalarında *Bifidobacteria* baskın tür olarak gözlenirken, BF ile beslenen bebeklerin gaitalarında *Enterococci* ve *Clostridia* görülmektedir (Demmelair ve diğerleri, 2020).

İşleri veya eğitimlerinden kaynaklı düzenli olarak bebeklerinden ayrı kalmak zorunda olan çoğu anne beslenecek prematüre/hasta bebeklerinin özel ihtiyaçları veya sosyal koşulları sebebiyle sütlerini dolapta soğutmakta ya da dondurmaktadır. Soğutulmuş sütlerin kontaminasyon açısından bakteriyolojik incelemesi sonucunda, sütlerin 72 saate kadar tüketiminin güvenli olduğu kanıtlanmıştır (Ogundele, 2000).

Taze, soğutulmuş ya da dondurulmuş anne sütü ile ilgili yapılmış çalışmalara bakıldığında bu çalışmalarda soğutulmuş anne sütünün kaçınıcı saate kadar güvenle kullanılabileceği, anne sütünü dondurmanın sütteki mikrobiyaya çeşitliliğine etkileri, anne sütünün dondurmanın sütün besin değerini nasıl etkilediği, dondurulmuş ve taze anne sütünün bebekte oluşturduğu fizyolojik etkileri gösterilmiştir. Ayrıca BF veya anne sütü ile beslenmenin bebek mikrobiyatasındaki çeşitliliğe etkileri de incelenmiştir. Bu çalışmalardan bazıları literatür taraması sonucu araştırmacılar tarafından oluşturulan Çizelge 2.2' de gösterilmiştir.

2.3. Anne Sütü ve Mikrobiyaya İlişkisi

Erken yaşamda beslenme, bir bebeğin gelecekteki sağlığını şekillendirmede anahtar rol oynamaktadır. Anne sütü optimum bebek gelişimi için gerekli tüm besin faktörlerini sağladığından, bebeklerin beslenmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir (Beghetti ve diğerleri, 2019).

Anne sütü yenidoğanı aktif ve pasif olarak aşırı bağırsak iltihabına karşı koruduğu düşünülen gelişimsel ve bağışıklık artırıcı faktörler içermektedir (oligosakkaritler, immünoglobulinler, vb.) (Gregory ve diğerleri, 2016). Anne sütü oligosakkaritleri, sağlıklı term bebeklerin bağırsaklarında bulunan en önemli probiyotik grup olan *Bifidobacterium* (Underwood, 2019) dahil olmak üzere spesifik bakterilerin çoğalmasını teşvik eden prebiyotikler olarak işlev görmektedir (Arrieta, Stiemsma, Amenyoğlu, Brown ve Finlay, 2014).

Yakın zamana kadar anne sütü, steril bir sıvı olarak kabul ediliyordu. Sağlıklı kadınların anne sütünde canlı bakteri bulunduğuna dair raporların olmasına rağmen bakteri varlığının kontaminasyon veya enfeksiyona işaret ettiği düşünülüyordu, ancak birkaç araştırmacı, anne sütünün kommensal bakteri içerdiğini gösterdi (Kim, Y. S., Unno, Kim, B. Y., ve Park, 2020; Martín ve diğerleri, 2003). Günümüzde, anne sütünün bebeklerin kolonizasyonunu etkileyebilecek bol miktarda kommensal bakteri içerdiği kabul edilmektedir (Murphy ve diğerleri, 2017).

Anne sütü kommensal bakterileri yenidoğan bağırsak epitelinin farklılaşmasını, bağırsakla ilişkili lenfoid doku gelişimini ve yenidoğan bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını kolaylaştırmaktadır (Kordy ve diğerleri, 2020). Birçok çalışma anne sütü ve term bebek

gaitasının *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Staphylococcus* gibi belirli mikrobiyal soyları paylaştığını belgelemiştir (Asnicar ve diğerleri, 2017; Ferretti ve diğerleri, 2018; Murphy ve diğerleri, 2017). Anne sütünden izole edilen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin, bebeğin sağlığında yararlı bir rol oynadığı görülmektedir (Toscano, De Grandi, Grossi ve Drago, 2017).

Bebekler için vajinal yolla doğmuş olmak ve sadece anne sütüyle beslenmiş olmak hayatın erken dönemlerinde sağlıklı bir mikrobiyota geliştirmek için ideal koşul olarak kabul edilmektedir (Arbolea ve diğerleri, 2012). Anne sütünün bakteriyel bileşimindeki değişiklikler, annenin vücut kitle indeksi (VKİ), kilo alımı, hormonları, emzirme dönemi, gebelik yaşı ve doğum şekli ile ilişkilendirilmiştir (Cabrera-Rubio ve diğerleri, 2012; Khodayar-Pardo, Mira-Pascual, Collado ve Martínez-Costa, 2014).

Araştırmalar, anne sütünün diyabet, obezite ve iltihaplı bağırsak hastalığı gibi kronik hastalıkların riskini azaltmanın yanı sıra solunum ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına ve alerjik hastalıklara karşı koruma sağladığını göstermektedir. Yaşamın erken dönemlerinde şekillenen mikrobiyota kısa ve uzun vadeli bebek sağlığı durumuna katkıda bulunan ana faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Beghetti ve diğerleri, 2019).

2.4. Yenidoğanda Mikrobiyata Gelişiminin Uzun Vadede Sağlığa Etkileri

Çevresel maruziyetlerin, diyet ve genetik başta olmak üzere birçok faktörün hastalık riskini artırdığı bilinmektedir. Son yıllarda hastalıkların oluşmasında mikrobiyatanın rolü giderek daha fazla tanınmakta ve incelenmektedir. Çocukluk dönemindeki risk faktörlerinin yaşam boyu hastalık riski için özel bir öneme sahip olduğu belirtilmektedir (Mohammadkhah, Simpson, Patterson ve Ferguson, 2018).

Hayatın erken dönemlerinde kazanılan bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, ilerleyen dönemlerde kısa süreli hastalıklar ve kronik hastalıklar geliştirme riski ile ilişkilendirilmektedir (Giannattasio ve Guarino, 2018). Toplanan kanıtlar, bağırsakta bulunan mikroorganizmaların bebeklerin gelişimi ve bağışıklık sistemlerinin olgunlaşması üzerinde etkileri olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, hastalıklara yakalanma riskinin fetal gelişim döneminde ve hayatın erken dönemlerinde programlanabileceğini ve insan

mikrobiyotasının bu dönemdeki rolünü keşfetmeyi zorunlu kıldığını göstermektedir (Zhuang, L., Chen, Zhang, Zhuang, J., Li ve Feng, 2019).

Hayatın erken dönemlerinde NEK gelişimi yönünde öne sürülen hipotezlerden biri de anormal mikrobiyal kolonizasyonun olduğudur (Niemarkt ve diğerleri, 2019). NEK gelişen bebeklerde daha yüksek patolojik bakteri grubuna rastlanılmıştır (Leach ve diğerleri, 2015). *Sphingomonas spp.* önemli ölçüde NEK ile ilişkilendirilmiştir (Stewart ve diğerleri, 2013).

Yapılan son on yıllık çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının erken gelişiminin bebeklerin fizyolojisini ve sonraki sağlığını etkilediği gösterilmiştir (Tauchi ve diğerleri, 2019). Bu çalışmalarda egzema (Forno ve diğerleri, 2008; Hong ve diğerleri, 2010; Yap ve diğerleri, 2014), astım (Fujimura ve diğerleri, 2016; Thorburn ve diğerleri, 2015), tip 1 diyabet (Dunne ve diğerleri, 2014), besin alerjisi (Bunyavanich ve diğerleri, 2016; Hua, Goedert, Pu, Yu & Shi, 2016), obezite (Scheepers ve diğerleri, 2015), irritabl bağırsak hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı (Llewellyn ve diğerleri, 2018) ve nöropsikiyatrik hastalıklar (Erny ve diğerleri, 2015; Tomova ve diğerleri, 2015) mikrobiyata ile ilişkilendirilmiştir (Zhuang ve diğerleri, 2019).

Bazı çalışmalar egzamalı bebeklerde bağırsak mikrobiyata çeşitliliğinin önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (Forno ve diğerleri, 2008; Wang ve diğerleri, 2008). Atopi veya iltihaplanma ile ilişkili olduğu bilinen *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Ruminococcus gnavus* gibi çeşitli türlerin egzamalı bebeklerde önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Egzamalı bebeklerde *Akkermansia muciniphila*nın yüksek bolluğu, bağırsak bariyer fonksiyonunun bütünlüğünü azalttığı ve bu nedenle egzama gelişme riskini artırabildiği düşünülmüştür. Diğer taraftan, anti-enflamatuvar özellikleriyle bilinen *Bacteroides fragilis* ve *Streptococcus salivarius* egzamalı bebeklerde daha az miktarda bulunmuştur (Zheng ve diğerleri, 2016).

Çocuklarda gözlemlenen besin alerjisi insidansının son zamanlarda arttığı gözlenmektedir. Bu artışın nedeni bilinmemektedir. Olası faktörlerden birinin, erken bebeklik döneminde insan bağırsağını kolonize eden mikrobiyotadan kaynaklandığı düşünülmektedir (Zhuang ve diğerleri, 2019). Bu besin alerjili çocuklara bakıldığında özellikle 8 yaşına kadar süren süt alerjisi ile bağırsak mikrobiyata çeşitliliği ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte süt alerjisi

düzelen çocukların bebek iken bağırsak mikrobiyotasında *Clostridia* ve *Firmicutes* bakterilerinin zenginleştiği gözlenmiştir (Bunyavanich ve diğerleri, 2016).

Bağırsak mikrobiyotasının disbiyozunun obezitenin gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. Bebeklik döneminde dışkı örneklerindeki *Bifidobakteri* sayısı normal kilolu çocuklarda daha yüksekken, kilolu çocuklarda *Staphylococcus aureus* miktarı daha yüksek gözlenmiştir (Kalliomäki, Carmen Collado, Salminen ve Isolauri, 2008). Bağırsak mikrobiyotasının, özellikle *B. fragilis* grubunun, çocuklukta kilo gelişimi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Scheepers ve diğerleri, 2015).

İrritabl bağırsak sendromu sanayileşmiş ülkelerde en yaygın gastrointestinal hastalıklardan biridir. Genellikle konağın çevresel faktörlerle etkileşimi sonucu gelişen çok faktörlü bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Zhuang ve diğerleri, 2019). Çocuklarda gastrointestinal mikrobiyotası ile iritabl bağırsak sendromu arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Bununla birlikte yeni bir *Ruminococcus* benzeri mikroorganizma iritabl bağırsak sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Saulnier ve diğerleri, 2011).

Nöropsikiyatrik bozuklukların altında yatan mekanizmalara bakıldığında, bağırsak mikrobiyotasının beyin fizyolojisini etkileyebileceği görülmektedir. (Cryan ve Dinan, 2015). Son çalışmalarda otizmlili çocukların bağırsak mikrobiyotasının normal çocuklara göre farklı bolluklarda *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* içerdiği gösterilmiştir (Finegold ve diğerleri, 2010; Tomova ve diğerleri, 2015)

2.5. Yenidoğanda Sağlıklı Mikrobiyata Gelişimine Yönelik Hemşirelik Uygulamaları

Literatür incelendiğinde sağlıklı bir yenidoğan bağırsak mikrobiyotasının gelişimini desteklemek için perinatal ve pediatri hemşirelerinin dikkate almaları gereken önemli bilgiler görülmektedir (Yang ve diğerleri, 2016).

İnsan mikrobiyotasının sağlık üzerindeki önemli etkisi, hemşirelerin çeşitli mikrobiyal toplulukların temel yapılarını ve işlevlerini anlamalarını zorunlu kılmaktadır. Gastrointestinal ve vajinal mikrobiyotanın yapıları ve işlevleri hakkında artan bilğimiz, hemşirelerin çeşitli popülasyonlar için hedefli, kanıta dayalı eğitim ve bakım sağlamasına olanak tanımaktadır. Bir zamanlar kesin olarak tehlikeli istilacılar olarak görülen

mikroorganizmaların çoğu zaman organizmada kritik işlevler sağlayan bütünsel yoldaşlar olarak hizmet ettikleri kabul edilmiştir (McElroy, Chung ve Regan, 2017).

Yenidoğan mikrobiyotasının sağlığı nasıl etkilediğine dair artan kanıtlar göz önüne alındığında, hemşirelerin mikrobiyata hakkında temel bir anlayışa sahip olmaları ve bakım sağlarken bunu uygulayabilmeleri çok önemlidir. Yapılan çalışmalarla elde edilen kanıtlar hastalıkları tedavi etmek ve sağlığı geliştirmek için daha etkili müdahalelerin nasıl oluşturulacağına dair fayda sağlayabilir. Hemşireler hem bu tür araştırmalara katkıda bulunabilmeli hem de en son bulguları hasta bakımına dahil edebilmelidirler. Bu bölüm “Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları” ve “YYBÜ’de izlenen bebeklerde sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları” olarak verilmiştir.

2.5.1. Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları

Vajinal doğumun bir bebeğin gastrointestinal sistem mikrobiyotasının şekillenmesindeki rolü ve sezaryenle doğan bebeklerin vajinal olarak doğan bebeklerden farklı gastrointestinal sistem kolonizasyon modellerine sahip olduğu perinatal hemşireleri tarafından bilinmelidir (Bäckhed ve diğerleri, 2015). Hemşire tarafından gerçekleştirilen doğum ve doğum ortamındaki çeşitli rutin uygulamaların mikrobiyatayı etkileme potansiyeli vardır. Bu yüzden doğumda bulunan hemşirenin en önemli görevlerinden biri fetal kalp hızı ve uterus kontraksiyonu izlemenin yanı sıra servikal muayenelerin de güvenli uygulanmasını sağlamaktır. Vajinal mikrobiyal ortamı bozmamak için enfeksiyona yol açabilecek ve onu kolaylaştırabilecek gereksiz veya aşırı servikal muayenelerden kaçınılmalıdır (Dunn, Jordan, Baker ve Carlson, 2017).

Yenidoğan hemşirelerinin, kanıta dayalı bilgiler sayesinde anne sütü ve emzirmeyi kolaylaştırma sorumluluğu vardır (Spatz ve Edwards, 2016). Bebeğin mümkünse en kısa sürede kendi annesinin taze sütü ile beslenmesinin sağlanması ve her iki ebeveyni de içeren ten tene temasın başlatılması önemlidir (Rodriguez ve diğerleri, 2017).

Mastitis genellikle çok sayıda farklı faktörlerden kaynaklanabilen ve doğum sonrası dönemde en sık görülen meme iltihabı olarak tanımlanmaktadır (Contreras ve Rodríguez, 2011). Mastitis, emziren kadınların % 3–33’ünde, özellikle emzirmenin erken evrelerinde

görülmektedir (Mutic ve diğerleri, 2017). Bakteriyel mastitin, meme bezindeki *Staphylococcus spp.*, *Grup B Streptococci* ve diğer bakterilerin patojenik suşlarının aşırı çoğalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Maldonado-Lobón ve diğerleri, 2015). Mastitis, ağrı, ateş ve genel halsizlik yapması nedeniyle emzirmeye karşı bir engel oluşturmaktadır. Anneler genellikle enfeksiyonun bebeğe bulaşabileceği endişesi ile tedavi sırasında emzirmeye devam etme konusunda endişelidirler. Bakteriyel mastit için birinci basamak tedavi antibiyotiklerdir, bu durum annelerin bebeklerini emzirmeyi bırakmalarında önemli bir etkidir (Mutic ve diğerleri, 2017). Doğum sonrası hemşireler, mastiti önleme çabalarına yoğunlaşmalıdır. Emzirmeyi optimize etmek için birincil strateji, meme başı travmasını önlemek için uygun emzirme tekniklerinin öğretilmesidir. Emzirme üzerine annenin eğitilmesi ve anne-bebek arasındaki ten tene temasın sağlanması önemlidir. Tıkanmış meme kanallarını önlemek için annenin ılık kompresler yapması ve memelere nazikçe masaj yapması önerilebilir (Boran, 2020).

Hemşireler ayrıca yenidoğanları etkisiz beslenmeye neden olabilecek problemler açısından değerlendirmelidir. Enfeksiyon riskini azaltmak için stratejiler kullanmak emziren annelerde bakteriyel mastitis riskini azaltarak etkili emzirmenin sağlanması hedeflenmelidir (Cusack ve Brennan, 2011). Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyaya gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları Şekil 2.2’de verilmiştir.

2.5.2. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerde sağlıklı mikrobiyaya gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları

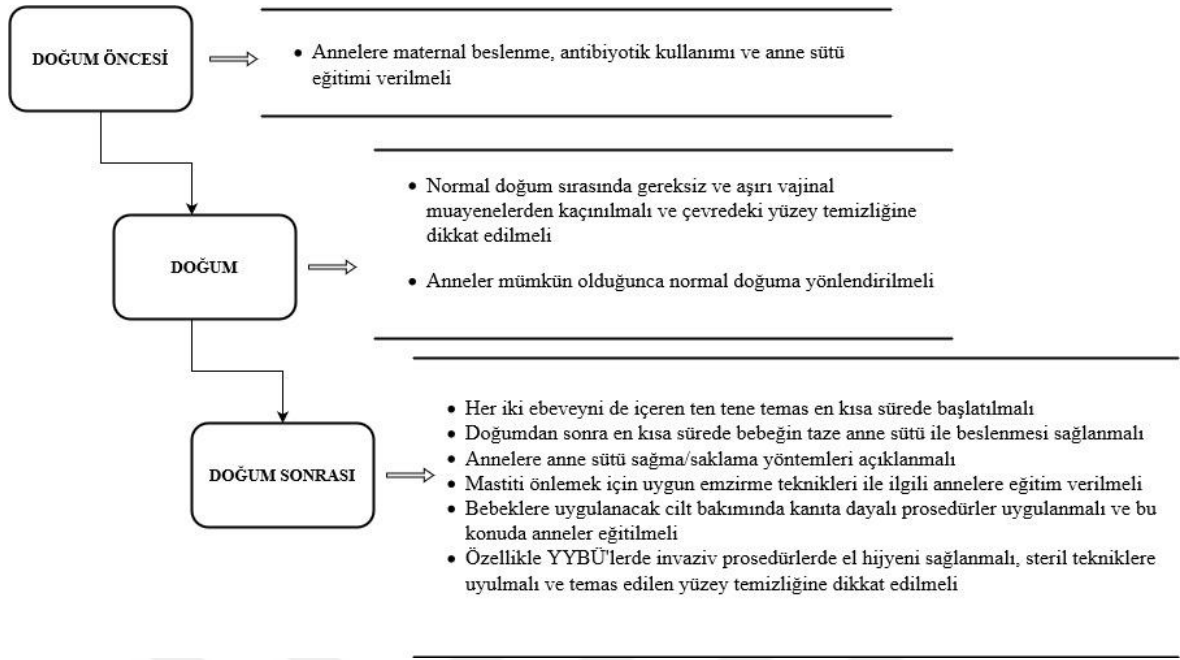
Yüksek riskli bebekler doğumdan sonra annelerinden ayrılmakta haftalarca hatta aylar boyunca YYBÜ’nün karmaşık ortamında bakılmaktadır. Her YYBÜ, ortak ve patojenik organizmaları içerebilen kendi mikroorganizma türlerine sahiptir (Bokulich, Mills, ve Underwood, 2013a; Hewitt ve diğerleri, 2013). Yüksek riskli term ve prematüre bebekler, doğumdan sonra YYBÜ bakım ortamından dolayı mikroorganizmalara karşı en savunmasız olanlardır. Yoğun bakım ortamında kullanılan hemen hemen her nesne ve ekipman, mikrobiyal kontaminasyon için bir rezervuar görevi görebilmektedir (Hartz ve diğerleri, 2015).

Bebegin YYBÜ’ye kabulünden itibaren hemşirenin mikrobiyaya gelişimini etkileyen faktörleri ve mikrobiyatanın hastalığın gelişiminde sahip olabileceği rolü değerlendirmeye başlaması önemlidir. İnvaziv prosedürler sırasında dikkatli el hijyeninin sağlanması, eldiven

takılması ve steril tekniklere uyulması gibi basit teknikler enfeksiyonları, özellikle de kan dolaşımı enfeksiyonlarını önleyebilir (Polin, Denson ve Brady, 2012). Yüzeylerde çevre bakterilerinin kolonizasyonunu azaltmak için dezenfektan solüsyonlarla rutin yüzey temizliği uygulanmalıdır (de Goffau ve diğerleri, 2011). Yoğun bakım hemşireleri annelerin, bebekleri için anne sütü temin etmeleri, bebeklerini emzirmeleri için güçlü savunucular olmalıdır (Arbolea ve diğerleri, 2012). Anne ve bebeği mümkün olduğunca yakın fiziksel temasta tutmak ve BF ile beslenmekten çok anne sütünü ve emzirmeyi desteklemek öncelik olmalıdır (Yang ve diğerleri, 2016). Özellikle antibiyotik tedavisi sırasında annenin kendi taze anne sütünün kullanılmasını büyük ölçüde teşvik edebilmelidirler (Rodriguez ve diğerleri, 2017).

Bebeklerin hastaneden taburculuğu sırasında anne sütü almalarını ve annelerin kişisel emzirme hedeflerine ulaşma fırsatına sahip olmaları beklenmektedir (Spatz ve Edwards, 2016). Bu bakımdan hemşirelerin bebek ve ailesini savunurken, bakımın mikrobiyaya üzerindeki etkisi hakkında tüm ekibe eğitim vermesi çok önemlidir (Rodriguez ve diğerleri, 2017).

Tüm bebeklerin, özellikle prematüre bebeklerin epidermal bariyerini korumak için kanıta dayalı cilt bakımı kılavuzları da uygulanmalıdır (Brandon ve diğerleri, 2018). Topikal yumuşatıcıların prematüre bebeklerde transepidermal su kaybını azaltmada ve cilt bütünlüğünü korumada etkili olduğu kanıtlanmıştır, ancak bazı çalışmalar, topical yumuşatıcıların kullanımının nozokomiyal enfeksiyon riskinin arttığını göstermiştir (Afsar, 2009; Hartz ve diğerleri, 2015). Hemşireler, anneleri bebekleri için kullandıkları cilt bakım ürünlerinin içeriklerini okumaları ve bebeklerinin cilt bütünlüğünü, mikrobiyatasını ve nihayetinde sağlıklarını etkileyebilecek uygulamalar hakkında bilinçli seçimler yapmaları konusunda desteklemelidir (Mutic ve diğerleri, 2017). Antibiyotik ihtiyacı olan yenidoğanlara antibiyotik reçete ederken dikkatli olunmalıdır (Fouhy, Ross, Fitzgerald, Stanton ve Cotter, 2012).



Şekil 2.2. Yenidoğanda sağlıklı mikrobiyata gelişimine yönelik hemşirelik uygulamaları

2.6. Bağırsak Mikrobiyata Analizinin Değerlendirilmesi

Bağırsak mikrobiyata analizinin değerlendirilmesinde altı başlık ele alınmıştır.

Gruplandırma analizi

Adonis, Anosim ve MRPP analizi

Mikrobiyata analizinde yapılan gruplandırmaların önemlilik dereceleri Adonis, Anosim ve Çoklu Yanıt Permütasyon Prosedürü - Multiple Response Permutation Procedure (MRPP) analizi ile belirlenmektedir. Adonis ile anlamlılık testleri gerçekleştirilmektedir. Anosim benzerlik analizi ile iki veya daha fazla örnekleme grubu arasında önemli bir fark olup olmadığı istatistiksel olarak test edilmektedir. MRPP ile iki veya daha fazla örnekleme grubu arasında önemli bir fark olup olmadığına dair bir test sağlanmaktadır (Warton, Wright ve Wang, 2012).

Alfa çeşitlilik (Alpha diversity)

Alfa çeşitliliği, örnek içindeki mikrobiyal topluluk çeşitliliğinin analizine uygulanmaktadır, tek numunenin çeşitliliğini analiz ederek, her bir numunedeki mikrobiyal toplulukların

zenginliğini ve çeşitliliğini bir dizi istatistiksel analiz ile göstermektedir (Bokulich ve diğerleri, 2013b).

Bebeklerin bağırsak mikrobiyotası örneklerinin alfa çeşitlilikleri kutu grafikleri ile gösterilmektedir. Operasyonel Taksonomik Birim - Operional Taxonomic Unit (OTU) analiz sonuçlarına göre alfa çeşitlilik indekslerine Observed OTU, Chao1, Shannon ve Simpson kutu grafikleri olmak üzere dört farklı yöntem ile belirlenmektedir. Grafiklerdeki Y eksenı bakteri türünü temsil etmektedir. Kutunun içindeki koyu siyah çizgiler ise medyan değerleri temsil etmektedir.

Beta çeşitlilik (Beta diversity) -temel bileşen analizi (Principle Component Analysis-PCA)

Beta çeşitliliği, mikrobiyal toplulukların bileşimlerine göre açık bir karşılaştırmasını temsil etmektedir. Beta çeşitlilik ölçütleri mikrobiyal topluluklar arasındaki farklılıkları değerlendirmektedir. Her bir topluluk örneği çifti arasındaki mikrobiyal toplulukları karşılaştırmak için örnekler arasındaki farklılığı yansıtacak şekilde bir kare “mesafe” veya “farklılık” matrisi hesaplanmaktadır (Baselga, 2010). Bu mesafe matrisindeki veriler, Temel Bileşen Analizi - Principle Component Analysis (PCA) ile görüntülenmektedir.

PCA, ortogonal dönüşüm kullanarak ve verilerin boyutlarını azaltarak verilerdeki temel bileşenleri ve yapıları çıkarmak için istatistiksel bir prosedürdür. Örnek çeşitliliğini en fazla yansıtan ilk iki eksenı en büyük ölçüde çıkarmaktadır, böylece yüksek boyutlu verilerin iki boyutlu bir grafikteki varyasyonunu yansıtabilir, bu da karmaşık verilere katıştırmanın basit ilkesini ortaya koymaktadır. Topluluğun örnekleri arasındaki bileşimi ne kadar benzer olursa, PCA grafiğindeki karşılık gelen veri noktalarının mesafesi o kadar yakın olmaktadır (Markopoulos, Kundu, Chamadia ve Pados, 2017).

Grafiklerdeki her nokta, Y ekseninde ikinci temel bileşen ve X ekseninde grup tarafından renklendirilen ilk temel bileşen tarafından çizilen bir örneği temsil etmektedir. PCA grupların ne kadar farklı özellikler gösterdiğini açıklamaktadır.

Bray-Curtis ısı haritası (heatmap)

Isı haritası, bir olgunun büyüklüğünü iki boyutta renk olarak gösteren bir veri görselleştirme tekniğidir. Renkteki varyasyon okuyucuya olgunun nasıl kümelendiği konusunda açık görsel ipuçları vermektedir (Wilkinson ve Friendly, 2009).

OTU Venn analizi

Venn diyagramları 1880 yılında John Venn tarafından tasarlanmıştır. Venn Diyagramı, her biri daire olarak gösterilen kümeler arasındaki olası mantıksal ilişkileri görsel olarak gösteren bir şemadır. Her küme, ortak noktaları bulunan bir obje veya veri dizisini simgeler. Birden çok dairenin çakışması kesişim noktası olarak bilinir, bu kesişim noktası üst üste binen kümelerin sahip olduğu tüm özellikleri taşıyan verileri içerir (Venn, 1880).

OTU kümeleme ve analiz sonuçlarına göre, OTU tablosu normalleştirilir, farklı örnekler (gruplar) için hem ortak hem de benzersiz mikrobiyaya çeşidi analiz edilir ve venn diyagramı oluşturulur. Her daire karşılaştırılan grup değerlerini temsil eder. Üst üste binen parçalardaki değerler yaygın OTU'ları temsil ederken, diğerleri her gruptaki spesifik OTU'ları temsil etmektedir.

Taxa-bar plots grafikleri

Taxa-bar Plots çeşitli taksonomik seviyelerde her taksonun ortalama bağıl bolluğunu gösteren yığılmış çubuk grafikleridir. Renkli çubuklarda belirtilen her renk farklı bakterileri temsil etmektedir (Richardson ve diğerleri, 2018). Grafiklerde bolluğu en fazla olan 10 bakteri türü gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. Bağırsak mikrobiyata analizi yöntemleri

Analiz	Yapılış amacı / Açıklama
Gruplandırma Analizi	
Adonis	Anlamlılık testleri gerçekleştirilmektedir.
Anosim	Benzerlik analizi ile iki veya daha fazla örnekleme grubu arasında önemli bir fark olup olmadığı istatistiksel olarak test edilmektedir.
MRPP	İki veya daha fazla örnekleme grubu arasında önemli bir fark olup olmadığına dair bir test sağlanmaktadır
Alfa Çeşitliliği	Örnek içindeki mikrobiyal topluluk çeşitliliğinin analizi için uygulanmaktadır, tek numunenin çeşitliliğini analiz ederek, her bir numunedeki mikrobiyal toplulukların zenginliğini ve çeşitliliğini bir dizi istatistiksel analiz ile göstermektedir.
Beta Çeşitliliği	Beta çeşitlilik ölçütleri mikrobiyal topluluklar arasındaki farklılıkları değerlendirmektedir.
Bray-Curtis Isı Haritası	Bir olgunun büyüklüğünü iki boyutta renk olarak gösteren bir veri görselleştirme tekniğidir.
OTU Venn Analizi	Her biri daire olarak gösterilen kümeler arasındaki olası mantıksal ilişkileri görsel olarak gösteren bir şemadır.
Taxa-bar Plots Grafikleri	Çeşitli taksonomik seviyelerde her taksonun ortalama bağıl bolluğunu gösteren yığılmış çubuk grafikleridir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Şekli

Bu araştırma yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütüyle beslenmenin bağırsak mikrobiyatasına etkisini incelemek için prospektif gözlemsel bir çalışma olarak yapılmıştır.

3.2. Araştırmanın Değişkenleri

- Bağımsız değişken: Prematüre bebeklerin taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmeleri ve cinsiyet
- Bağımlı değişken: Prematüre bebeklerin bağırsak mikrobiyata analiz sonuçları.

3.3. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri

Araştırma Fırat Üniversite Tıp Fakültesi Hastanesi YYBÜ’de yapılmıştır. Ünite 3. basamak yoğun bakım ihtiyacı olan özellikle doğum ağırlığı 1500 gramın altında olan prematüre bebeklere ve aynı zamanda yoğun bakım tedavisine gereksinimi olan term bebeklere hizmet verilmektedir. Ünite 44 yataklı olup, 2 bölüm prematüre bebek, 1 bölüm prematüre bebek sepsis, 1 bölüm büyük bebek ve 1 bölüm büyük bebek sepsis olmak üzere toplam 5 bölümden oluşmaktadır ve tam kapasite çalışmaktadır. Üniteye yatan ve antibiyotik ihtiyacı olan bebeklere sıklıkla aminoglikozid ve sefalosporin grubu antibiyotikler uygulanmaktadır.

Üniteye 32 hemşire ile bakım hizmeti sürdürülmekte ve hemşireler 08-16, 16-08 nöbet sistemi ile çalışmaktadır. Her nöbette bir hemşire ortalama beş bebeğin bakım ve tedavisinden sorumludur. Hemşirelerden 15’i “Yenidoğan Yoğun Bakım Hemşireliği Sertifikası” almıştır. Sağlık Bakanlığı tarafından üniteye yılda iki kez Yenidoğan Yoğun Bakım Hemşireliği Sertifika programı açılmaktadır. Üniteye çalışan hemşireler hizmet içi eğitim şeklinde her yıl “Emzirme Danışmanlığı” eğitimi almaktadır. Ayrıca Sağlık Müdürlüğü tarafından açılan anne sütü ile ilgili eğitime yılda 3-4 hemşirenin katılımı sağlanmaktadır. Hemşireler annelere ziyaret saatinde anne sütünün önemi, anne sütünün sağlanması, anne sütünün saklanması ve doğru emzirme teknikleri konularında sözel ve görsel materyaller ile eğitim vermektedir.

Ünitede anne sütlerini saklamak amacı ile üç adet derin dondurucu (-18°C) ve bir adet buzdolabı (4°C) bulunmaktadır. İl merkezinde oturan anneler bebeklerini görmeye genellikle her gün ya da iki-üç günde bir gelmektedirler. İl dışında yaşayan anneler ise genellikle haftada bir bebeklerini görmeye gelmektedirler. İl merkezinden gelen anneler bebeklerini sık ziyaret ettikleri için genellikle sütlerini taze olarak getirebilmektedirler.

Hastaneye ziyarete gelen tüm annelerden standart kilitli süt saklama poşeti ile sütlerini getirmeleri istenmektedir. Annelerin sütlerini nasıl saklayacağı ve üniteye nasıl getirmeleri gerektiği hemşireler tarafından anlatılmaktadır. Anneler sütlerini süt saklama poşetleri ile YYBÜ'ne taze olarak ya da dondurarak getirmektedirler. Taze sütler her bebeğin kendi hemşiresi tarafından teslim alınmaktadır ve üstüne bebeğin ismi tarih ve saat yazılarak buzdolabının raf kısmına koyulmaktadır. Dondurulmuş sütler de her bebeğin kendi hemşiresi tarafından teslim alınmaktadır ve üstüne bebeğin ismi tarih ve saat yazılarak derin dondurucuya koyulmaktadır. Ziyarete gelen anneler eğer taze süt getirmiş ise bebeğe taze süt verilmektedir. Dondurulmuş süt getirilmişse derin dondurucudaki sütler beslenme saatinden 2-3 saat önce buzdolabının raf kısmında tutulup erimesi beklenildikten sonra bebeğe verilmeden klinik hemşiresi tarafından önce ılık suyun içine konularak ısıtılmaktadır.

Yoğun bakım ünitesinde anne, bebek ve ünite müsait ise her beslenmede anneler bebeklerini emzirebilmektedirler. Emzirme konusunda yetersiz olan annelere ünitedeki hemşireler yardımcı olmaktadır. Ünitede uygun olan her bebeğe kanguru bakımı yapılmaktadır. Çalışmamızdaki bebeklerin ilk 10 günlük yaşamlarında annelerinin il dışında olmaları, sağlık problemlerinin olması ya da bebeğin uygun olmaması gibi nedenlerle kanguru bakımı yapılmamıştır.

3.4. Araştırmanın Evreni

Araştırma evrenini Aralık 2018 - Şubat 2020 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi YYBÜ'de izlenen gestasyon yaşı 28-32⁶ hafta olan 235 prematüre bebek oluşturmuştur.

3.5. Araştırmanın Örneklem Seçimi

Araştırmada bebekler beslenme durumlarına göre TAS alanlar ve DAS alanlar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bebeklerin TAS ya da DAS grubu olarak hangi grupta yer alacakları

10 günlük beslenme solüsyonlarının özelliklerine göre yapılmıştır. Bebeklerin aldıkları beslenme solüsyonlarının özellikleri (TAS, DAS, BF) 10 gün süreyle düzenli olarak kaydedilmiş ve 10 günlük beslenme miktarları toplanarak yüzdesi alınmıştır. 10 günlük beslenmelerinin %70'inden fazlasını TAS alan bebekler TAS grubuna, 10 günlük beslenmelerinin %70'inden fazlasını DAS alan bebekler ise DAS grubuna alınmıştır. 10 günlük beslenmelerinin %70'inden fazlası TAS ve DAS olmayıp BF olan bebekler örnekleme alınmamıştır (Cong ve diğerleri, 2017).

Araştırmada örneklem büyüklüğünün ve özelliklerinin belirlenmesinde literatürde beslenmenin bağırsak mikrobiyotasını nasıl etkilediğini açıklayan çalışmalardan yararlanılmıştır. Literatürde benzer yapılmış çalışmaların örneklem sayıları baz alınarak her grupta 20 bebek olmasına, grupların cinsiyet ve gestasyon haftası olarak eşitlenmesine karar verilmiştir (Akagawa ve diğerleri, 2019; Cai ve diğerleri, 2019; Cong ve diğerleri, 2017; Lee ve diğerleri, 2018; Ma ve diğerleri, 2020; Parra-Llorca ve diğerleri, 2018). Örneklem sayısı her iki grupta 20 bebek olacak şekilde toplam 40 bebeğe ulaşıldığında çalışma sonlandırılmıştır. Örnekleme oluşturan 40 bebeğin her birinden mekonyum ve 10. gün gaita olmak üzere ikişer örnek alınarak tüm bebeklerden toplamda 80 örnek alınmıştır.

Araştırmanın yapıldığı YYBÜ'de belirtilen tarihlerde 28-32⁶ haftalık toplam 235 bebeğin yatışı yapılmıştır. Veri toplama sürecinde bu bebeklerden 42 tanesinin yatıştan iki-üç gün sonra oral alımı kapanıp beslenemediği için, 15 bebek 0-7 gün içerisinde ex olduğu için, 48 bebeğe aminoglikozid ve sefalosporin gruplarından farklı bir antibiyotik başlandığı için, 12 bebeğin ailesi çalışmayı kabul etmediği için, 25 bebeğin mekonyum ya da 10. gün gaitaları araştırmacı tarafından alınamadığı için, 40 bebeğe anne sütü getirilmemesinden dolayı ağırlıklı olarak bebek formülü ile beslendikleri için ve 13 bebeğin annesinin gebelik ve emzirme döneminde düzenli kullandıkları ilaç olması nedeniyle toplam 195 bebek çalışmaya dahil edilmemiştir. 40 bebek örnekleme alınmıştır.

3.6. Araştırma Kriterleri

Yenidoğanlar için

- 28 - 32⁶ gestasyon haftasında doğan (bu haftalarda neredeyse tüm bebeklerin orogastrik (OG) sonda ile beslenmesinden dolayı)

- Aminoglikozid ve sefalosporin grubu antibiyotik verilen bebekler
- Postnatal yaşı 0. gün olan,
- Planlı sezeryan ile doğan (Bäckhed ve diğerleri, 2015),
- Orogastrik (OG) sonda ile beslenen bebekler dahil edilmiştir.

Anneler için

- 18 yaş ve üstünde olan,
- Gebelikte antibiyotik kullanımı olmayan (Bokulich ve diğerleri., 2016).

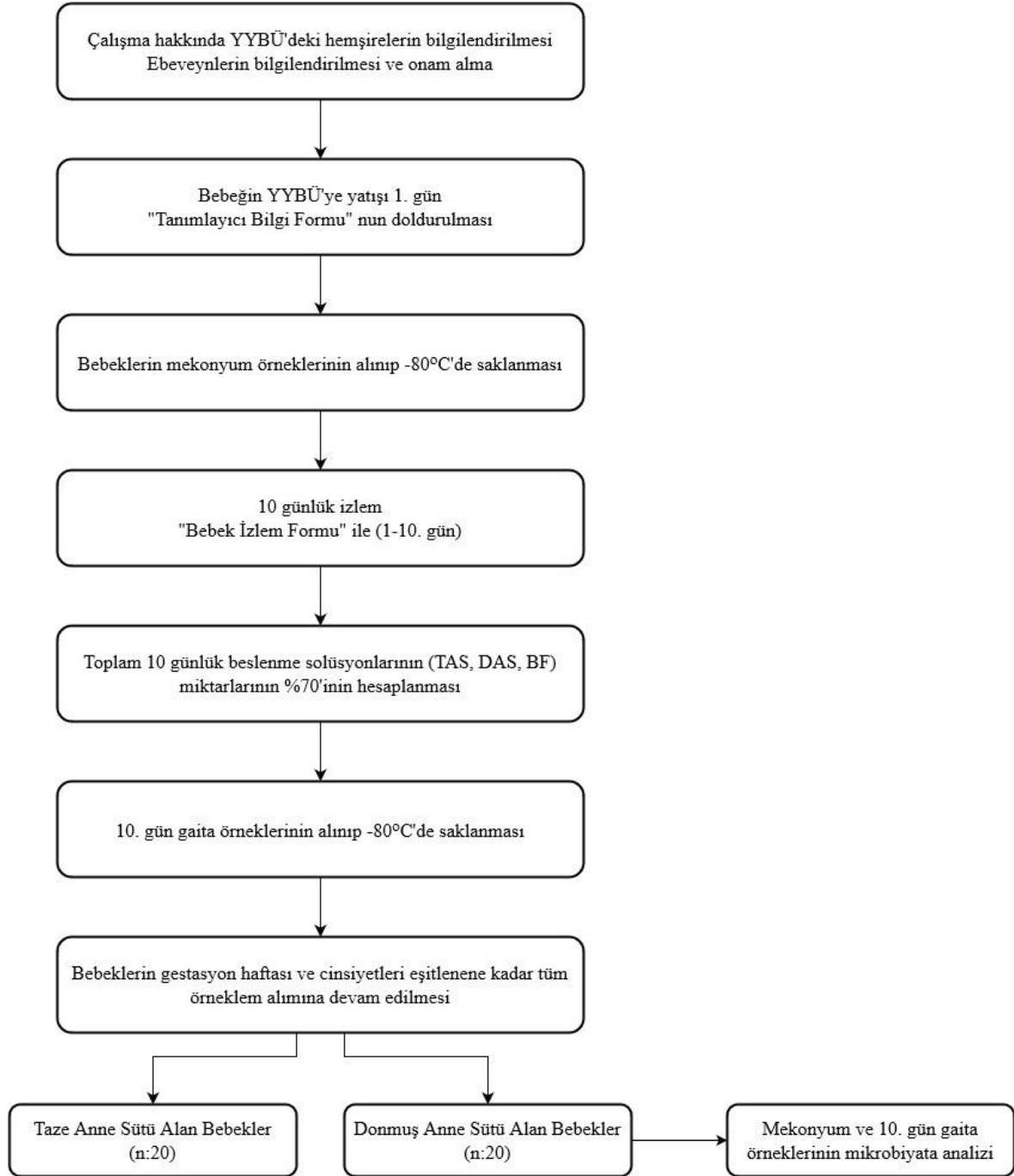
3.6.1. Dışlama kriterleri

Yenidoğanlar için

- Vajinal yol ile doğan,
- Doğum eylemi başlamış olup sezeryana alınan,
- NEK şüphesi olan,
- Oral beslenemeyen,
- Aminoglikozid ve sefalosporin grubu antibiyotik dışında antibiyotik verilen,
- Bağırsak florasını etkileyebilecek herhangi bir probiyotik ürün verilen,
- Kanguru bakımı yapılan,
- Mekonyum ya da 10. gün gaitaları araştırmacı tarafından alınamayan,
- 10 günlük beslenmelerinin %70'inden fazlasını taze ya da dondurulmuş anne sütü alamayıp BF alan bebekler çalışma dışında tutulmuştur (Cong ve diğerleri, 2017).

Anneler için

- Gebelik ve emzirme döneminde herhangi bir probiyotik ürün alan,
- Erken membran rüptürü (EMR) tanısı alan,
- 18 yaşından küçük olan,
- Taze ya da dondurulmuş hiçbir şekilde anne sütü getiremeyen,
- Gebelik ve emzirme döneminde düzenli ilaç kullanan anneler çalışma dışında tutulmuştur.



Şekil 3.1. Akış şeması

3.7. Verilerin Toplanması

3.7.1. Veri toplama formları

Verilerin toplanmasında “Tanımlayıcı Bilgi Formu” ve “Bebek İzlem Formu” kullanılmıştır.

Bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita örnekleri steril olarak toplanmıştır.

Tanımlayıcı bilgi formu

Yenidoğanın ve annesinin demografik özelliklerini belirlemeye yönelik formdur. Literatür doğrultusunda araştırmacılar tarafından hazırlanmıştır (Akagawa ve diğerleri, 2019; Cong ve diğerleri, 2017; Cong ve diğerleri, 2016; Li ve diğerleri, 2020; Padilha ve diğerleri, 2019; Palmquist ve diğerleri, 2020; Wang ve diğerleri, 2020; Yılmaz ve Aykut, 2019; Zanella ve diğerleri, 2019). Formda yenidoğanın gestasyon yaşını, cinsiyetini, doğum kilosunu, doğumdaki bebek sayısını, bebeğin YYBÜ yatış tanısını, doğum anında resüsitasyon yapılma durumunu sorgulayan altı soru yer almaktadır. Yenidoğanın annesinin demografik özelliklerini tanımlamak amacıyla annenin yaşını, aile yapısını, eğitim durumunu, gebelik sayısını, anne sütü ile ilgili eğitim alma durumunu, bebeğini ilk gördüğü zamanı, bebeğin yenidoğan yoğun bakımda görülme sıklığını belirlemeye yönelik yedi soru yer almaktadır (EK-1).

Bebek izlem formu

Form araştırmacılar tarafından literatür incelenerek hazırlanmıştır. (Akagawa ve diğerleri, 2019; Cong ve diğerleri, 2017; Cong ve diğerleri, 2016; Li ve diğerleri, 2020; Padilha ve diğerleri, 2019; Palmquist ve diğerleri, 2020; Wang ve diğerleri, 2020; Zanella ve diğerleri, 2019). Bebeğin beslenme sıklığını, bebeğin aldığı beslenme solüsyonunun miktarını, beslenme solüsyonunun özelliğini (TAS, DAS, BF) ve aynı zamanda gaita örneklerinin alınma zamanını belirlemeye yönelik bilgilerin kaydedildiği bir formdur (EK-2). Bu form her bebek için 10 gün boyunca günlük doldurulmuştur.

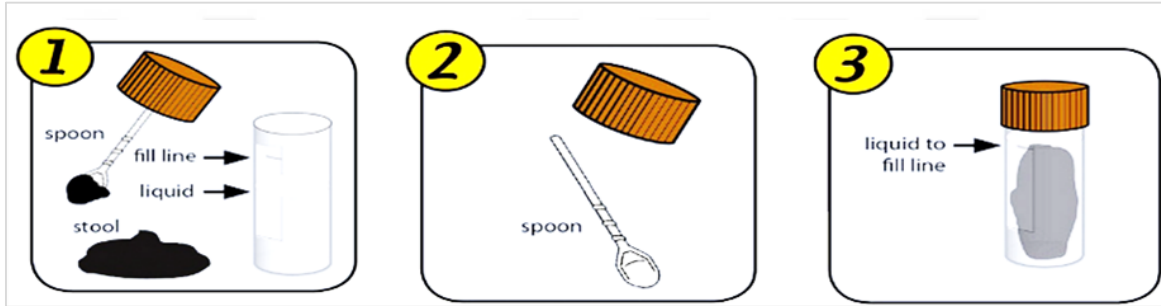
3.7.2. Gaita örneği toplama protokolü

Bebeklerin mekonyumlarının ve 10. gün gaita örneklerinin alınması gaita toplama protokolüne göre yapılmıştır. Gaita örneği toplama protokolü aşağıda verilmiştir.

1. Gaita örneklerini toplamadan önce eller iyice yıkanmalıdır.
2. Bebek bezi düz olarak açılmalıdır.
3. Steril kaşıklı gaita kabı dikkatli bir şekilde açılarak kapağın iç kısmı üstte kalacak şekilde temiz bir alana bırakılmalıdır,
4. Steril gaita kabının kapağına yerleştirilmiş kepçe kullanılarak bezden kaşığı dolduracak kadar gaita örneği alınmalıdır.

5. Alınan gaita örneğini steril kab içine konularak kapağı kapatılmalıdır.
6. Steril gaita kabına bebeğin adı, tarih, saat ve çalışma numarası doğruluğu kontrol edilerek etiketlenmelidir.
7. Gaita örnekleri alınır alınmaz -80°C dondurucuda saklanmalıdır (McInnes ve Cutting, 2010).

Kendinden poşetli, kaşıklı, steril gaita kaplarına (Şekil 3.2) konulan gaita örnekleri alınır alınmaz Ultra Low Freeze marka -80°C'ye kadar dondurma özelliği olan dolaba konularak analiz zamanına kadar bekletilmiştir



Şekil 3.2. Mekonyum/gaita numunelerinin alınması

3.8. Araştırmanın Uygulanması

Araştırmanın verileri, araştırmanın yapıldığı kurumdan yazılı izin ve etik kurul onayı alındıktan sonra Aralık 2018 - Şubat 2020 tarihleri arasında toplanmıştır. Çalışma öncesinde YYBÜ'deki hemşireler ve doktorlar çalışma konusunda bilgilendirilmiştir. YYBÜ'deki hemşireler rutinde bebeğin aldığı beslenme solüsyonunu hemşire gözlem formuna bebek anne sütü almış ise "AS", bebek formülü almış ise "BF" olarak kaydetmektedirler. Bebeklerin aldıkları anne sütünün taze ya da dondurulmuş olup olmadığı kaydedilmediği için çalışma öncesinde anne sütü alan bebeklerin TAS, DAS alanlar şeklinde hemşire gözleme kaydedilmesi konusunda hemşirelere bilgilendirme yapılmıştır.

Verilerin toplanması aşamasında her gün 08-17 saatleri arasında araştırmacı YYBÜ'ye yatışı gerçekleştirilen, araştırma kriterlerine uyan yenidoğanların ebeyveynleri ile görüşerek araştırma hakkında bilgi vermiş, yazılı ve sözlü onamlarını almıştır (EK-24). Onamları alınan bebekler için "Tanımlayıcı Bilgi Formu" doldurulmuştur. Tanımlayıcı bilgi formunda annelere yönelik olan sorular annelere sorularak, yenidoğana yönelik olan sorular bebeğin

dosyasından bakılarak araştırmacı tarafından doldurulmuştur. Form ünitenin içindeki ebeveyn bekleme odasında doldurulmuş ve form doldurma süresi yaklaşık 10-15 dk. zaman almıştır.

Yoğun bakıma yatışı gerçekleştiren ve araştırma kriterlerine uyan yenidoğanların beslenme türleri “Bebek İzlem Formu” ile takip edilmiştir. Bu forma bebeklerin beslenme solüsyonları türü (TAS, DAS, BF) ve miktarı 10 gün süreyle düzenli kaydedilmiştir. Süt sağma pompası ile sağılan tüm anne sütleri üniteye standart kilitli anne sütü saklama poşetleri içinde ebeveynler tarafından getirilmiştir. Bebeklerin yatışından sonraki ilk gaitaları olan mekonyumları ve beslenmelerinin 10. günündeki gaitaları alınmış ve alınma zamanları “Bebek İzlem Formu”na kaydedilmiştir.

Taze anne sütü alan bebekler

Buz aküleri ile üniteye getirilen TAS’lar üzerine bebek adı tarih ve saat yazılarak, üniteye bulunan buzdolabının raf kısmında (4° C) maksimum 3 güne kadar muhafaza edilmiştir (Bilgen, Kültürsay ve Türkyılmaz, 2018). Tüm TAS’lar üniteye aynı koşullarda muhafaza edilmiştir. TAS getirilen bebeklerin kendi annelerinin taze anne sütü ile beslenmeleri klinik hemşireleri tarafından sağlanmıştır.

Dondurulmuş anne sütü alan bebekler

Buz aküleri ile üniteye getirilen DAS’lar üzerine bebeğin adı tarih ve saat yazılarak, üniteye bulunan derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilmiştir. Tüm DAS’lar üniteye aynı koşullarda muhafaza edilmiştir. DAS getirilen bebeklerin sütleri klinik hemşireleri tarafından beslenme öncesi çözdürülmüştür böylece bebeklerin kendi annelerinin dondurulmuş anne sütü ile beslenmeleri klinik hemşireleri tarafından sağlanmıştır.

TAS ve DAS getirilen bebeklerin beslenme şekli klinik hemşiresi tarafından hemşire gözlem formuna kaydedilmiştir. Araştırmacı yapılan bu kayıt işlemlerini günlük olarak takip ederek “Bebek İzlem Formu”na bebeğin günde kaç öğün beslendiği, hangi beslenme solüsyonunu (TAS, DAS, BF) aldığını ve hangi miktarlarda beslendiğini “Bebek İzlem Formu”na kaydetmiştir. Bebeklerin gece beslenmeleri de gece nöbetçi olan klinik hemşiresi tarafından hemşire gözlem formuna kaydedilmiştir. Tüm bebeklere 10 günlük bir izlem yapılmıştır. Bebeklerin bazılarında ortalama 10 günden sonraki zamanlarında antibiyotik değişikliği ya

da emzirmeye yönelik girişimler olduğu için verilerin homojenliği açısından çalışmada beslenme süresi 10 gün ile sınırlandırılmıştır. Bebeklerin beslenmeleri bu 10 günlük sürede değerlendirilmiştir. 10. günün sonunda bebeklerin aldıkları beslenme solüsyonlarının yüzdeleri hesaplanmıştır. 10 günlük beslenmelerinin %70'inden fazlasını TAS oluşturuyorsa TAS grubuna, DAS oluşturuyorsa DAS grubuna dahil edilmiştir. 10 günlük beslenmelerinin %70'inden fazlasını BF oluşturuyorsa bu bebekler çalışma dışında tutulmuştur. Gruplar tüm örnekler alındıktan sonra belirlenmiştir. Gruplar cinsiyet ve gestasyon haftaları benzer olacak şekilde eşitlenmiştir. Bu izlem aşamasında tüm bebeklerin gaita mikrobiyaya örnekleri doğumdan sonraki ilk gaitası (mekonyum) ve 10. günün sonundaki gaitası steril olarak alınarak -80° C de analiz zamanına kadar saklanmıştır. Analiz sonuçları “Bebek İzlem Fromu”na kaydedilmiştir.

3.8.1. Steril gaita örneklerinin toplanması

Araştırmacılar gaita örneklerinin uygun tekniklerle alınması ve saklanması konusunda online olarak bir saatlik eğitim almıştır. Eğitim gaita örneklerinin mikrobiyal analizinin yapıldığı Diagen Laboratuvarı Biyoinformatik uzmanı tarafından yapılmıştır. Eğitim gaita örneklerinin alınmadan önceki hazırlıkları, gaita örneklerinin alınma şeklini, kullanılacak gaita örneği kabının niteliğini, gaita örneklerinin saklanma koşullarını, gaita örneklerinin kaç derecede ne kadar sürede saklanabileceğini ve saklanmış gaita örneklerinin analiz transportunun nasıl yapılacağını içermiştir.

Araştırmada mekonyum ve 10. gün gaita örnekleri araştırmacı tarafından gaita toplama protokolü uygulanarak alınmıştır. Araştırmacı ünite de bulunduğu 08-17 saatleri içinde bebeklerin bezlerini aralıklı olarak kontrol ederek mekonyum ve 10.gün gaita örneklerinin takibi sağlanmıştır. Araştırma kapsamında olan fakat mekonyumu ya da 10. gün gaitasını gece yapan bebeklerin örnekleri araştırmacı tarafından alınamadığı için çalışma dışında tutulmuştur.

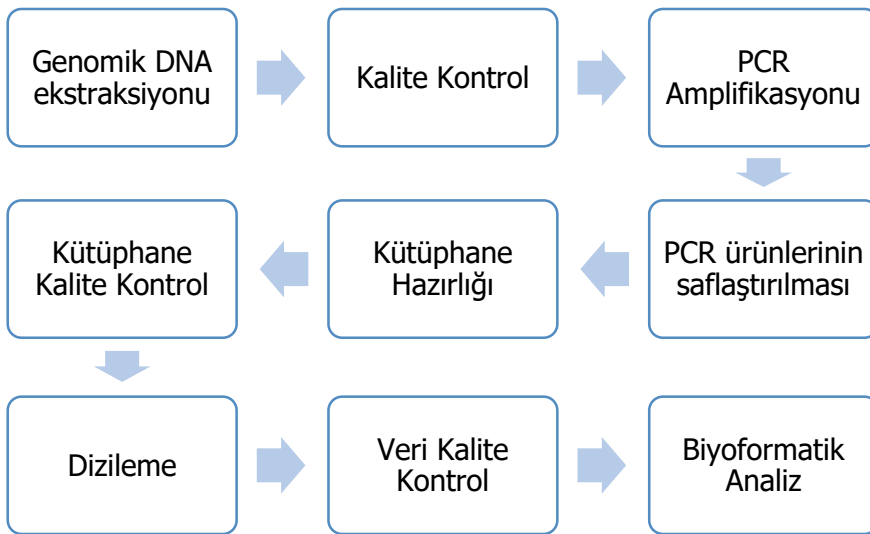
3.9. Bağırsak Mikrobiyaya Analizi

Bağırsak mikrobiyotası analizleri “Novogene: Genome Sequencing Company” tarafından gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilmiş DNA'dan 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesinin sekanslanması yöntemi ile gaita numuneleri analiz edilmiştir. Analiz aşamaları şunlardır:

1. Gaita numunelerinin toplanması
2. DNA ekstraksiyonu
3. Sekans öncesi PCR ve kütüphane hazırlığı aşaması
4. Biyoinformatik analizler

16S ribozomal RNA (rRNA), prokaryotik hücrelerdeki küçük ribozomun 30S küçük alt biriminin bileşenidir ve küçük ribozomal alt biriminin ikincil yapısında yer alan yaklaşık 30-100 baz çifti uzunluğunda 9 Hiperdeğişken Bölge (V1-V9) içermektedir. Koruma derecesi, hiperdeğişken bölgeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir; daha fazla korunan bölgeler, daha yüksek dereceli taksonomiyle ve daha az korunmuş bölgeler, cins ve türler gibi daha düşük derecelerle ilişkilidir. Bu nedenle, 16S rDNA, bakteriyel filogeni ve sınıflandırmaların yeniden yapılandırılmasında kullanılabilmektedir (Caporaso ve diğerleri, 2012; Caporaso ve diğerleri, 2011; Consortium, 2012)

Ham DNA örneklerinden nihai verilere kadar, numune testi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Polymerase Chain Reaction (PCR), kütüphane hazırlama ve sekanslama dahil olmak üzere her adım verilerin kalitesini ve analiz sonuçlarını doğrudan etkilemektedir. Verilerin güvenilirliğini doğrulamak için, prosedürün her aşamasında kalite kontrol (quality control-QC) yapılmıştır. Hazırlık ve sekanslama aşamasında izlenen işlem basamakları Şekil 3.3’de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Bağırsak mikrobiyaya analizi hazırlık ve sekanslama aşamasında izlenen işlem basamakları

Gaita numunelerinin toplanması

Bağırsak mikrobiyota analizi için bebeklerin ilk gaitası olan mekonyum alınıp 10 gün beslendikten sonra 10. gündeki gaita örnekleri alınmıştır. Steril tek kullanımlık falkon tüplere numuneler alınarak çalışma gününe kadar -80 °C şartlarında muhafaza edilmiştir. Muhafaza edilen numuneler çalışmanın yapılacağı laboratuvara -80 °C şartlarını sağlayacak şekilde kuru buz ile transfer edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Gaita numunelerinin kuru buz ile transferi

DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyon protokolü için, QuickGene (Dokudan DNA ekstraksiyon kiti) ekstraksiyon cihazı kullanılmıştır. İlk olarak, 25 mg gaita numunesi 250 µl MDT (Doku Lizis) solüsyonu ile birlikte homojenizasyon tüpüne aktarılmıştır. Homojenize hale gelmesi için tüpün içerisine 15mg 0.1 mmø cam boncuk veya 10 tane 1.0 mmø zirkon boncuk eklenmiştir. Homojenizatörde 5000 rpm’de 2x120 saniye uygulama yapılmıştır. Numune, homojenize edildikten sonra, 25 µl EDT (Proteinaz K) solüsyonu eklenip 56 °C’de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra, oda sıcaklığında 10 dakika 15000g santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra 200 µl süpernatant 1,5 mL’lik mikro tüpe aktarılmıştır. Üzerine 180 µl LDT (Hücre Lizis) solüsyonu eklenip 15 saniye vorteks yapıldıktan sonra mikro tüp 70 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bir sonraki aşamada, 240 µl %99 soğuk etanol eklenip 15 saniye vorteks yapılmıştır. Mikro tüpün bütün içeriği QuickGene (Kurabo) filtreli kasete aktarılmıştır ve cihaz protokolü takip edilerek yıkamalar ve elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 750 µl WDT (wash buffer) solüsyonu kullanılarak üç defa yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonucunda 200 µl CDT (elüsyon buffer) ile

sulandırılmış ortalama 50-60 ng genomik DNA elde edilmiştir. DNA'nın kalite ve saflığı Colibri Titertek Berthold ve Qubit florometer 2.0 (dsDNA HS Kit ThermoFisher) cihazı ile yapılmıştır.

Sekans öncesi PCR ve kütüphane hazırlığı aşaması

Nükleik asit konsantrasyonuna göre, DNA 1 ng/μL olacak şekilde steril su ile sulandırılmıştır. Daha sonra Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs) aracılığıyla 16s rRNA gen bölgesine (16SV3-V4) özel primerler kullanılarak barkodlarla birlikte çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin miktar tayini için ürünle aynı konsantrasyonda SYB-Green içeren yükleme tamponu ile karıştırılarak %2'lik agaroz jel üzerinde elektroforeze tabi tutulmuş ve 400-450bp bandındaki örnekler ileri aşamada kullanılmak üzere seçilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin saflaştırılması aşamasında Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany) kullanılmıştır. Illumina için NEBNext® Ultra™ DNA Kütüphanesi Hazırlama Kiti kullanılmıştır. Qubit ile ölçülen kütüphaneler Illumina platformu ile analiz edilmiştir.

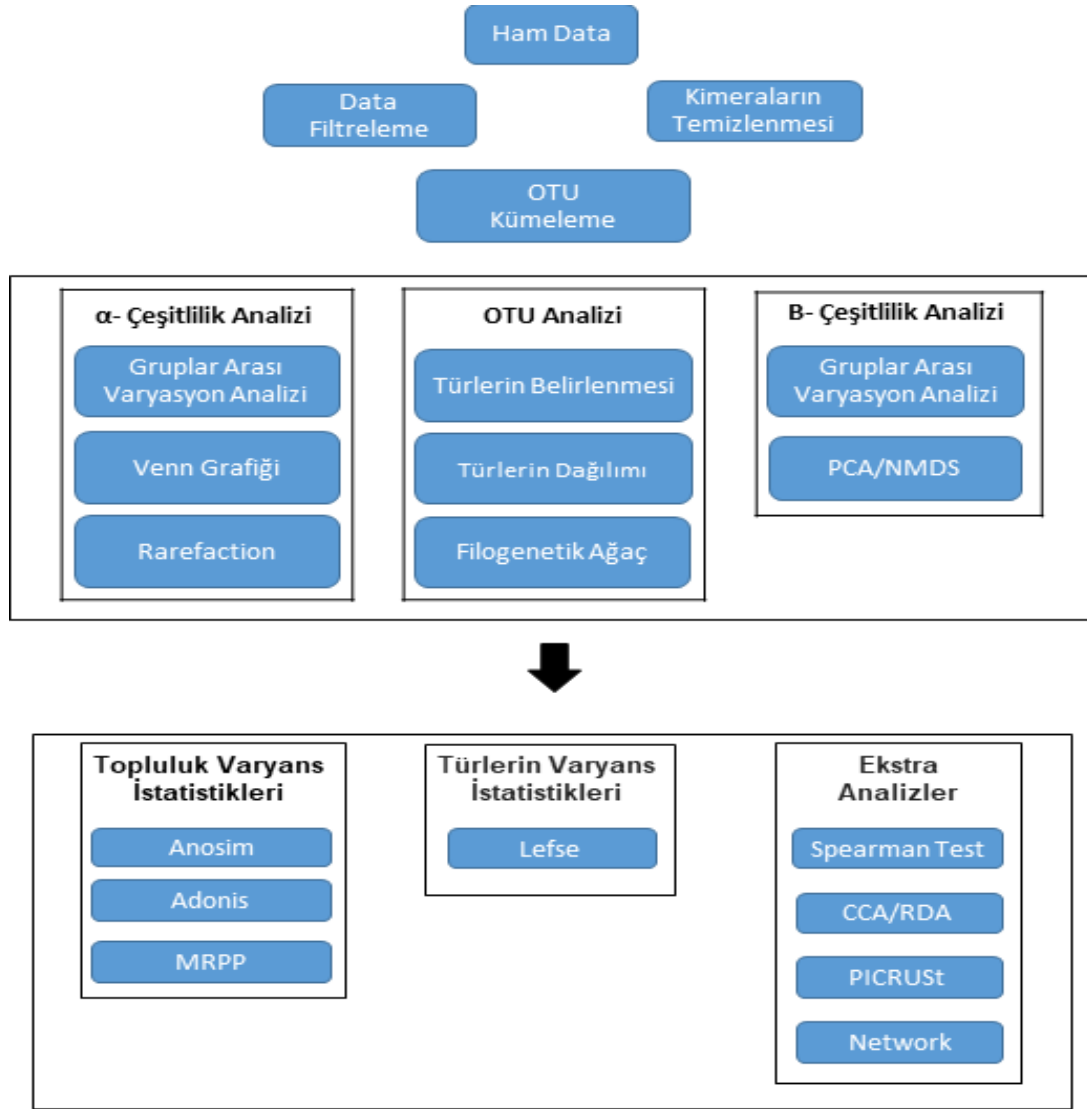
Biyoinformatik analizler

16S rRNA gen içeriğinden elde edilen veri filogenetik ve hizalama (alignment) tabanlı yaklaşımlar ile data çözümlemesinden en yüksek seviyede verim alınmasını sağlamaktadır. Özgün moleküler barkodlar ile okuma çiftleri ayrıştırılmış ve pair-end (çift uçlu) okumaları FLASH (V1.2.7) kullanılarak birleştirilmiştir. FLASH yazılımı DNA fragmentinin karşılıklı kesişen sonlarından oluşturulan okumaya bazı okumaların örtüşmesiyle dahi pair-end'leri birleştirebilmesi için tasarlanmıştır. QIIME (V1.7.0) kalite kontrol prosesine göre raw taq'lardaki yüksek kalite filtresi ile temiz taq'lar elde etmek için spesifik filtreleme koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Bu taq'lar UCHIME algoritması kullanılarak kimera sekansları tespiti için referans database (Gold database) ile karşılaştırılmış ve KİMERA sekansları çıkarılmıştır. Sonunda efektif taq'lar elde edilmiştir. Ek olarak, birleştirilen okuma sonuçlarına kalite filtresi uygulanmış ve beklenen hata oranı (P-value) 0,05 üzerinde olanlar elenmiştir. 16S rRNA gen dizileri UPRASE (Uparse v7.0.1001) algoritması kullanılarak %97 benzerlik kesim oranı (cut-off) ile OTU kümelerine ayrılmıştır. Taksonomik sınıflara karar vermek için sadece 16S V3- V4 bölgesini içeren SILVA veri tabanının optimize edilmiş versiyonu ile OTU'lar haritalanmıştır. Ayrılmış (demultiplexed) okumaların

UPARSE OTUs kullanılarak haritalanması ile yoğunluklar elde edilmiştir. Tüm OTU'ların temsili dizilerinin filogenetik ilişkisini elde etmek için, çok sayıda diziye karşılaştırılabilir olan MUSCLE (Sürüm 3.8.31) kullanılmıştır.

Böylece, göreceli türler, zenginlik ve bolluk dağılımları alfa çeşitlilik (observed species, ACE, Chao 1, Shannon ve Simpson), beta çeşitlilik (Ağırlıksız UniFrac ve Ağırlıklı UniFrac), taxa-bar plots gibi görseller ile analiz edilebilmiştir.

Öte yandan, OTU kümeleme sonuçları ile çoklu dizi hizalamaları gerçekleştirilmiş ve filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Örnekler veya mikrobiyal topluluğun yapısı ile ilgili gruplar arasındaki farklar boyut küçültme (PCA ve NMDS) ile açıklanmıştır. LEfSe, Anosim ve MRPP gibi istatistiksel yöntemler gruplar arasındaki mikrobiyal topluluk farklılık yapısının önemi ile test edilmiştir. Veri analizi iş akışı şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Veri analizi iş akışı

3.9.1. Dizileme verisi elde edilemeyen numuneler

Sekans analizi sonucunda 80 adet (40 gaita ve 40 mekonyum) gaita numunesinden 50 adet (38 adet gaita ve 12 adet mekonyum) numunenin dizileme verileri elde edilmiştir. PCR görsel sonucunda 30 (2 adet gaita, 28 adet mekonyum) adet numunede 16S V3-V4 gen bölgesine ait bant gözlemlenmemiştir.

PCR bant elde edilememesine neden olabilecek durumlar

- Mekonyumun yapışkan özellik göstermesi nedeniyle ekstraksiyon verimini düşürmesi ve PCR inhibe edici etki göstermesinden dolayı sonuç alınamayan mekonyum örneklerinde nükleik asit eldesinin zorlaşmış olması olası nedenlerden biridir.

- Mikrobiyota çalışmalarında genel olarak dışkının baş ve uç kısmı yerine bağırsak lümenine daha çok temas eden orta kısımların kullanıldığı göz önüne alındığında sonuç alınamayan gaita örneklerinde kolonizasyonun yeterli olmaması durumu ya da bağırsak lümeninden geçerken lümeneye sürtünmeden gaitanın direkt olarak dışarı çıkması sorun oluşturmuş olabilir.
- Numune alındıktan sonra uzun süre koruyucu malzemeler olmadan sıcak ortamlarda saklanması durumudur. Örnek alındıktan sonra en fazla 30 dakika içerisinde muhafaza edilmesi gerekmektedir. Muhafaza koşulları +4°C için 1-2 saat, -20°C için 4 gün, önerilen muhafaza koşulu ise -80°C' de uzun sürelerdir. Alınan numune koruyucu malzeme olmadan oda koşullarında muhafaza edilerek saklanıldığında ve ya transfer edildiğinde ortamın pH değeri değişeceğinden hücreler patlamaya ve nükleik asitler degrade olmaya başlamaktadır.

Sorunları çözmeye yönelik yapılan deneyler

- PCR bantları elde edilemeyen numuneler 3 defa tekrar kurulumu yapılmıştır. Sonuç elde edilememiştir.
- PCR bantları elde edilemeyen numuneler farklı PCR protokol denemeleri ile kurulum yapılmıştır. Sonuç elde edilememiştir.
- PCR bantları elde edilemeyen numuneler için ekstraksiyon yöntemi değiştirilmiş ve numuneler tekrar ekstrakte edilmiştir. 1-2. basamaklarda uygulanan adımlar tekrarlanmıştır. Sonuç elde edilememiştir.

3.10. Etik Konular

Araştırmanın yürütülebilmesi için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulundan (30.11.2018 tarihli, E.55091 sayılı) (EK-24) ve Fırat Üniversitesi Hastanesinden (14.12.2018 tarihli E.46424 sayılı) (EK-25) izin yazıları alınmıştır. Çalışma için gerekli bütçe ise Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) kapsamında onaylanan 47/2019-11 proje numaralı doktora tez projesi için sağlanan destek ile karşılanmıştır.

Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde bebeği izlenen annelere araştırma ile ilgili açıklamalar yapıldıktan sonra çalışmaya katılmayı kabul eden annelerden sözlü ve yazılı bilgilendirilmiş

onam alınmıştır (EK-5). Çalışmaya alınan bebeklerin hiçbirinin beslenme şekline müdahale edilmemiştir. Bebeklerin üniteye alacakları anne sütlerini engelleyici ya da taze getirilen anne sütlerini dondurmaya yönelik hiçbir girişimde bulunulmamıştır. Bebekler rutin beslenmelerini almışlardır.

3.11. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmanın verileri IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences Statistics) 22.0 istatistik paket programında analiz edilmiştir. Araştırma verilerinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Araştırmada istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Araştırmada değerlendirilen parametreler ve uygulanan istatistiksel analizler şunlardır:

- Tanımlayıcı özelliklerin dağılımında yüzde, median±standart sapma, minimum-maksimum değerler kullanılmıştır.
- Normal dağılım göstermeyen sürekli değişken verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.
- Normal dağılım göstermeyen kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare Testi kullanılmıştır.
- Normal dağılım gösteren bağımsız gruplarda T-testi kullanılmıştır.

3.11.1. Bağırsak mikrobiyata analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Bağırsak mikrobiyata analiz sonuçlarını değerlendirmek amacıyla aşağıdaki yöntemler kullanılmıştır. Bağırsak mikrobiyata analiz sonuçlarını değerlendirme yöntemlerine yönelik detaylı bilgi genel bilgiler bölümünde “Bağırsak Mikrobiyata Analizinin Değerlendirilmesi” başlığında verilmiştir.

- Gruplandırma Analizi: Gruplandırma analizi gruplar arasında mikrobiyata çeşitliliği açısından birbirinden farklılık olma durumunu ve çalışmada doğru bir gruplama yapıp yapılmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.
- Alfa çeşitlilik (Alpha diversity): Alfa çeşitliliği mikrobiyal çeşitliliği belirlemek amacıyla yapılmıştır.

- Beta çeşitlilik (Beta diversity) -Temel bileşen analizi (Principle Component Analysis-PCA): Beta çeşitliliği mikrobiyal çeşitliliklerdeki farklılığı ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.
- Bray-Curtis ısı haritası (Heatmap): Mikrobiyal çeşitliliğin kümeleşme gösterme durumlarını renklendirme yöntemiyle belirlemek amacı ile ısı haritası tekniği kullanılmıştır.
- OTU Venn Analizi: Belirlenmiş gruplardaki mikrobiyal çeşitliliklerin grup içinde dağılımını göstermek amacıyla venn diyagramından faydalanılmıştır
- Taxa-bar Plots Grafikleri: Belirlenen gruplardaki bakterilerin filum, sınıf, takım, aile ve cinslerine yönelik bolluk seviyelerini gösterebilmek amacıyla taxa-bar plots grafikleri kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Bu bölümde, prematüre bebeklerin TAS ya da DAS ile beslenme durumlarının bebeklerin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmadan elde edilen bulgular iki başlık altında ele alınmıştır;

1. TAS ve DAS grubundaki bebeklerin ve annelerinin tanımlayıcı özelliklerine ilişkin bulgular
2. TAS ve DAS grubundaki bebeklerin bağırsak mikrobiyotası analiz sonuçlarına ilişkin bulgular

4.1. Taze ve Dondurulmuş Anne Sütü Grubundaki Bebeklerin ve Annelerinin Tanımlayıcı Özelliklerine İlişkin Bulgular

Çizelge 4.1. Taze ve dondurulmuş anne sütü grubundaki bebeklerin tanımlayıcı özelliklerine göre dağılımları

	Taze Anne Sütü Grubu (n = 20)		Dondurulmuş Anne Sütü Grubu (n = 20)		Test	
	M±SD	Min-Mak	M±SD	Min-Mak	U*	p
Gestasyon Haftası	31,15 ±1,268	29 - 32	30,85 ± 1,461	28 - 32	172,000	0,398
					t**	
Doğum kilosu	1675 ± 339	1030 - 2400	1700 ± 436	1020 ± 2490	-0,210	0,834
	n	%	n	%	X ^{2****}	
Cinsiyet						
Kız	10	%50	10	%50	0,000	1,000
Erkek	10	%50	10	%50		
Bebek Sayısı						
Tek Bebek	12	%60	16	%80	1,905	0,168
İkiz Bebek	8	%40	4	%20		
Doğum Sırasında Resüsitasyon						
Var	12	%10	1	%5	0,360	0,548
Yok	8	%90	19	%95		
Tanı						
PM+RDS	12	%60	13	%65	1,131	0,568
PM	5	%25	6	%30		
PM+IUGG	3	%15	1	%5		

t*: Bağımsız Gruplarda T Testi, U*: Mann Whitney U Testi, X^{2****}: Ki - Kare Testi, M: Median, SD: Standart Hata, PM: Premature, RDS: Respiratuar Distres Sendromu, IUGG: İntrauterin Gelişme Geriliği, P: Anlamlılık derecesi.

Çizelge 4.1’de TAS ve DAS grubundaki bebeklerin tanımlayıcı özelliklerine ilişkin bulgular verilmiştir. TAS ve DAS grubundaki bebekler cinsiyet ve gestasyon haftaları açısından eşleştirilmiştir, bebeklerin doğum kiloları ortalamaları sırasıyla 1675 ± 339 ve 1700 ± 436 olup aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

Bebeklerin aldıkları tanılar incelendiğinde her iki grupta da bebeklerin yarısından fazlasının (TAS:%60, DAS: %65) PM+RDS tanısı ile izlendikleri tespit edilmiş, TAS ve DAS grubunun doğum öncesi ikiz gebelik oranı (TAS:%40, DAS:%20) açısından ve doğum sırasında bebeklere resüsitasyon yapılma durumu (TAS: %10, DAS: %5) açısından incelenmiş olup aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.2. Taze ve dondurulmuş anne sütü grubundaki bebeklerin annelerinin tanımlayıcı özelliklerine göre dağılımları

	Taze Anne Sütü (n = 20)		Dondurulmuş Anne Sütü (n =20)		Test	
	M ± SD	Min - Mak	M ± SD	Min - Mak	t*	p
Anne yaşı	27 ± 7,7	17 - 44	32 ± 4,7	22 - 38	-2,12	0,04
U**						
Anne gebelik sayısı	2 ± 1,9	1 - 7	3 ± 1,5	1 - 6	157,500	0,239
X ^{2***}						
Eğitim Durumu	n	%	n	%		
İlkokul	7	%35	13	%65		
Ortaokul	3	%15	1	%5	7,800	0,050
Lise	3	%15	5	%25		
Üniversite	7	%35	1	%5		
Ekonomik Durum						
Gelir Giderden Az	10	%50	8	%40		
Gelir Gidere Eşit	7	%35	10	%50	0,952	0,621
Gelir Giderden Fazla	3	%15	2	%10		
Aile Yapısı						
Çekirdek	12	%60	15	%75	1,026	0,311
Geniş	8	%40	5	%25		
Anne Sütü Eğitimi						
Aldı	5	% 25	3	%15	0,625	0,429
Almadı	15	%75	17	%85		
Bebeği İlk Görme						
İlk gün	9	%45	3	%15		
İkinci gün	11	%55	12	%60	8,043	0,018
1 hafta içinde	0	%0	5	%25		
Yoğun Bakımda Bebeği Ziyaret Etme						
Günde 1 kez	10	%50	0	%0		
İki günde 1 kez	7	%35	0	%0	34,000	0,000
Haftada 1 kez	0	%0	17	%85		
Haftada 2 kez	3	%15	3	%15		

t*: Bağımsız Gruplarda T Testi, U**: Mann Whitney U Testi, X^{2***}: Ki - Kare Testi, P:Anlamlılık derecesi.

Çizelge 4.2’de TAS ve DAS grubundaki bebeklerin ailelerinin sosyodemografik özellikleri ve anneye yönelik bilgiler yer almaktadır. Her iki gruptaki bebeklerin anne gebelik sayısı, eğitim durumu, ekonomik durumu, aile yapısı, doğum öncesi anne sütü eğitimi alıp almama

durumları açısından aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

TAS ve DAS grubundaki bebeklerin annelerinin yaşları değerlendirildiğinde sırasıyla 27 ± 7.7 ve 32 ± 4.7 olarak belirlenmiş ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (t : -2.12 ve p : 0.04).

Doğum sonrası annelerin bebeklerini ilk gördüğü zaman incelendiğinde TAS grubundaki annelerin ilk gün %45'inin, ikinci gün ise %55'inin bebeklerini gördüğü, DAS grubundaki annelerin ilk gün %15'inin, ikinci gün ise %60'ının bebeklerini gördüğü tespit edilmiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (U : 8.043 ve p : 0.018).

Annelerin yoğun bakım ünitesinde bebeklerini ziyaret etme sıklıkları incelendiğinde TAS grubundaki annelerin %50'sinin günde bir kez, DAS grubundaki annelerin ise %85'inin haftada bir kez bebeklerini ziyaret ettikleri tespit edilmiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (U : 34.000 ve p : 0.000).

4.2. Taze ve Dondurulmuş Anne Sütü Grubundaki Bebeklerin Bağırsak Mikrobiyotası Analiz Sonuçlarına İlişkin Bulgular

Bu bölümde bebeklerin bağırsak mikrobiyotası analiz sonuçlarına ilişkin bulgular aşağıdaki altı başlık altında verilmiştir.

1. Gruplandırma Analizi
2. Alfa çeşitlilik (Alpha diversity)
3. Beta çeşitlilik (Beta diversity) - PCA
4. Bray-Curtis ısı haritası (Heatmap)
5. OTU Venn Analizi
6. Taxa-bar Plots Grafikleri

4.2.1. Gruplandırma analizi

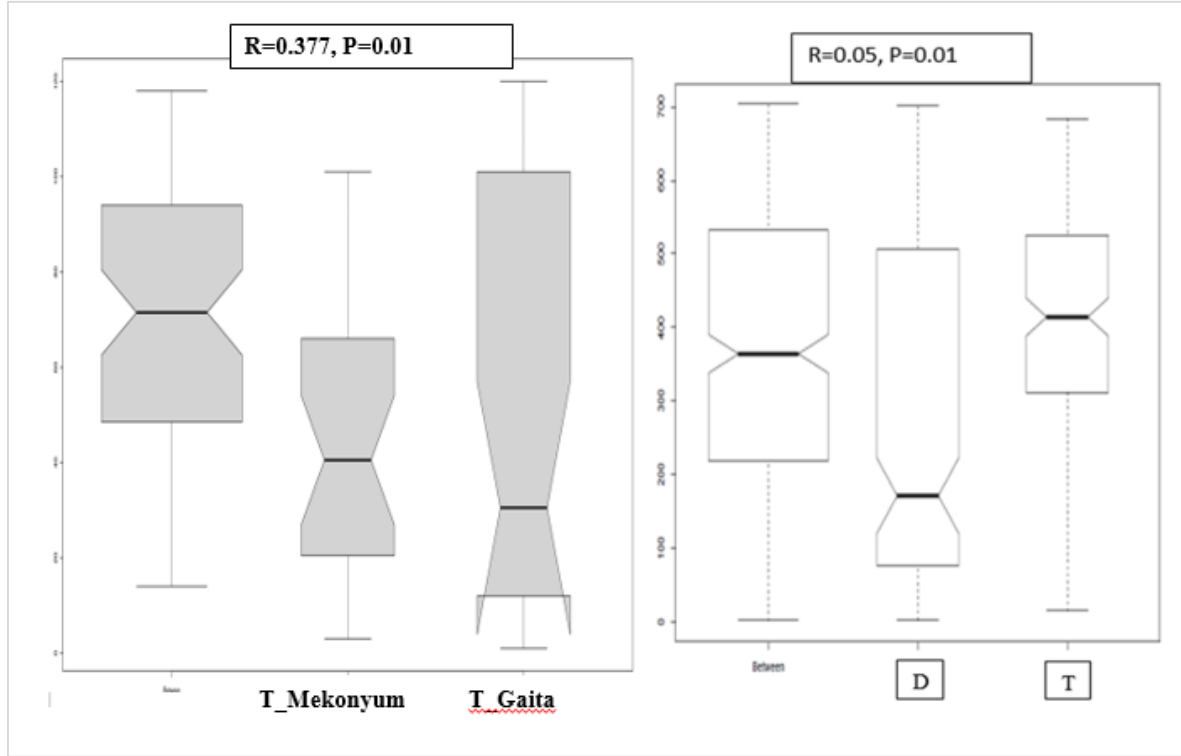
Adonis, Anosim ve MRPP analizi

Yapılan Adonis, Anosim ve MRPP analizlerine göre bebeklerin analizi yapılan mekonyum ve 10. gün gaitaları karşılaştırılmıştır. TAS alan tüm bebeklerin ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının her iki grupta da kendi içlerinde mikrobiyaya çeşitliliği açısından birbirinden farklı olduğu ve çalışma için doğru bir gruplama yapıldığı belirlenmiştir ($p<0.05$). TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:8) ve 10. gün gaitalarının (n:8) mikrobiyaya çeşitliliği açısından birbirinden farklı olduğu ve çalışma için doğru bir gruplama yapıldığı saptanmıştır ($p<0.05$). (Çizelge 4.3, Şekil.4.1).

TAS ve DAS grubundaki bebeklerin analiz yapılan mekonyumları (n:11) ve 10. gün gaitalarının (n:11), DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:3) ve 10. gün gaitalarının (n:3), TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının, DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10.gün gaitalarının, TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10.gün gaitalarının karşılaştırıldığı gruplarının mikrobiyaya çeşitliliği açısından benzer özellikte olduğu belirlenmiştir Çizelge 4.3 ($p>0.05$).

Çizelge 4.3. Adonis ve MRPP gruplandırma analizi

Gruplar	Adonis p	MRPP p
TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:11) ve 10. gün gaitalarının (n:11) mikrobiyaya özellikleri	0,292	0,329
TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:8) ve 10. gün gaitalarının (n:8) mikrobiyaya özellikleri	0,023	0,027
DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:3) ile 10. gün gaitalarının (n:3) mikrobiyaya özellikleri	0,1	0,1
TAS (n:20) ve DAS (n:20) alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyaya özellikleri	0,016	0,007
TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerin mekonyumlarının mikrobiyaya özellikleri	0,383	0,364
DAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerin 10.gün gaitalarının mikrobiyaya özellikleri	0,978	0,987
TAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerin 10.gün gaitalarının mikrobiyaya özellikleri	0,887	0,889



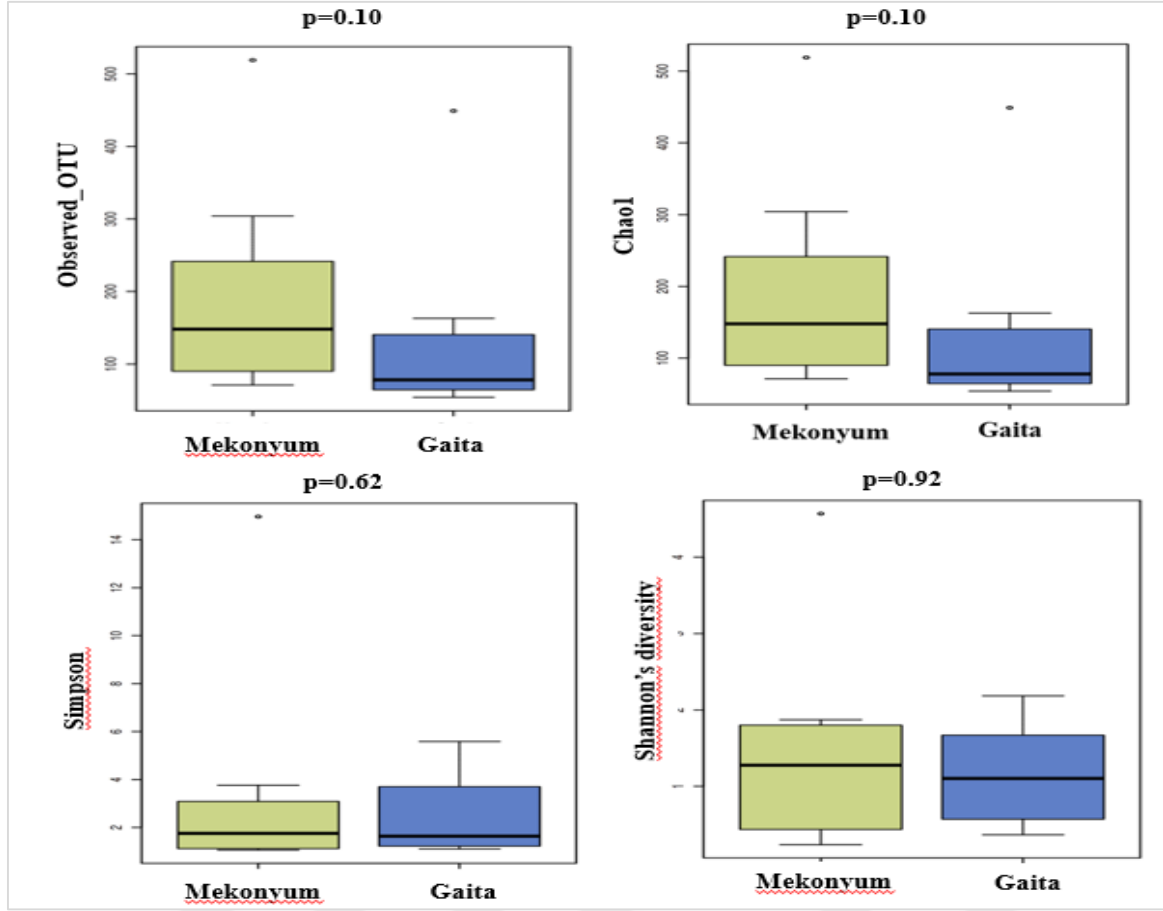
D: Dondurulmuş anne sütü grubu, T: Taze anne sütü grubu.

Şekil 4.1. Anosim gruplandırma analizi

4.2.2. Alfa çeşitlilik (Alpha diversity)

Şekil 4.2’ de beslenme türünden bağımsız olarak bebeklerin analiz yapılan mekonyumları (n:11) ve 10. gün gaitalarının (n:11) mikrobiyata alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

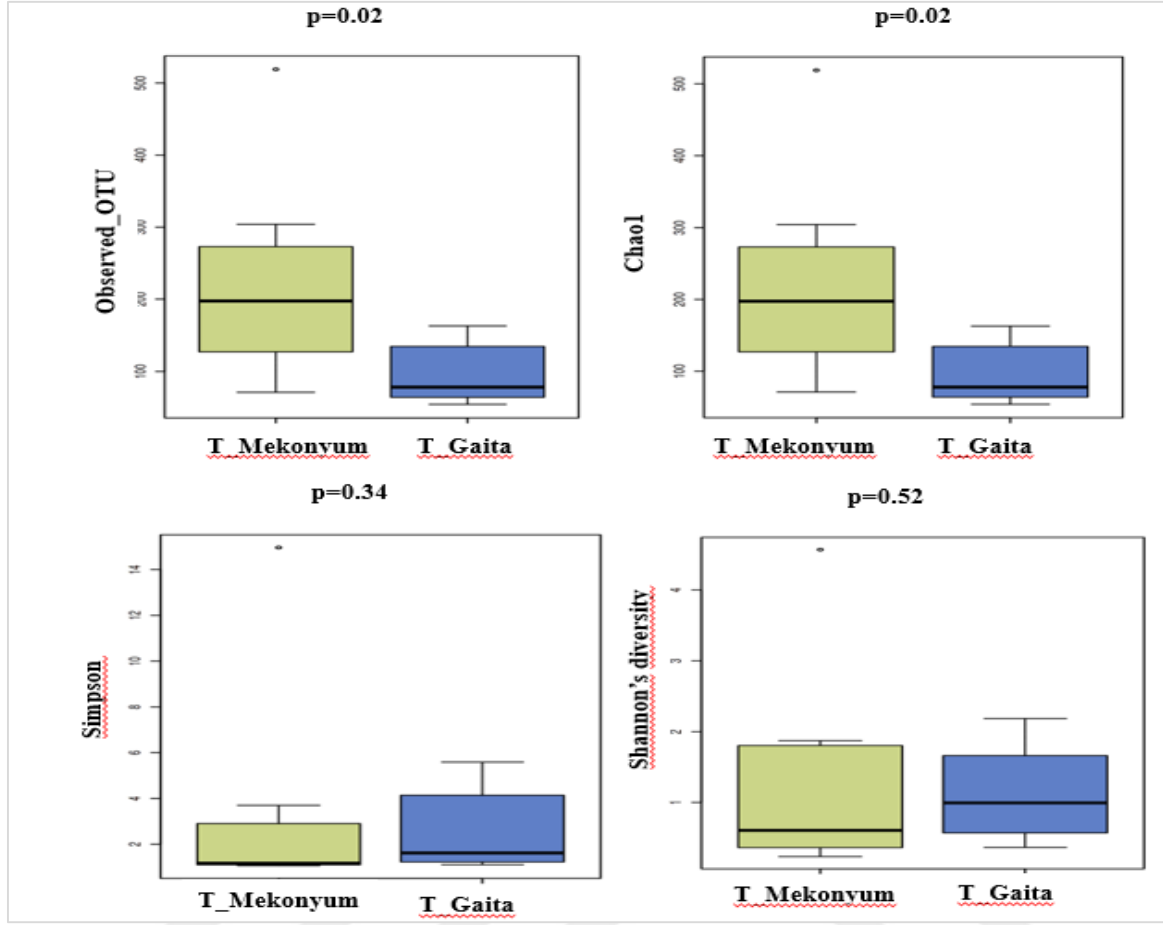
TAS ve DAS gurubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) mikrobiyalarının tüm yöntemlerde alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p>0.05$, Şekil 4.2).



Şekil 4.2. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları ve 10. gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

Şekil 4.3' de TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının mikrobiyata çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10.gün gaita (n:8) mikrobiyalarının Simpson ve Shannon's diversity dışındaki yöntemlerde alfa çeşitlilik açısından farklılaştığı görülmüştür ($p < 0.05$, Şekil 4.3).

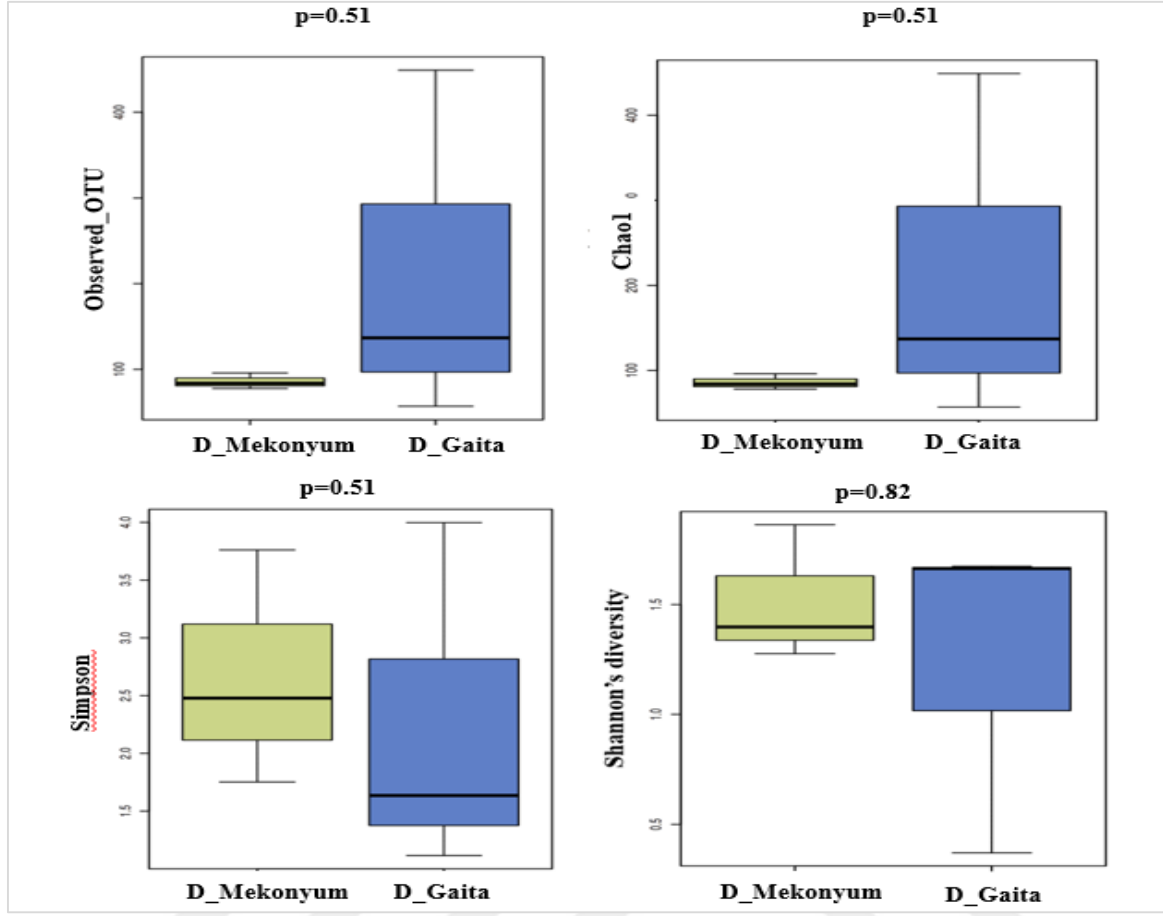


T: Taze anne sütü

Şekil 4.3. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

Şekil 4.4’de DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının mikrobiyaya çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10.gün gaita mikrobiyalarının (n:3) tüm yöntemlerde alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p>0.05$, Şekil 4.4).

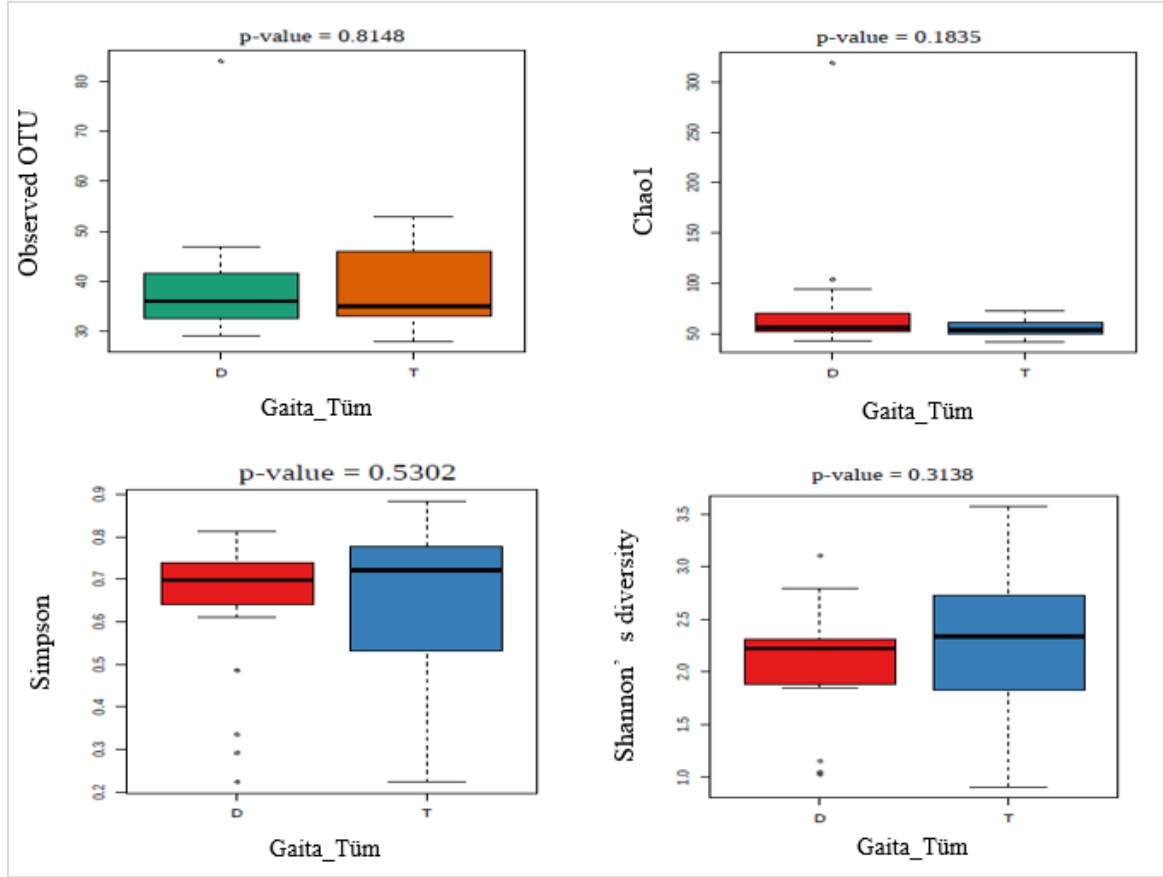


D: Dondurulmuş anne sütü

Şekil 4.4. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

Şekil 4.5' de TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitaları (n:20) ile DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının (n:20) mikrobiyata çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitaları ile DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyata alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p>0.05$, Şekil 4.5).

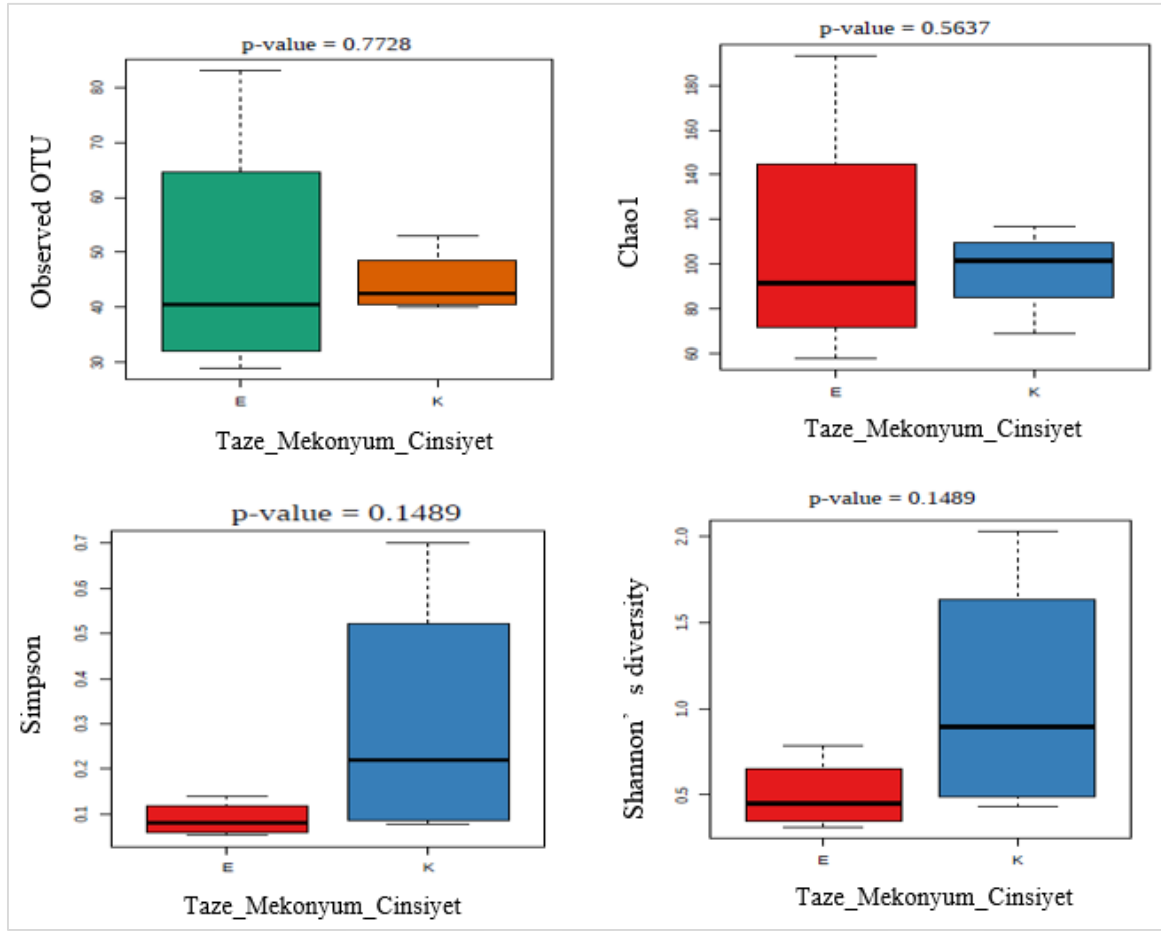


D: Dondurulmuş anne sütü, T: Taze anne sütü.

Şekil 4.5. TAS alan tüm bebeklerin 10.gün gaitaları ile DAS alan tüm bebeklerin 10.gün gaitalarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

Şekil 4.6' da TAS grubundaki kız bebeklerin (n:4) ve erkek bebeklerin (n:4) mekonyumlarının mikrobiyata çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

TAS grubundaki kız bebeklerin ve erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyalarının alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p > 0.05$, Şekil 4.6).

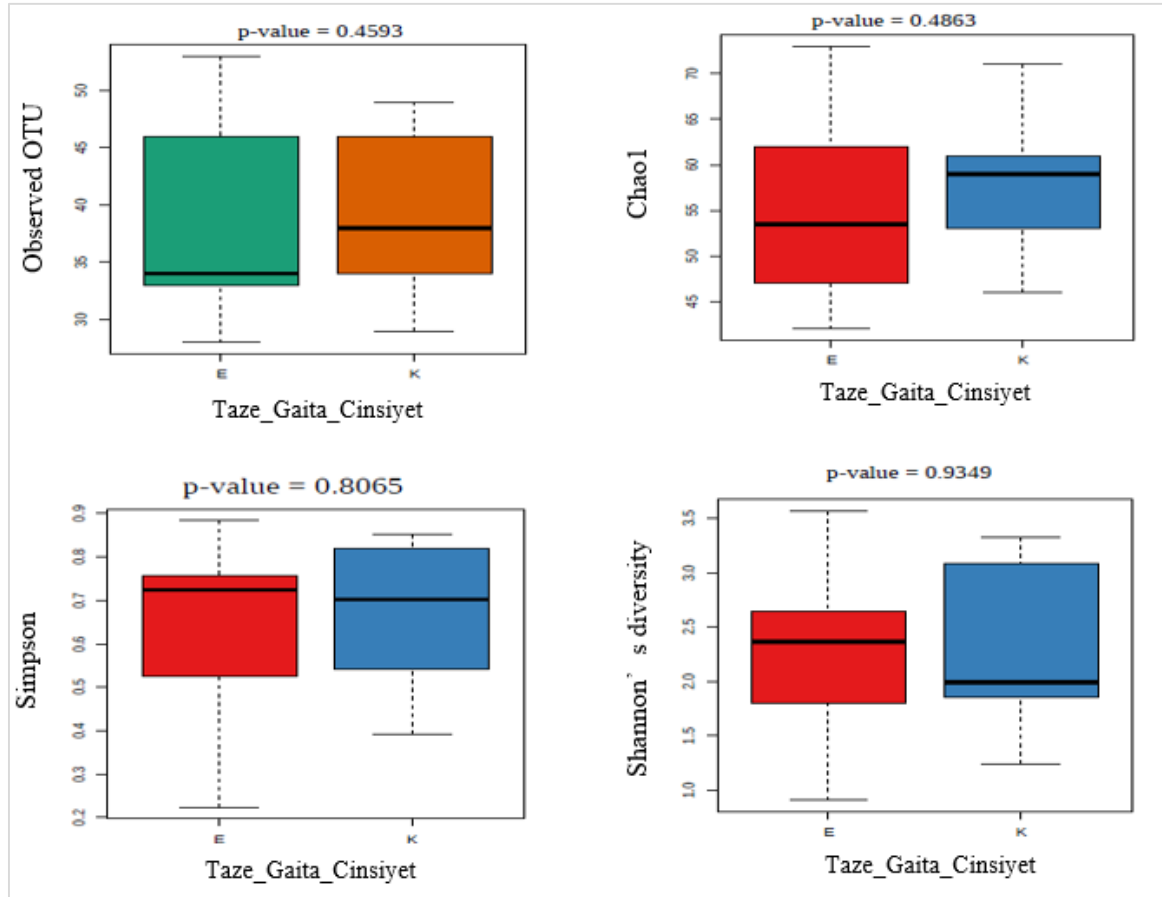


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.6. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumları ile erkek bebeklerin mekonyumlarının alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

Şekil 4.7' de TAS alan kız bebeklerin (n:10) ve erkek bebeklerin (n:10) 10. gün gaitalarının mikrobiyaya çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

TAS alan kız bebeklerin ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyalarının alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p > 0.05$, Şekil 4.7)

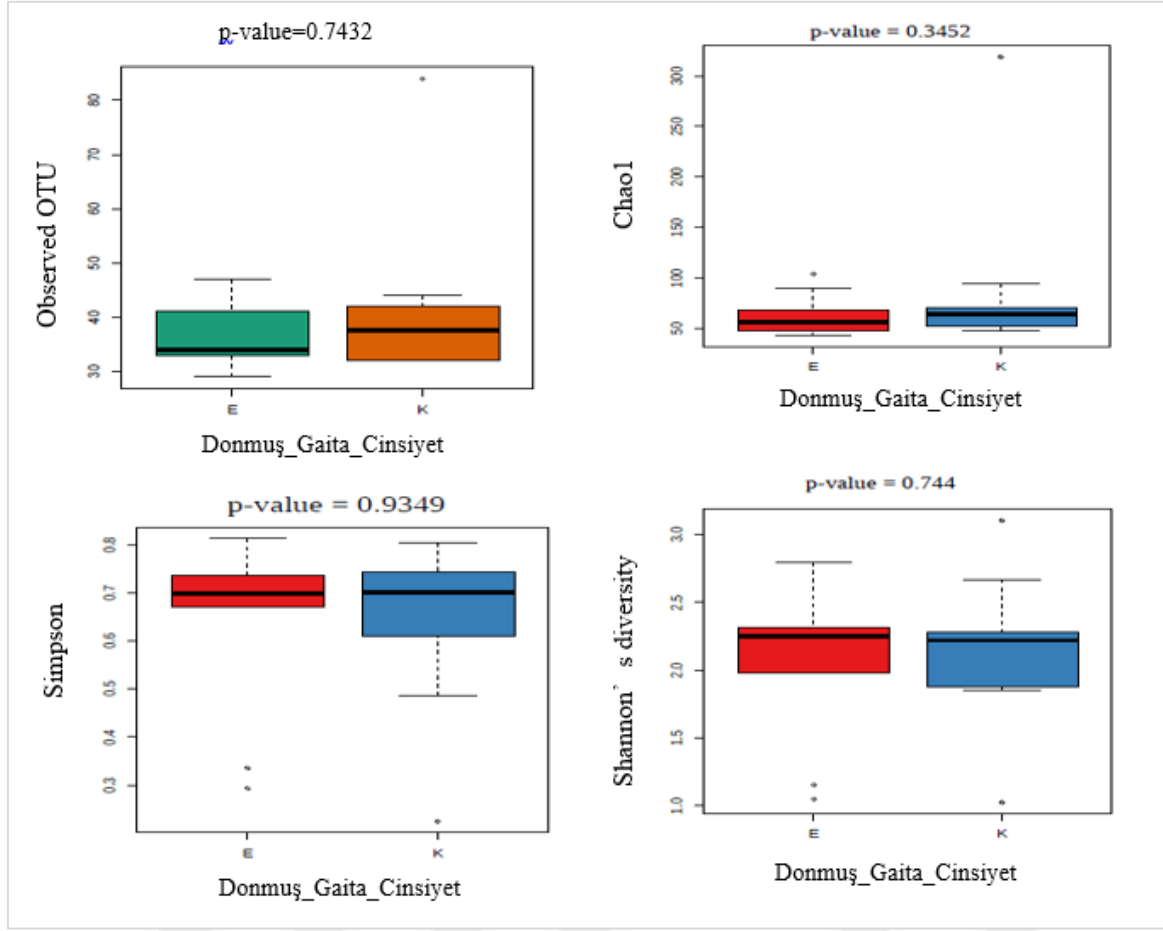


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.7. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

Şekil 4.8' de DAS alan kız bebeklerin (n:10) ve erkek bebeklerin (n:10) 10. gün gaitalarının mikrobiyaya çeşitlilik açısından karşılaştırılması gösterilmiştir.

DAS alan kız bebeklerin ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyalarının alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p > 0.05$, Şekil 4.8).



E: Erkek, K: Kız.

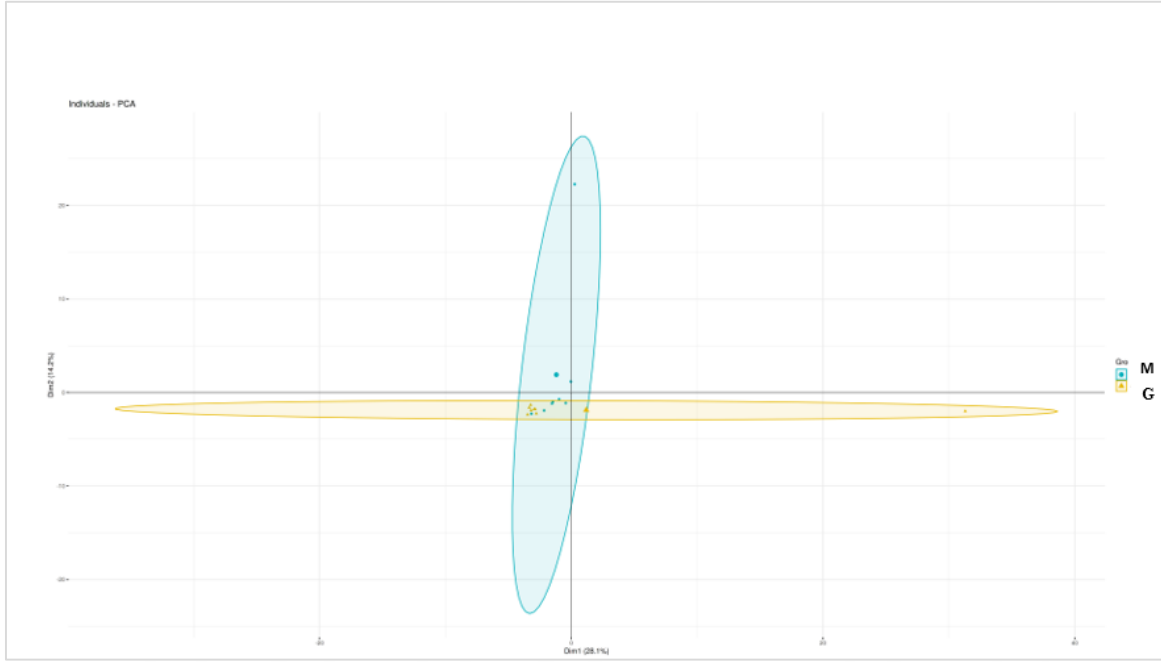
Şekil 4.8. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları alfa çeşitlilik açısından karşılaştırılması

4.2.3. Beta çeşitlilik (Beta diversity) - temel bileşen analizi (principle component analysis-PCA)

Şekillerde numunelerde bağırsak mikrobiyotası bileşenleri benzer olduğunda, PCA grafiğindeki ilgili veri noktalarının mesafesi de o kadar az olarak benzer verilerde kümeleşme göstermektedir. Bağırsak mikrobiyata bileşenleri farklı olan numunelerde ise ilgili veri noktalarının mesafesi de o kadar fazla görünmektedir. Grafikteki PCA analiz sonuçlarına göre yapılan gösterimler OTU değerleri kullanılarak hesaplanmaktadır.

Şekil 4.9' daki her nokta TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10.gün gaita (n:8) örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler TAS grubundaki bebeklerin mekonyumlarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler TAS grubundaki bebeklerin gaitalarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA’da TAS grubundaki bebeklerin mekonyumları ile 10.gün gaitalarının mikrobiyata içeriğine bakıldığında hem mekonyum örneklerinin hem de gaita örneklerinin farklı özellikte mikroorganizmalar barındırdığı, TAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaitalarının birbirine daha yakın kümeleşme gösterdiği görülmüştür.

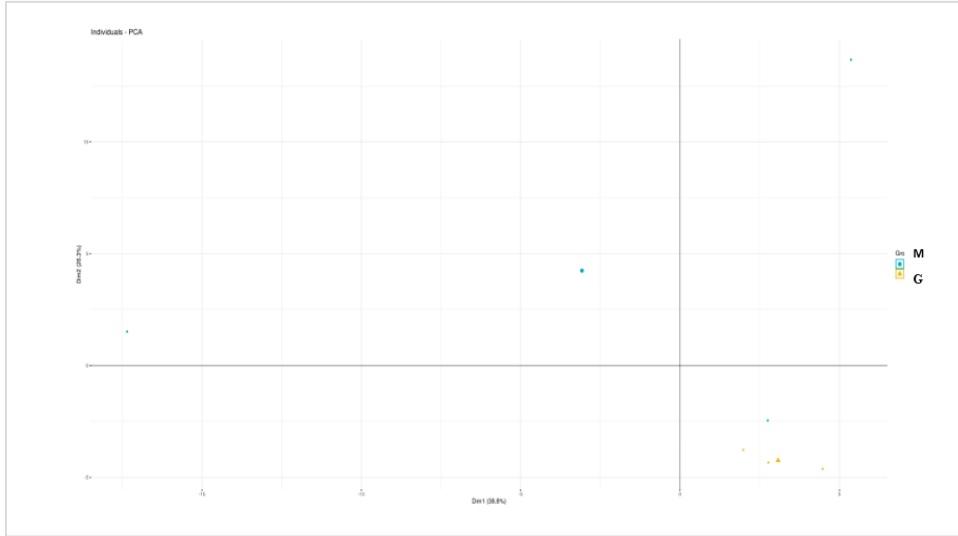


M: Mekonyum, G: Gaita.

Şekil 4.9. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının PCA gösterimleri

Şekil 4.10’ daki her nokta DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10.gün gaita (n:3) örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler DAS grubundaki bebeklerin mekonyumlarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler DAS grubundaki bebeklerin gaitalarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA’da DAS grubundaki bebeklerin mekonyumları ile 10.gün gaitalarının mikrobiyata içeriğine bakıldığında hem mekonyum örneklerinin hem de gaita örneklerinin farklı özellikte mikroorganizmalar barındırdığı, birbirlerinden farklı kümeleşme gösterdikleri görülmüştür.

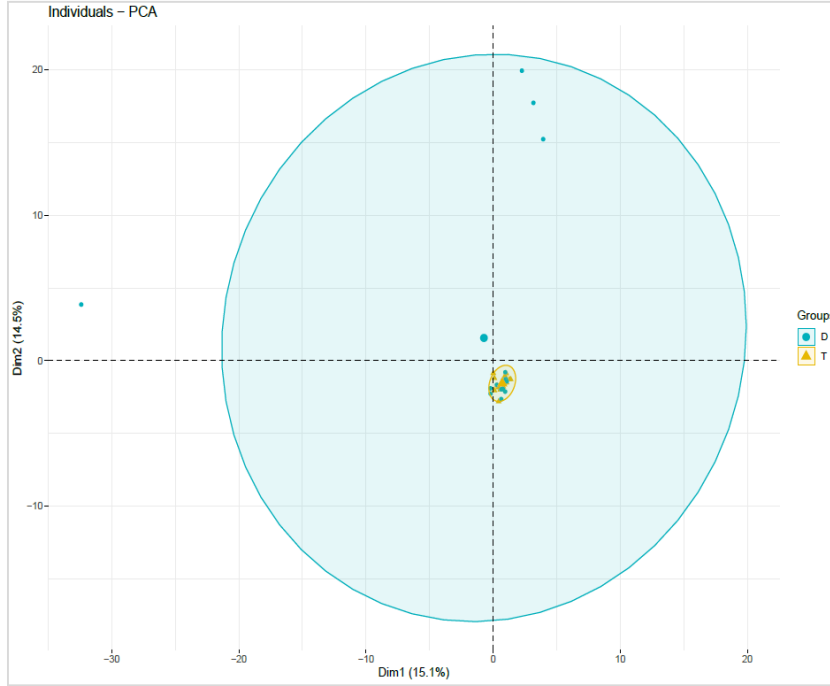


M: Mekonyum, G: Gaita.

Şekil 4.10. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının PCA gösterimleri

Şekil 4.11’ deki her nokta TAS alan (n:20) ve DAS alan (n:20) tüm bebeklerin 10. gün gaita örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA’da TAS alan tüm bebekler ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyotaya içeriğine bakıldığında DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarının farklı özellikte mikroorganizmalar barındırdığı görülmektedir. TAS alan bebeklerin birbirine yakın özellikte mikroorganizmalar barındırdığı, grupların birbirine yakın kümeleşme gösterdiği görülmüştür.

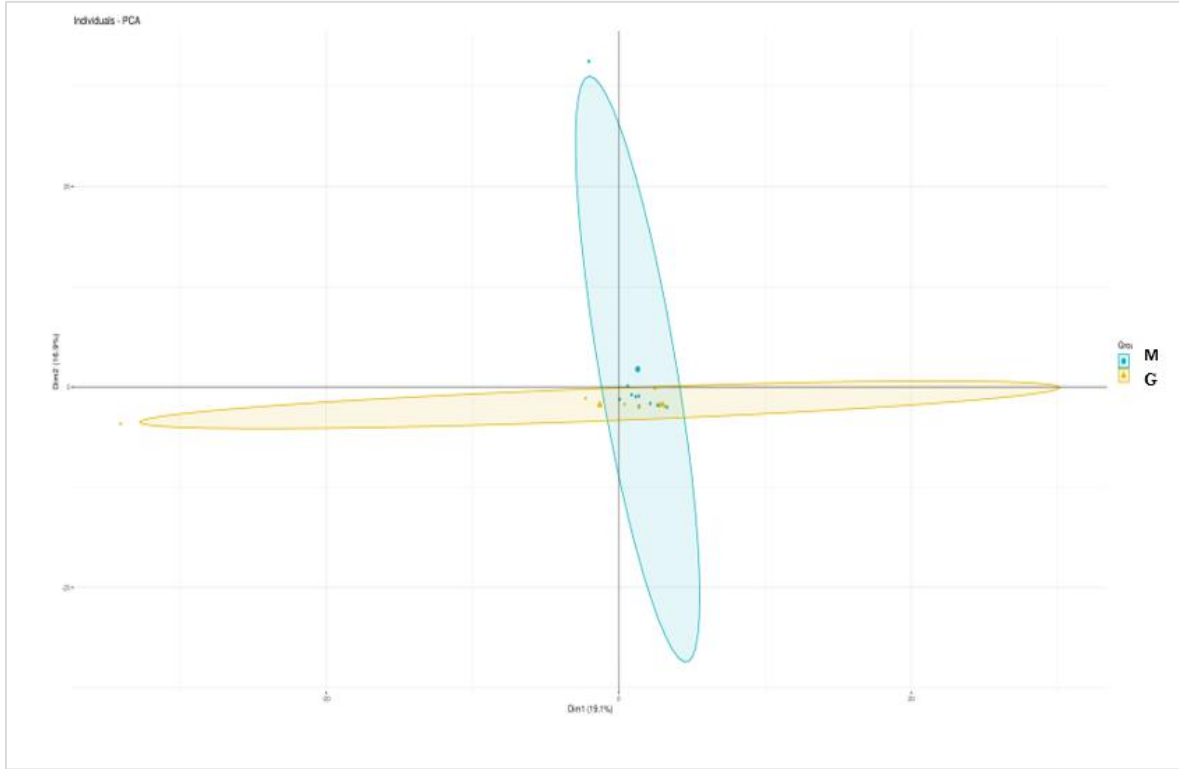


D: Donmuş Anne Sütü, T: Taze Anne Sütü.

Şekil 4.11. TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitaları ile DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının PCA gösterimleri

Şekil 4.12' deki her nokta TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler bebeklerin mekonyumlarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA'da bebeklerin mekonyumlarının ve 10. gün gaitalarının mikrobiyata içeriğine bakıldığında mekonyum ve 10. gün gaita örneklerinin farklı özellikte mikroorganizmalar barındırdığı görülmektedir. Bebeklerin mekonyumlarının ve 10. gün gaitalarının birbirlerine yakın fakat farklı kümeleşme gösterdikleri görülmüştür.

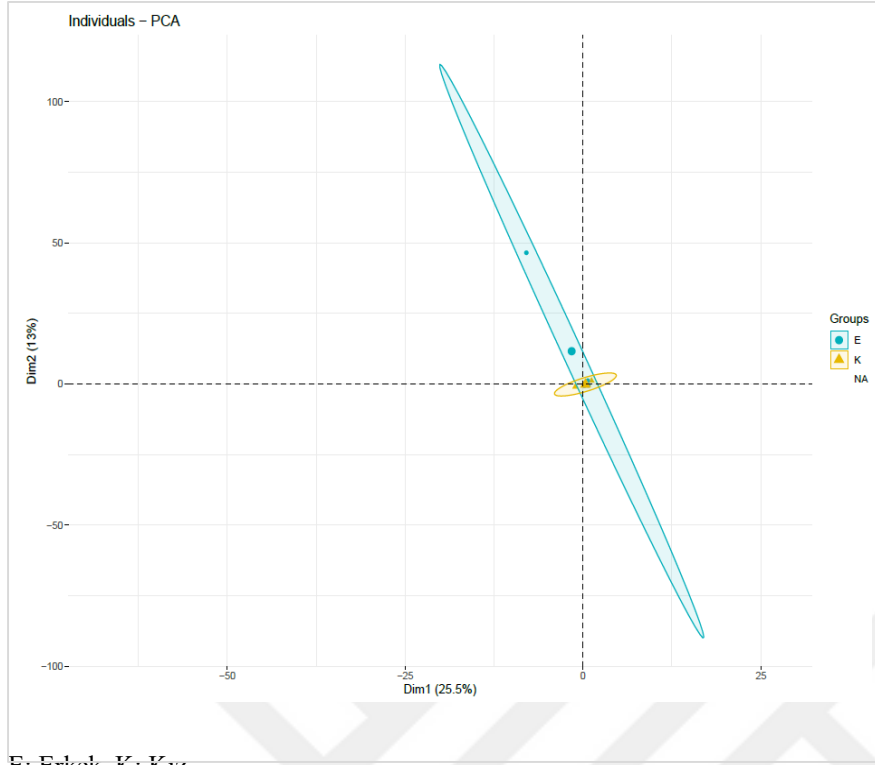


G: Gaita, M: Mekonyum.

Şekil 4.12. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaitalarının PCA gösterimi

Şekil 4.13' deki her nokta TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerden alınan mekonyum örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyumlarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumlarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA'da TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının mikrobiyata içeriğine bakıldığında bir erkek bebekte farklı özellikte mikroorganizmalar görülse de her iki grubun da birbirine yakın özellikte mikrobiyata barındırdığı, grupların birbirine yakın kümeleşme gösterdiği görülmüştür.

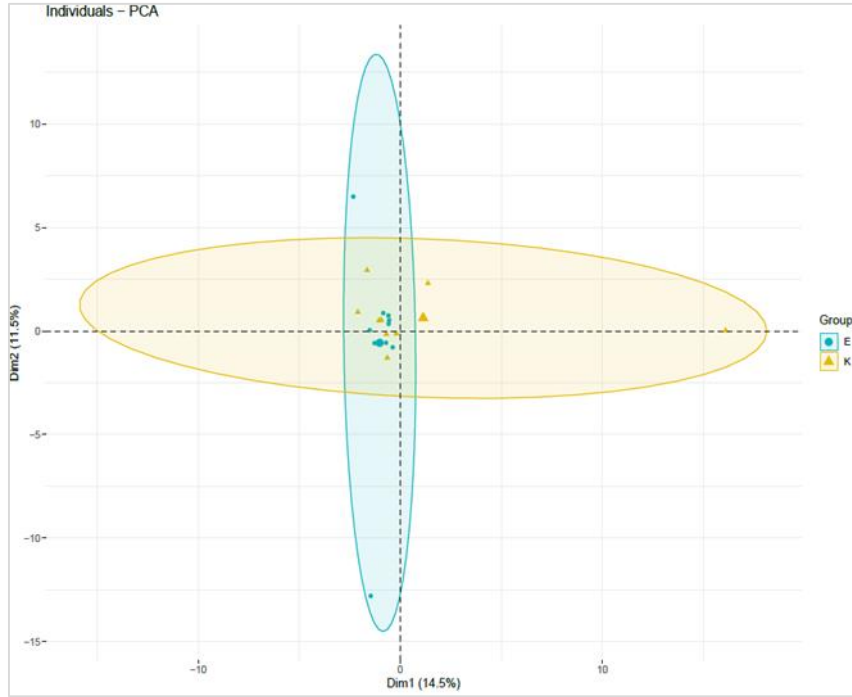


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.13. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumları ile erkek bebeklerin mekonyumlarının PCA gösterimleri

Şekil 4.14' deki her nokta TAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerden alınan 10. gün gaita örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA'da TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyaya içeriğine bakıldığında iki erkek ve bir kız bebekte 10. gün gaitasında farklı özellikte mikroorganizmalar görülse de her iki grubun da genelde birbirine yakın özellikte mikroorganizma barındırdığı, grupların birbirine yakın kümeleşme gösterdiği görülmüştür.

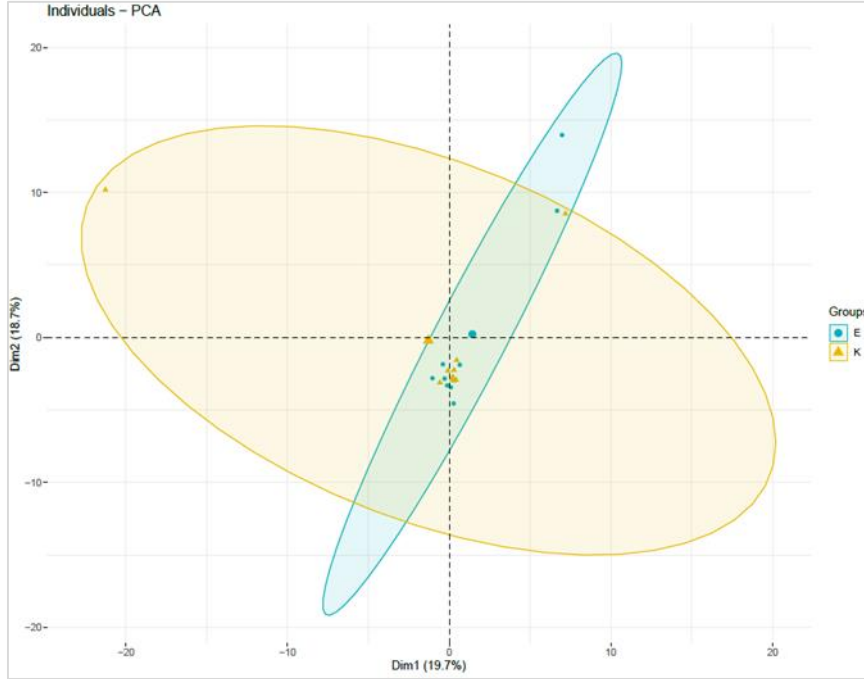


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.14. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları PCA gösterimleri

Şekil 4.15’ deki her nokta DAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerden alınan 10. gün gaita örneklerinin OTU değerlerine göre yapılan PCA analiz sonuçlarını göstermektedir. Yuvarlak ve mavi renkte olan gösterimler DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil ederken, üçgen ve sarı renkte olan gösterimler DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitalarını temsil etmiştir.

OTU değerlerine göre yapılan PCA’da DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyaya içeriğine bakıldığında iki erkek ve iki kız bebekte farklı özellikte mikroorganizmalar görülse de her iki grubun da genelde birbirine yakın özellikte mikroorganizmalar barındırdığı, grupların birbirine yakın kümeleşme gösterdiği görülmüştür.



E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.15. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaitaları PCA gösterimleri

4.2.4. Bray-Curtis ısı haritası (Heatmap)

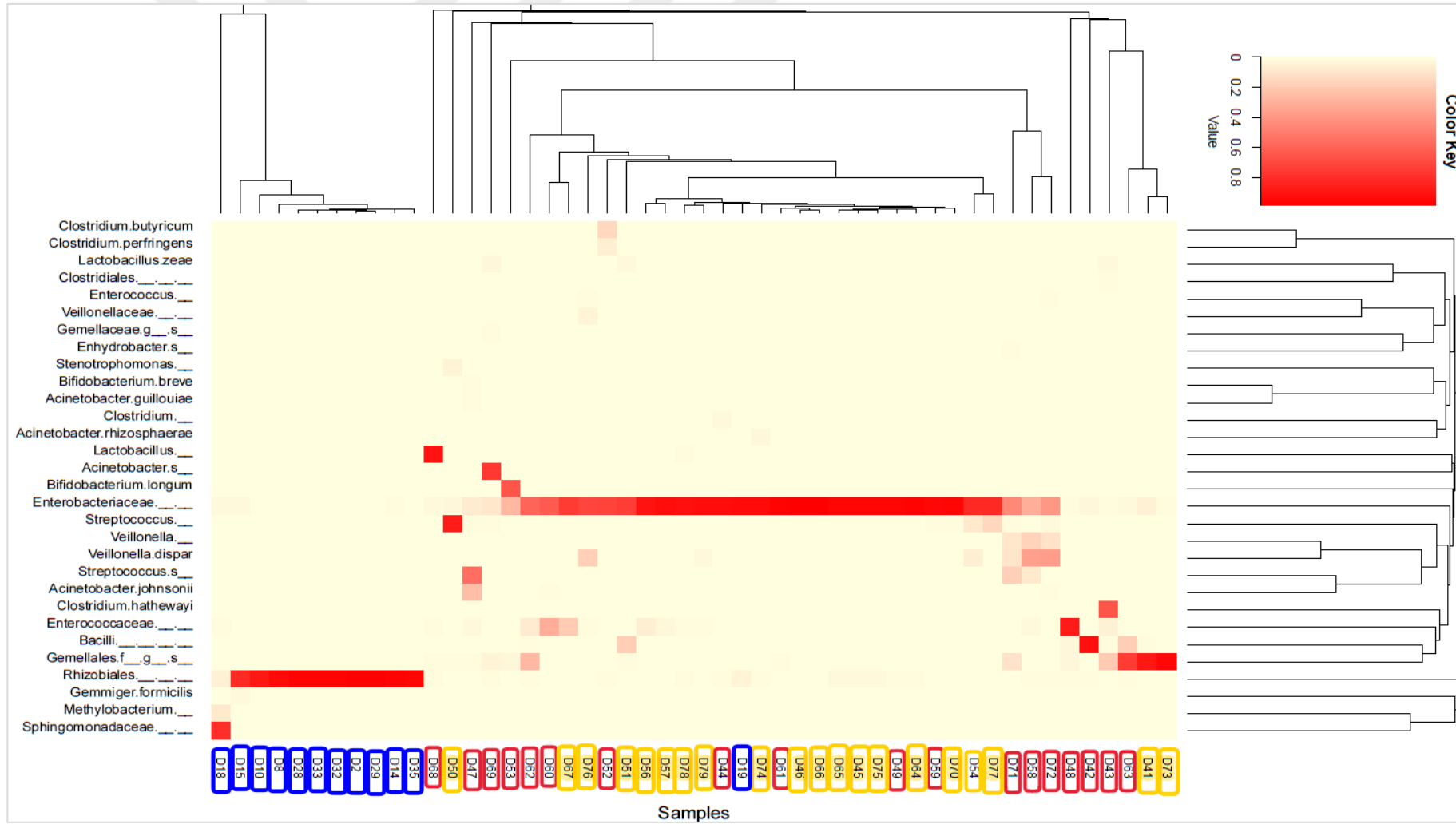
Tüm numunelerin en üst 35 cinsinin bolluk bilgisine göre, benzer işleme sahip numunelerin kümelenip kümelenmediğini kontrol etmek için ısı haritası çizilerek numunelerin benzerliği ve farkı gözlemlenmiştir. Isı haritasında Y eksenini üzerindeki tür, cinsi temsil ederken X eksenini üzerindeki örnek adlarını temsil etmektedir.

Şekil 4.16'da X eksenini üzerinde görülen örnek adlarında sarı renkli olanlar DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarını, kırmızı olanlar TAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarını, mavi renkli olanlar ise her iki gruptaki mekonyum örneklerini temsil etmektedir.

Isı haritasına bakıldığında bebeklerin mekonyum örneklerinde *Sphingomonadaceae*, *Rhizobiales*, *Enterobacteriaceae*, *Sphingomonadaceae* cinslerinin bolluklarında artış olduğu görülmektedir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında *Enterobacteriaceae* cinsinin bolluklarında artış gözlenirken, TAS alan grupta *Enterobacteriaceae* cinsinin bolluğunda azalma gözlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında *Lactobacillus*, *Bifidobacterium longum*, *Acinetobacter s.*, *Streptococcus s.*, *Enterococcaceae*, *Bacilli*, *Colostridium hathewayi* cislerinde bolluklar gözlenmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün

gaitalarında *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Gemellales* cislerinde bolluklar gözlenmiştir.



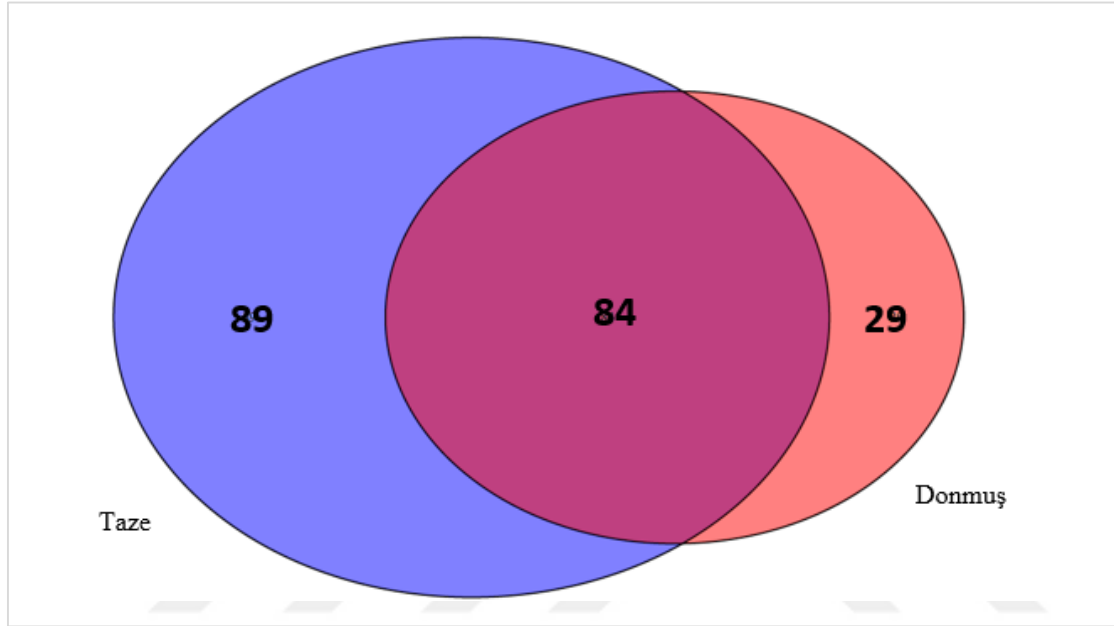


Mavi dikdörtgenler: Mekonyum örnekleri, Kırmızı dikdörtgenler: TAS örnekleri, Sarı dikdörtgenler: DAS örnekleri.

Şekil 4.16. TAS ve DAS grubundaki tüm bebeklerin mekonyumları ile TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarının cins düzeyinde taksonomik bollukları ısı haritası

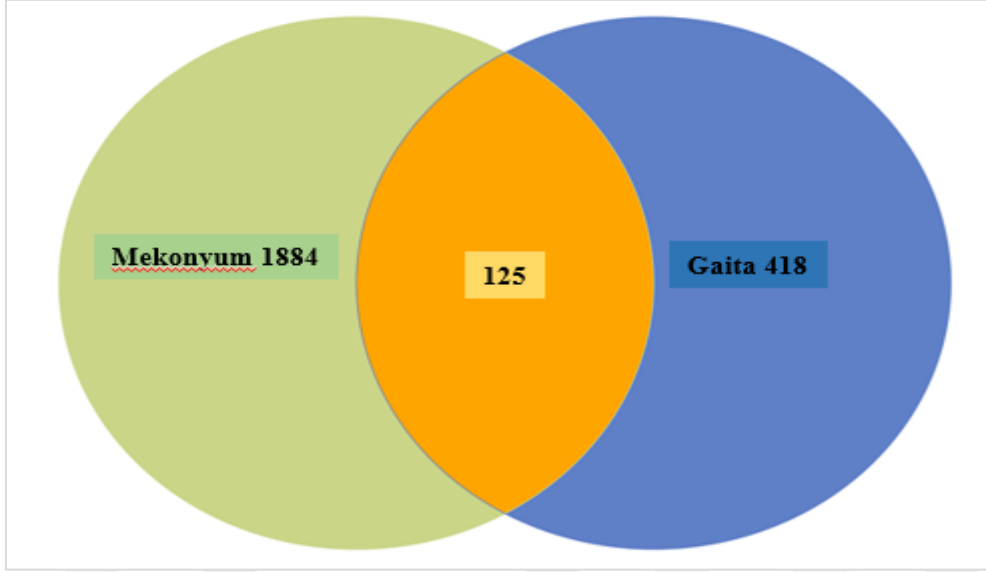
4.2.5. OTU Venn analizi

Şekil 4.17’de TAS (n:20) ve DAS (n:20) alan bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyotasının OTU dağılımı verilmiştir. Buna göre TAS alan grupta benzersiz 89 OTU, DAS alan grupta 29 OTU ve her iki grup arasında 84 OTU’nun ortak olduğu görülmüştür.



Şekil 4.17. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının OTU Venn analizi

Şekil 4.18’de beslenmeden bağımsız olarak TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:11) ile 10. gün gaitalarının (n:11) mikrobiyata OTU dağılımı verilmiştir. Buna göre mekonyum olan grupta benzersiz 1884 OTU, 10. gün gaita olan grupta 418 OTU ve her iki grup arasında 125 OTU’nun ortak olduğu görülmüştür.



Şekil 4.18. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyotalarının OTU Venn analizi

4.2.6. Bebeklerin bağırsak mikrobiyotalarının Taxa-bar Plots ile göreceli bolluk analizi

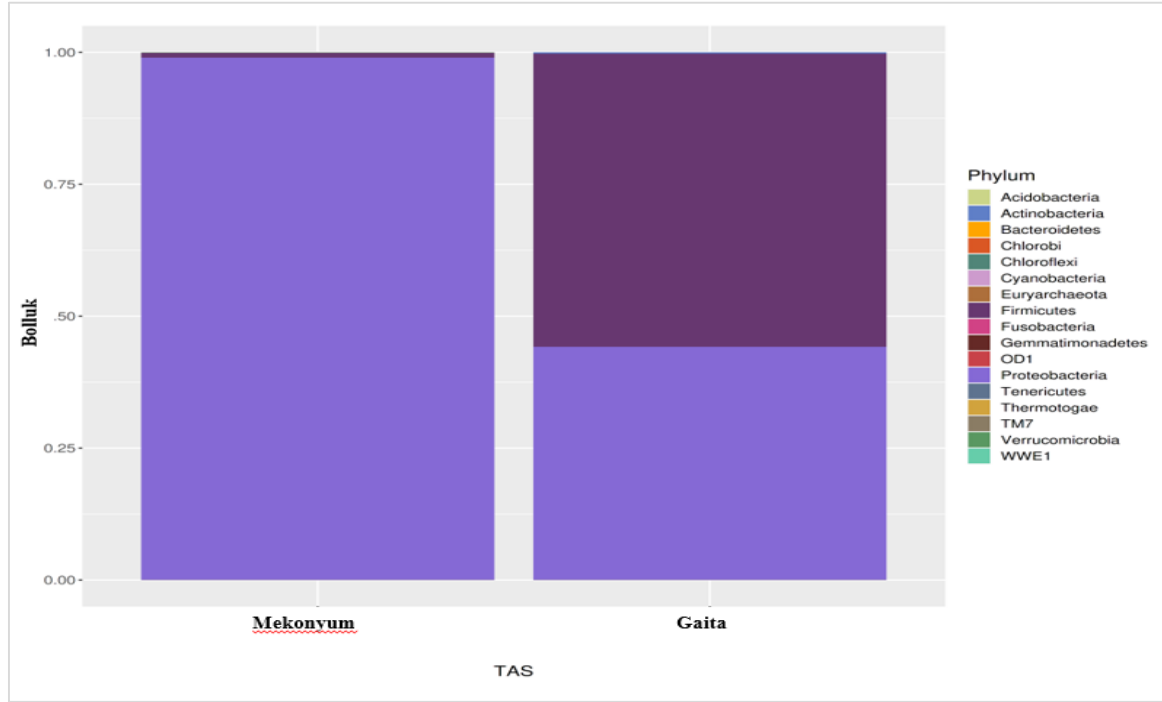
Taxa-bar plots bolluk analizleri belirlenen gruplardaki bakterilerin filum, sınıf, takım, aile ve cinslerine yönelik bolluk seviyelerini gösterebilmek amacıyla kullanılmaktadır.

Taxa-bar Plots göreceli bolluk analizinde çeşitli taksonomik seviyelerde her taksonun ortalama bağıl bolluğunu gösterilmiştir. Grafiklerde renkli çubuklarda belirtilen her renk farklı bakterileri temsil etmekte olup bolluğu en fazla olan 10 bakteri türü gösterilmiştir. Bu bölümde bebeklerin bağırsak mikrobiyotalarının Taxa-bar Plots ile filum ve cins düzeyinde göreceli bolluk analizleri verilmiştir. Tüm grupların takım, aile ve sınıf düzeyindeki göreceli bolluk analizleri ek şekillerde (EK.6 – EK.23) verilmiştir.

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaita mikrobiyotalarının göreceli bolluk analizi

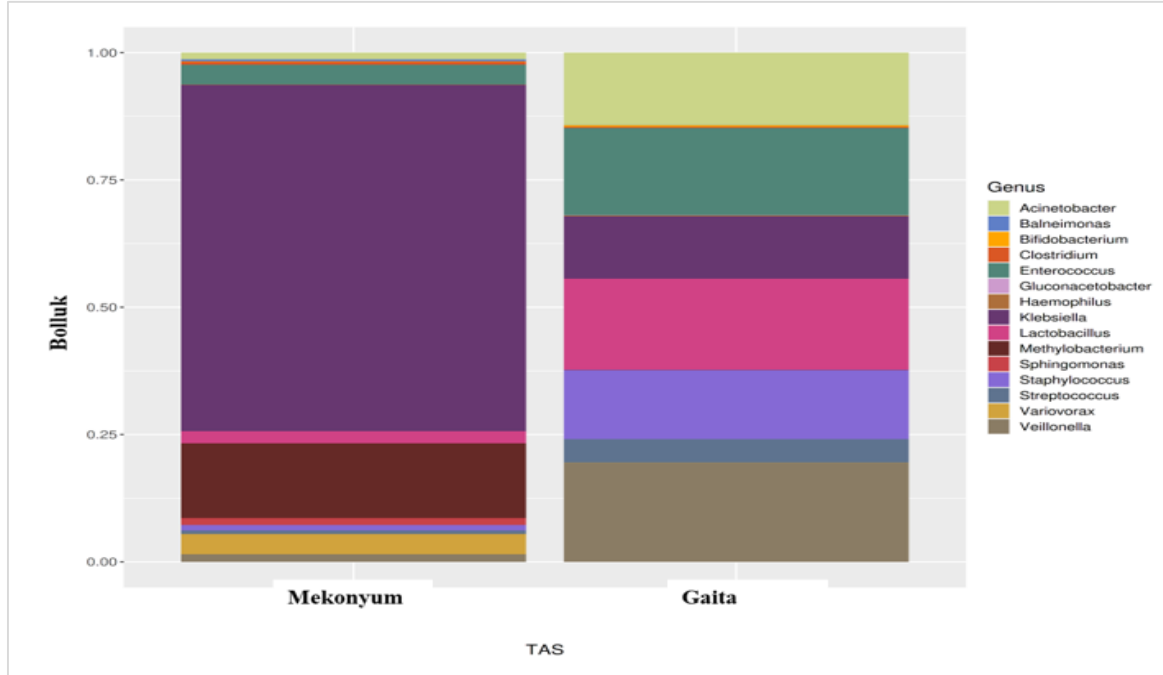
Şekil 4.19’da TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10.gün gaitalarının (n:8) filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu *Firmicutes* (%1) filumu takip etmiştir. TAS grubundaki bebeklerin 10.gün gaita mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum *Firmicutes* (%56) olup, bunu *Proteobacteria*

(%44) filumu takip etmiştir. TAS gruplarındaki bebeklerin mekonyumlarında baskın filum olan *Proteobacteria*'nın, bebeklerin 10. gün gaitalarında göreceli bolluğunun azalıp *Firmicutes* filumunun göreceli bolluğunun arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.19. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

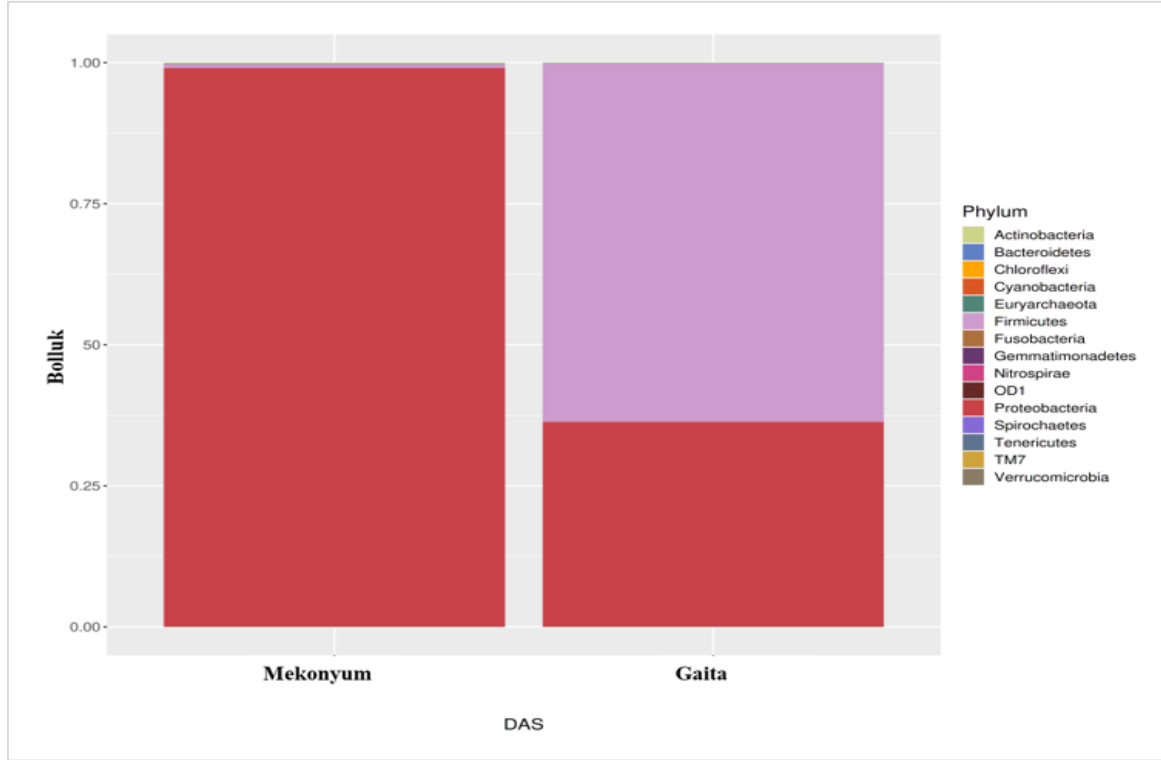
Şekil 4.20'de TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10.gün gaitalarının (n:8) cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Klebsiella* (%64) olup, bunu sırasıyla *Methylobacterium* (%14), *Enterococcus* (%4), *Variovorax* (%4), *Lactobacillus* (%3), *Acinetobacter* (%2), *Sphingomonas* (%1) ve *Staphylococcus* (%1) cinsleri takip etmiştir. TAS grubundaki bebeklerin 10.gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Veillonella* (%19) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillus* (%18), *Enterococcus* (%17), *Staphylococcus* (%14), *Acinetobacter* (%14) ve *Klebsiella* (%12) cinsleri takip etmiştir. TAS gruplarındaki bebeklerin mekonyumlarında baskın filum olan *Klebsiella*'nın, bebeklerin 10. gün gaitalarında göreceli bolluğunun azalıp *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* ve *Acinetobacter* cinslerinin göreceli bolluğunun arttığı belirlenmiştir. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının sınıf, takım ve aile düzeyindeki göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-3, EK-4, EK-5).



Şekil 4.20. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

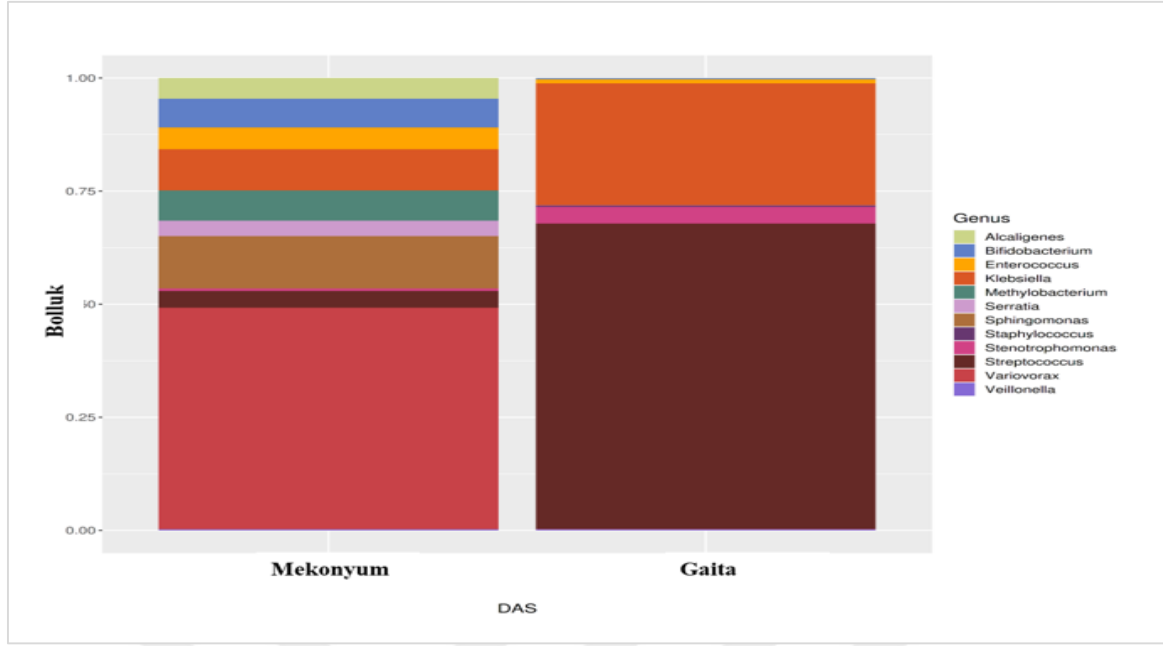
DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaita mikrobiyalarının göreceli bolluk analizi

Şekil 4.21’de DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10.gün gaitalarının (n:3) filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu *Firmicutes* (%1) filumu takip etmiştir. DAS grubundaki bebeklerin 10.gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Firmicutes* (%64) olup, bunu *Proteobacteria* (%36) filumu takip etmiştir. DAS gruplarındaki bebeklerin mekonyumlarında baskın filum olan *Proteobacteria*’nın, bebeklerin 10. gün gaitalarında göreceli bolluğunun azalıp *Firmicutes* filumunun göreceli bolluğunun arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.21. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

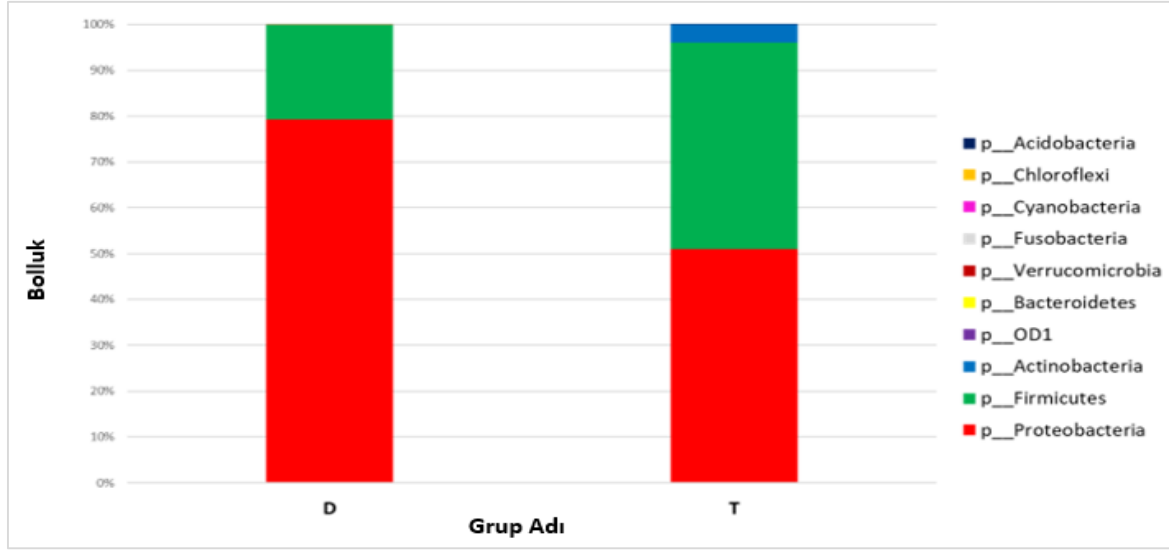
Şekil 4.22’de DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10.gün gaitalarının (n:3) cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarında ilk sırada gelen cins *Variovax* (%35) olup, bunu sırasıyla *Sphingomonas* (%9), *Klebsiella* (%7), *Methylobacterium* (%5), *Bifidobacterium* (%5), *Enterococcus* (%4), *Serratia* (%4), *Alcaligenes* (%4), *Streptococcus* (%3) ve *Stenotrophomonas* (%2) cinsleri takip etmiştir. DAS grubundaki bebeklerin 10.gün gaita mikrobiyotalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%67) olup, bunu sırasıyla *Klebsiella* (%27) ve *Stenotrophomonas* (%4) cinsleri takip etmiştir. DAS gruplarındaki bebeklerin mekonyumlarında baskın cins olan *Variovorax* bebeklerin 10. gün gaitalarındaki göreceli bolluğunun yok denecek kadar azaldığı, *Streptococcus* cinsinin göreceli bolluğunun arttığı belirlenmiştir. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının sınıf, takım ve aile düzeyindeki göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-6, EK-7, EK-8).



Şekil 4.22. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Taze anne sütü alan tüm bebeklerin 10. gün gaitaları ile dondurulmuş anne sütü alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının göreceli bolluk analizi

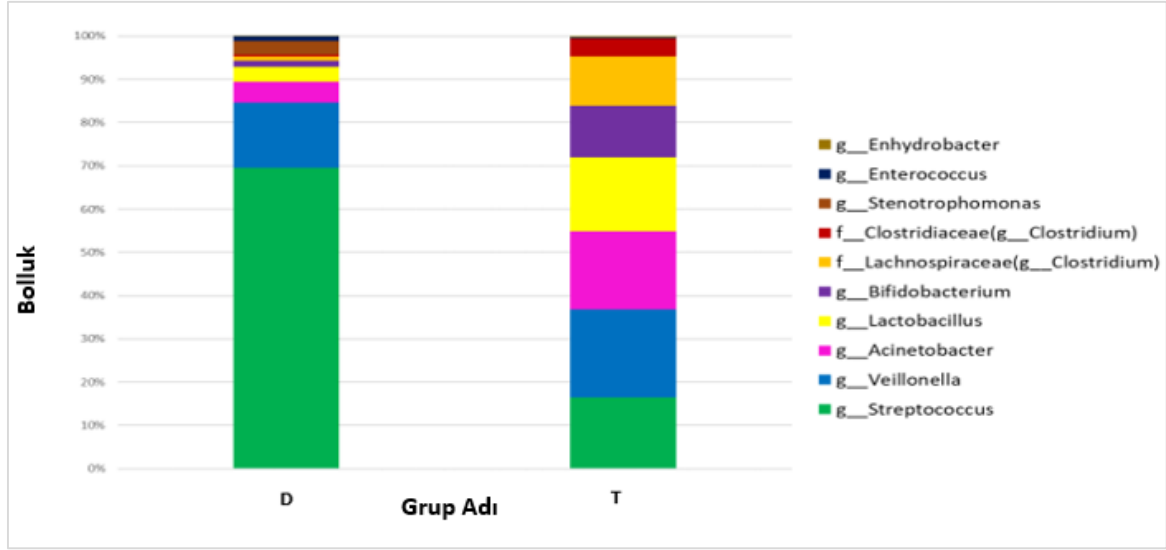
Şekil 4.23’de TAS (n:20) ve DAS (n:20) alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%79) olup, bunu *Firmicutes* (%21) filumu takip etmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%51) olup, bunu sırasıyla *Firmicutes* (%45) ve *Actinobacteria* (%4) filumları takip etmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Proteobacteria* (%79) filumu göreceli bolluğunun TAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Firmicutes* (%45) ve *Actinobacteria* (%4) filumlarının göreceli bolluğunun DAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



D: Dondurulmuş anne sütü, T: Taze anne sütü.

Şekil 4.23. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Şekil 4.24’de TAS (n:20) ve DAS (n:20) alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%69) olup, bunu sırasıyla *Veillonella* (%15), *Acinetobacter* (%5) ve *Lactobacillus* (%3), *Stenotrophomonas* (%3), *Bifidobacterium* (%1) ve *Enterococcus* (%1) cinsleri takip etmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Veillonella* (%20) olup, bunu sırasıyla *Acinetobacter* (%18), *Lactobacillus* (%17), *Streptococcus* (%16), *Bifidobacterium* (%12), *f__Lachnospiraceae(g__Clostridium)* (%11) ve *f__Clostridiaceae(g__Clostridium)* (%4) cinsleri takip etmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Streptococcus* (%69) cinsinin göreceli bolluğunun TAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Veillonella* (%20), *Acinetobacter* (%18), *Lactobacillus* (%17), *Bifidobacterium* (%12), *f__Lachnospiraceae(g__Clostridium)* (%11) ve *f__Clostridiaceae(g__Clostridium)* (%4) cinslerinin göreceli bolluğunun DAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf, takım ve aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-9, EK-10, EK-11). TAS ve DAS grubundaki tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında gözlemlenen mikroorganizmalar Çizelge 4.5’de verilmiştir.

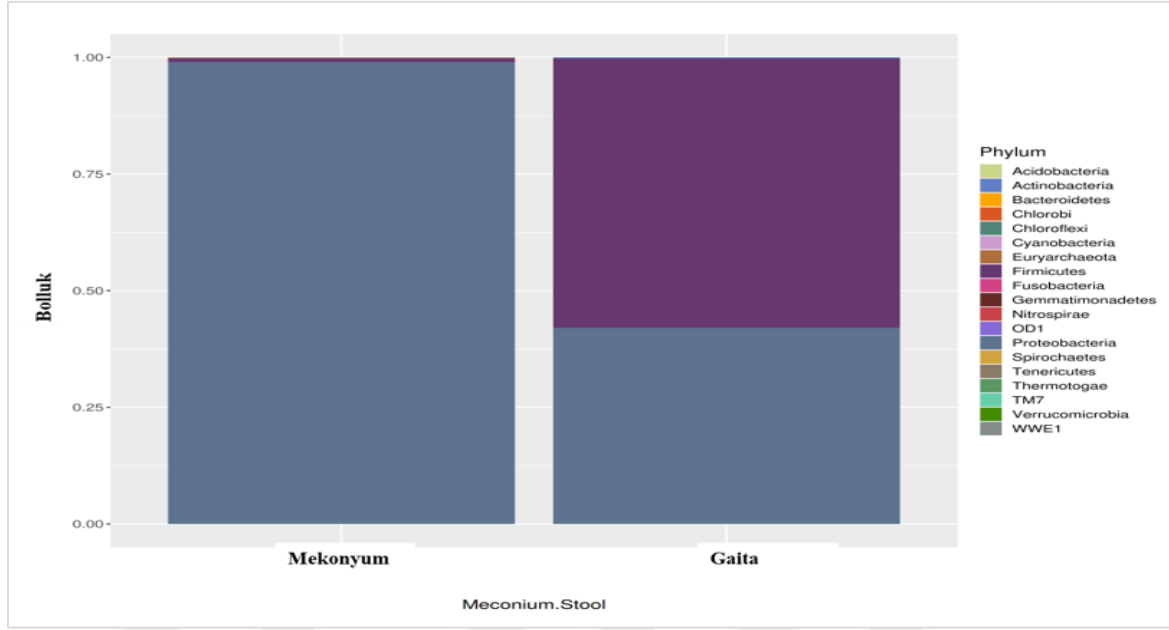


D: Dondurulmuş anne sütü, T: Taze anne sütü.

Şekil 4.24. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının göreceli bolluk analizi

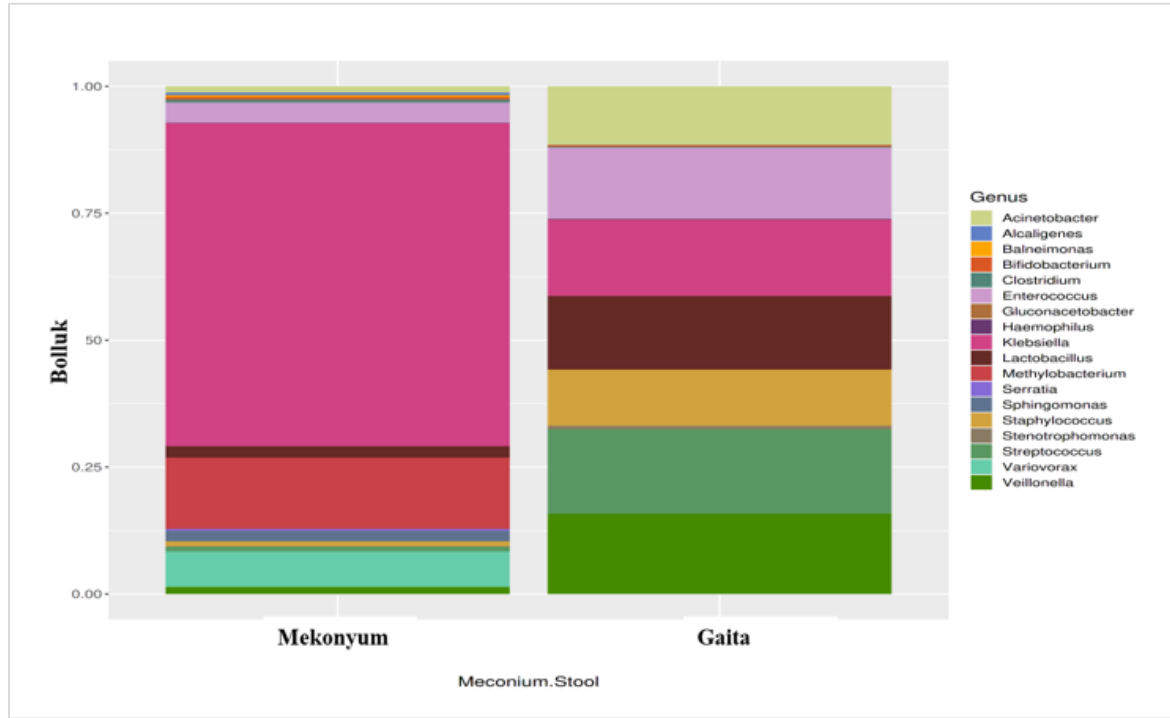
Şekil 4.25’de TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) mikrobiyalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu *Firmicutes* (%1) filumu takip etmiştir. Bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Firmicutes* (%58) olup, bunu *Proteobacteria* (%42) filumu takip etmiştir. Bebeklerin gaita mikrobiyalarında *Firmicutes* filumunun göreceli bolluğunun mekonyumlardan fazla olduğu belirlenmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında *Proteobacteria* filumunun göreceli bolluğunun gaitalardan fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.25. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Şekil 4.26'da TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) mikrobiyalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Klebsiella* (%60) olup, bunu sırasıyla *Methylobacterium* (%13), *Variovax* (%7), *Enterococcus* (%4), *Lactobacillus* (%2), *Sphingomonas* (%2), *Veillonella* (%1) ve *Acinetobacter* (%1) cinsleri takip etmiştir. Bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%17) olup, bunu sırasıyla *Veillonella* (%16), *Lactobacillus* (%15), *Klebsiella* (%15), *Enterococcus* (%14), *Acinetobacter* (%12) ve *Staphylococcus* (%11) cinsleri takip etmiştir. Bebeklerin gaita mikrobiyalarında *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Acinetobacter* cinslerinin göreceli bolluğunun mekonyumlardan fazla olduğu belirlenmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında *Klebsiella* cinsinin göreceli bolluğunun 10. gün gaitalardan fazla olduğu belirlenmiştir. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının sınıf, takım ve aile düzeyindeki göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-12, EK-13, EK-14).

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyaları ile taze ve dondurulmuş anne sütü alma durumlarına göre bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarında gözlemlenen mikroorganizmalar Çizelge 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.26. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Çizelge 4.4. Taze ve dondurulmuş anne sütü grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyataları ile taze ve dondurulmuş anne sütü alma durumlarına göre bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyatalarında gözlemlenen mikroorganizmalar

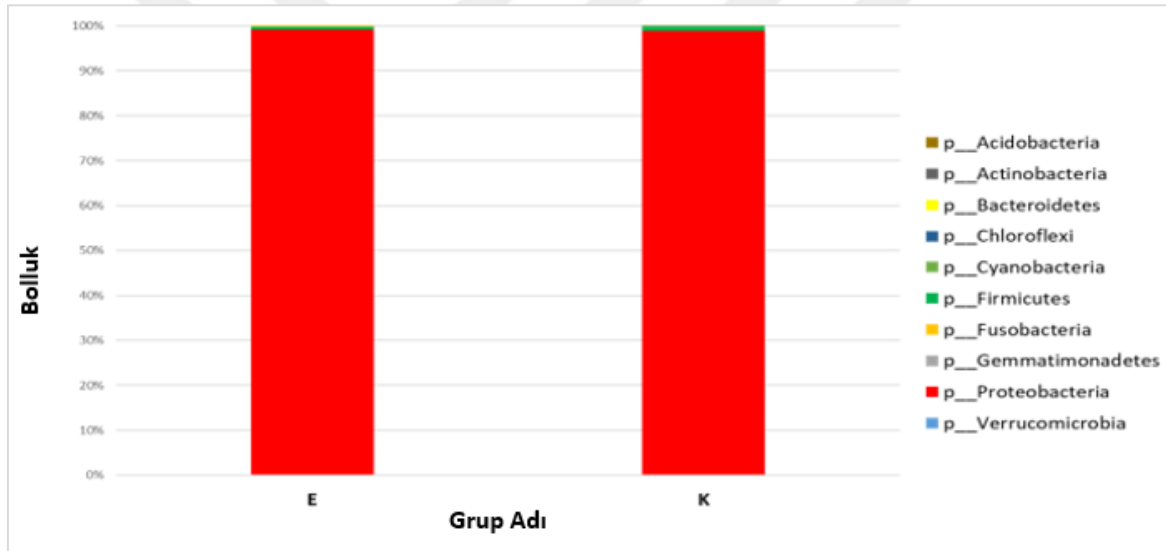
	TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum örnekleri (n:11)	TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:11)	TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum örnekleri (n:8)	TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:8)	DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum örnekleri (n:3)	DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:3)
Filum	Proteobacteria (%99) Firmicutes (%1)	Firmicutes (%58) Proteobacteria (%42)	Proteobacteria (%99) Firmicutes (%1)	Firmicutes (%56) Proteobacteria (%44)	Proteobacteria (%99) Firmicutes (%1)	Firmicutes (%64) Proteobacteria (%36)
Sınıf	Alphaproteobacteria (%89) Gammaproteobacteria (%10)	Bacilli (%45) Gammaproteobacteria (%41) Clostridia (%1) Alphaproteobacteria (%1)	Alphaproteobacteria (%86) Gammaproteobacteria (%13)	Alphaproteobacteria (%1) Bacilli (%42) Clostridia (%14) Gammaproteobacteria (%43)	Alphaproteobacteria (%98) Betaproteobacteria (%1) Gammaproteobacteria (%1)	Bacilli (%63) Gammaproteobacteria (%35) Alphaproteobacteria (%1)
Takım	Rhizobiales (%83) Enterobacteriales (%10) Sphingomonadales (%6)	Enterobacteriales (%37) Lactobacillales (%32) Clostridiales (%12) Bacillales (%8) Gemellales (%9) Pseudomonadales (%8) Rhizobiales (%1)	Rhizobiales (%78) Enterobacteriales (%13) Sphingomonadales (%8)	Enterobacteriales (%34) Lactobacillales (%29) Clostridiales (%15) Bacillales (%10) Pseudomonadales (%10) Rhizobiales (%1)	Rhizobiales (%98) Burkholderiales (%1)	Enterobacteriales (%50) Lactobacillales (%45) Xanthomonadales (%2) Rhizobiales (%1)
Aile	Enterobacteriaceae (%54) Sphingomonadaceae (%34) Methylobacteriaceae (%4) Comamonadaceae (%2) Enterococcaceae (%1)	Enterobacteriaceae (%38) Streptococcaceae (%12) Veillonellaceae (%12) Lactobacillaceae (%11) Enterococcaceae (%10) Staphylococcaceae (%8) Moraxellaceae (%8)	Enterobacteriaceae (%55) Sphingomonadaceae (%35) Methylobacteriaceae (%4) Comamonadaceae (%1)	Enterobacteriaceae (%35) Veillonellaceae (%14) Enterococcaceae (%13) Lactobacillaceae (%13) Moraxellaceae (%11) Staphylococcaceae (%10) Streptococcaceae (%3)	Comamonadaceae (%25) Enterobacteriaceae (%18) Lachnospiraceae (%6) Sphingomonadaceae (%6) Methylobacteriaceae (%4) Bifidobacteriaceae (%4) Bradyrhizobiaceae (%3) Enterococcaceae (%2) Rhizobiaceae (%2) Xanthomonadaceae (%2) Streptococcaceae (%2) Rhodobacteraceae (%2)	Enterobacteriaceae (%50) Streptococcaceae (%45) Xanthomonadaceae (%3)
Cins	Klebsiella (%60) Methylobacterium (%13) Varioxax (%7) Enterococcus (%4) Lactobacillus (%2) Sphingomonas (%2) Veillonella (%1) Acinetobacter (%1)	Streptococcus (%17) Veillonella (%16) Lactobacillus (%15) Klebsiella (%15) Enterococcus (%14) Acinetobacter (%12) Staphylococcus (%11)	Klebsiella (%64) Methylobacterium (%14) Enterococcus (%4) Varioxax (%4) Lactobacillus (%3) Acinetobacter (%3) Sphingomonas (%1) Staphylococcus (%1)	Veillonella (%119) Lactobacillus (%18) Enterococcus (%17) Staphylococcus (%14) Acinetobacter (%14) Klebsiella (%12)	Varioxax (%35) Sphingomonas (%3) Klebsiella (%7) Methylobacterium (%5) Bifidobacterium (%5) Enterococcus (%4) Serratia (%4) Alcaligenes (%4)	Streptococcus (%67) Klebsiella (%27) Stenotrophomonas (%4)

Çizelge 4.5. TAS ve DAS grubundaki tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında gözlemlenen mikroorganizmalar

	TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:20)	DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:20)
Filum	Proteobacteria (%51) Firmicutes (%45) Actinobacteria (%4)	Proteobacteria (%79) Firmicutes (%21)
Sınıf	Gammaproteobacteria (%50) Bacilli (%33) Clostridia (%12) Actinobacteria (%4) Alphaproteobacteria (%1)	Gammaproteobacteria (%78) Bacilli (%19) Clostridia (%2)
Takım	Enterobacteriales (%47) Lactobacillales (%20) Clostridiales (%13) Gemellales (%9) Pseudomonadales (%6) Bifidobacteriales (%4) Rhizobiales (%1)	Enterobacteriales (%79) Gemellales (%10) Lactobacillales (%9) Clostridiales (%2)
Aile	Enterobacteriaceae (%52) Enterococcaceae (%10) Veillonellaceae (%8) Moraxellaceae (%7) Lactobacillaceae (%7) Streptococcaceae (%6) Bifidobacteriaceae (%4) Lachnospiraceae (%4) Clostridiaceae (%2)	Enterobacteriaceae (%88) Streptococcaceae (%7) Enterococcaceae (%3) Veillonellaceae (%2)
Cins	Veillonella (%20) Acinetobacter (%18) Lactobacillus (%17) Streptococcus (%16) Bifidobacterium (%12) f__Lachnospiraceae (g__Clostridium) (%11) f__Clostridiaceae (g__Clostridium) (%4)	Streptococcus (%69) Veillonella (%15) Acinetobacter (%5) Lactobacillus (%3) Bifidobacterium (%1) Stenotrophomonas (%3) Enterococcus (%1)

Taze anne sütü grubundaki kız bebeklerin mekonyumları ile erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarının göreceli bolluk analizi

Şekil 4.27’de TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerin mekonyumlarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu sırasıyla *Firmicutes* (%0.6) filumları takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu sırasıyla *Firmicutes* (%0.9) filumları takip etmiştir. TAS grubundaki erkek ve kız bebeklerin mekonyumlarının *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumlarının görece bolluklarının benzer olduğu belirlenmiştir.

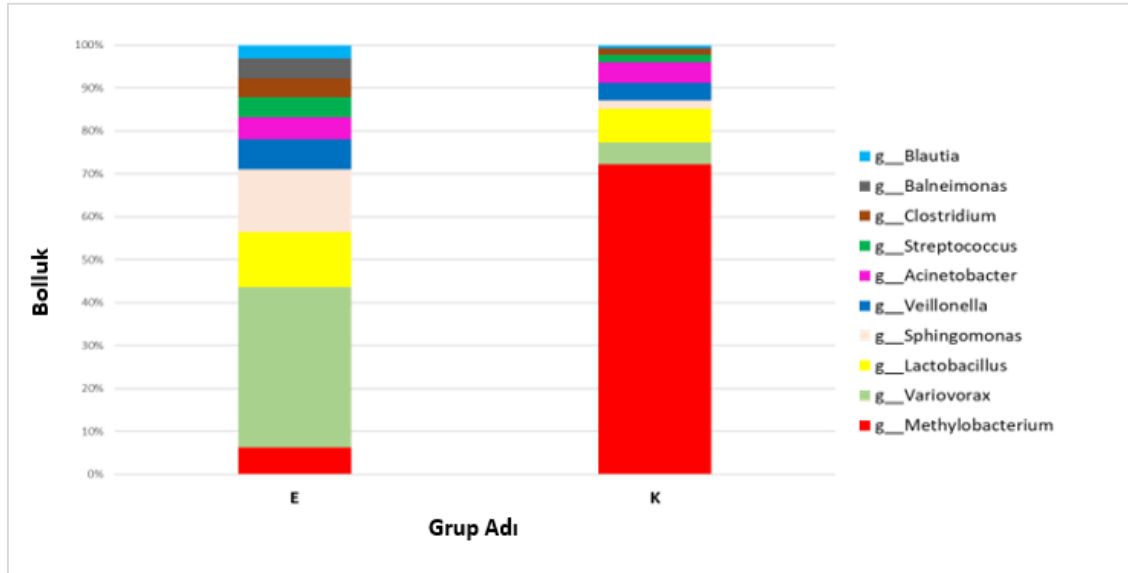


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.27. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyum mikro filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Şekil 4.28’de TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerin mekonyumlarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarında ilk sırada gelen cins *Variovorax* (%37) olup, bunu sırasıyla *Sphingomonas* (%15) ve *Lactobacillus* (%13) cinsleri takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarında ilk sırada gelen cins *Methylobacterium* (%72) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillus* (%8) ve *Variovorax* (%5) cinsleri takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumlarındaki *Methylobacterium* (%72) cinsinin erkek bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir. TAS

grubundaki erkek bebeklerin mekonyumlarındaki *Variovorax* (%37) cinsinin kız bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının sınıf, takım ve aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-15, EK-16, EK-17).

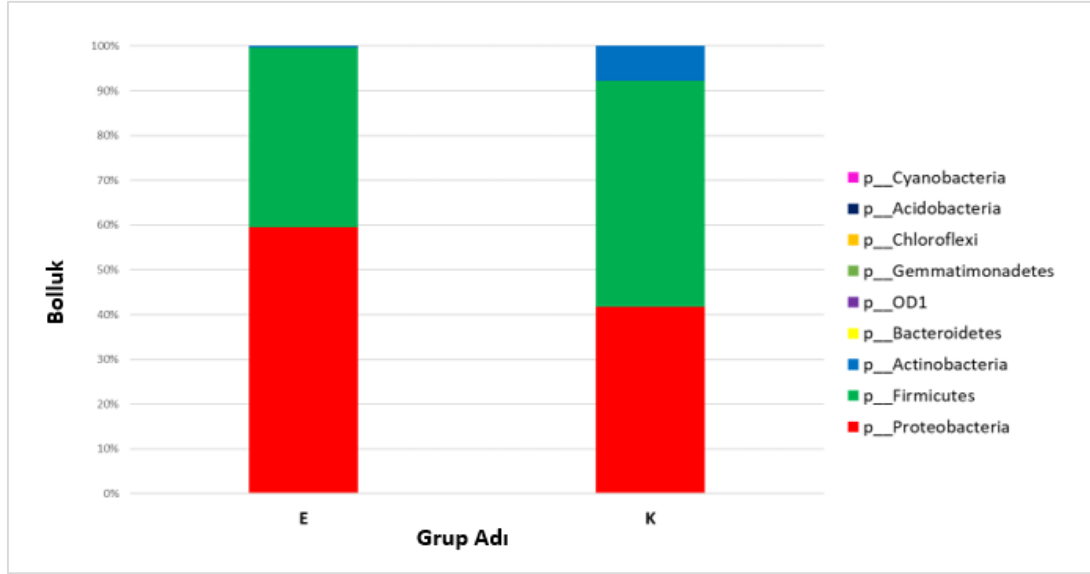


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.28. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Taze anne sütü alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarının göreceli bolluk analizi

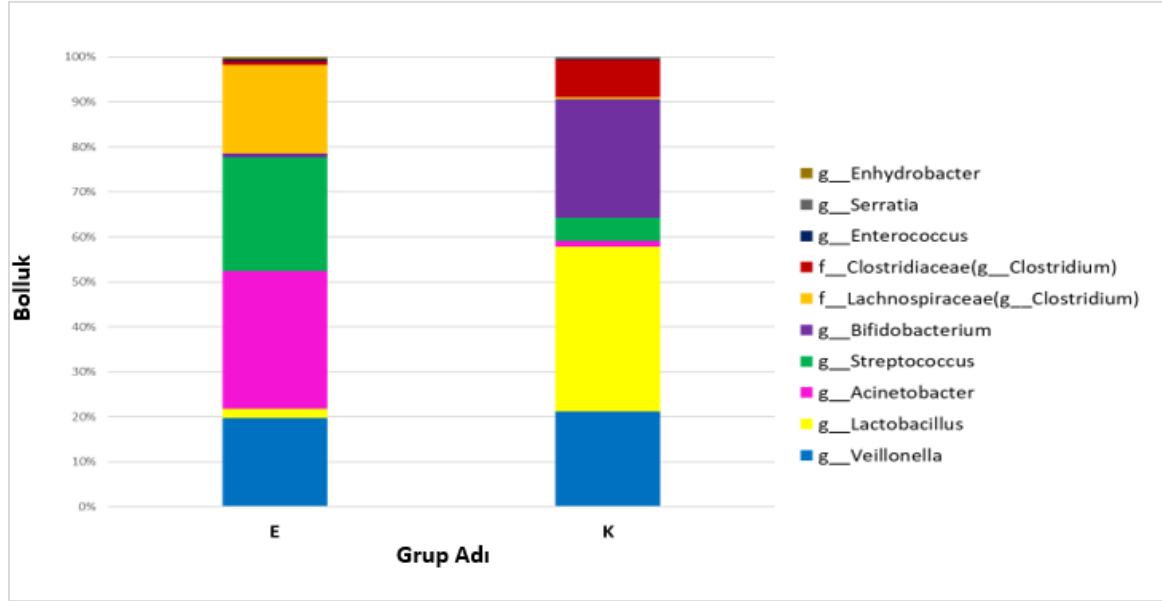
Şekil 4.29’da TAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerin 10. gün gaitalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%60) olup, bunu sırasıyla *Firmicutes* (%40) ve *Actinobacteria* (%0.3) filumları takip etmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarında ilk sırada gelen filum *Firmicutes* (%50) olup, bunu sırasıyla *Proteobacteria* (%42) ve *Actinobacteria* (%8) filumları takip etmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarında *Proteobacteria* (%60) filumunun göreceli bolluğunun kız bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyotalarında *Firmicutes* (%50) ve *Actinobacteria* (%8) filumlarının göreceli bolluğunun erkek bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.29. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Şekil 4.30'da TAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerin 10. gün gaitalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Acinetobacter* (%31) olup, bunu sırasıyla *Streptococcus* (%25), *Veillonella* (%20), *f__Lachnospiraceae(g__Clostridium)* (%20) ve *Lactobacillus* (%2) cinsleri takip etmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Lactobacillus* (%37) olup, bunu sırasıyla *Bifidobacterium* (%26), *Veillonella* (%21), *f__Clostridiaceae (g__Clostridium)* (%8), *Streptococcus* (%5) ve *Acinetobacter* (%1) cinsleri takip etmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Acinetobacter* (%31), *Streptococcus* (%25) ve *f__Lachnospiraceae (g__Clostridium)* (%20) cinslerinin göreceli bolluğunun kız bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Lactobacillus* (%37), *Bifidobacterium* (%26), *Veillonella* (%21) ve *f__Clostridiaceae (g__Clostridium)* (%8) cinslerinin göreceli bolluğunun erkek bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf, takım ve aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-18, EK-19, EK-20).

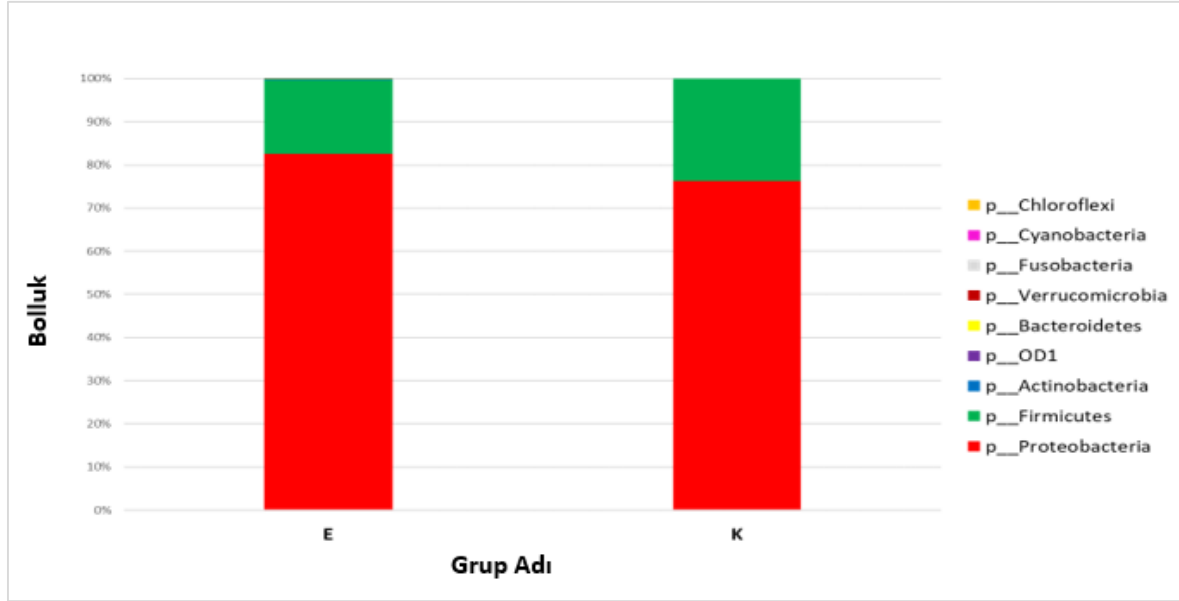


E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.30. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Dondurulmuş anne sütü alan kız bebeklerin 10. gün gaitaları ile erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının göreceli bolluk analizi

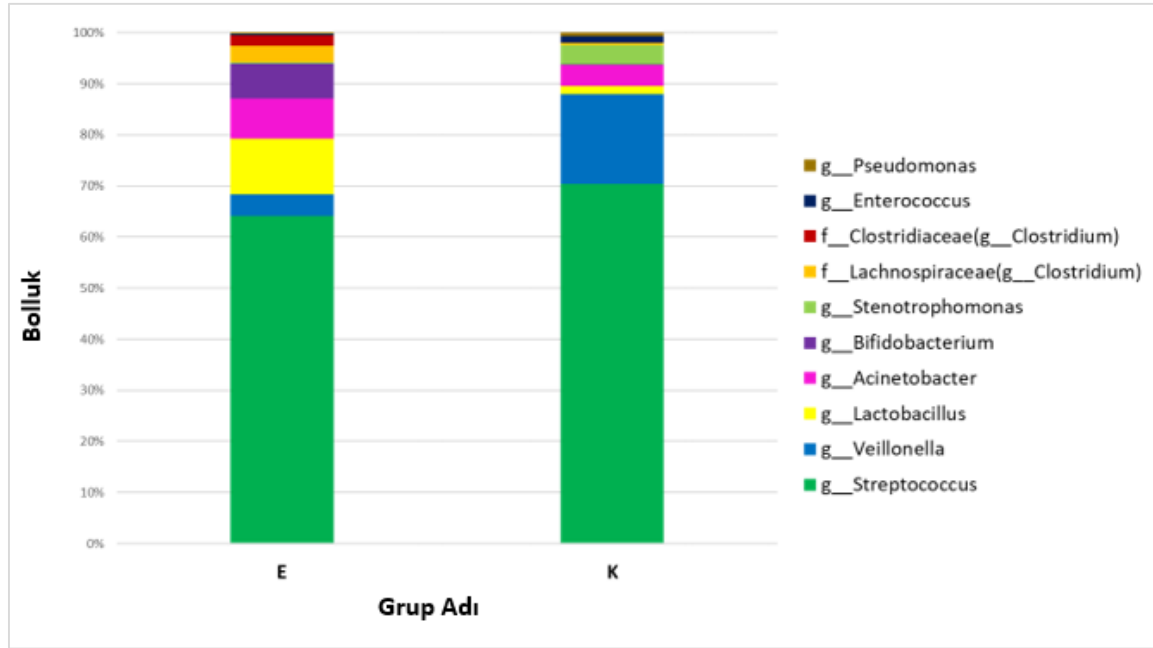
Şekil 4.31’de DAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerin 10. gün gaitalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%83) olup, bunu *Firmicutes* (%17) filumu takip etmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%76) olup, bunu *Firmicutes* (%24) filumu takip etmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Proteobacteria* (%83) filumunun göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.31. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının filum düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Şekil 4.32’de DAS alan kız (n:10) ve erkek (n:10) bebeklerin 10. gün gaitalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%64) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillus* (%11) ve *Acinetobacter* (%8) cinsleri takip etmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%70) olup, bunu sırasıyla *Veillonella* (%18) ve *Acinetobacter* (%4) cinsleri takip etmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Lactobacillus* (%11) ve *Acinetobacter* (%8) cinslerinin kız bebeklere göre göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Streptococcus* (%70) cinsinin erkek bebeklere göre göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf, takım ve aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri sırasıyla ekte gösterilmiştir (EK-21, EK-22, EK-23). Taze ve dondurulmuş anne sütü alma durumlarına ve cinsiyete göre bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarında gözlemlenen mikroorganizmaların toplu gösterimi çizelge 4.6’da verilmiştir.



E: Erkek, K: Kız.

Şekil 4.32. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının cins düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

Çizelge 4.6. Taze ve dondurulmuş anne sütü alma durumlarına ve cinsiyete göre bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarında gözlemlenen mikroorganizmalar

	TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum örnekleri (n:4)	TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum örnekleri (n:4)	TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:10)	DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:10)	TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:10)	DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita örnekleri (n:10)
Filum	Proteobacteria (%99) Firmicutes (%0.8)	Proteobacteria (%99) Firmicutes (%0.6)	Firmicutes (%50) Proteobacteria (%42) Actinobacteria (%8)	Proteobacteria (%76) Firmicutes (%24)	Proteobacteria (%60) Firmicutes (%40) Actinobacteria (%0.3)	Proteobacteria (%83) Firmicutes (%17)
Sınıf	Alphaproteobacteria (%74) Gammaproteobacteria (%26) Bacilli (%0.7)	Alphaproteobacteria (%98) Gammaproteobacteria (%0.8) Bacilli (0.3)	Bacilli (%41) Gammaproteobacteria (%40) Clostridia (%9)	Gammaproteobacteria (%76) Bacilli (%21) Clostridia (%3)	Gammaproteobacteria (%59) Bacilli (%25) Clostridia (15)	Gammaproteobacteria (%82) Bacilli (%17) Alphaproteobacteria (%0.8)
Takım	Rhizobiales (%58) Enterobacteriales (%25) Sphingomonadales (%16)	Rhizobiales (%98) Enterobacteriales (%0.7) Ellin329 (%0.5)	Enterobacteriales (%46) Lactobacillales (%20) Gemellales (%13) Clostridiales (%10) Bifidobacteriales (%9) Rhizobiales (%1)	Enterobacteriales (%75) Lactobacillales (%12) Gemellales (%8)	Enterobacteriales (%48) Lactobacillales (%20) Clostridiales (%15) Pseudomonadales (%11) Gemellales (%5)	Enterobacteriales (%83) Gemellales (%11) Lactobacillales (%4)
Aile	Enterobacteriaceae (%57) Sphingomonadaceae (%37) Methylobacteriaceae (%4)	Enterobacteriaceae (%42) Comamonadaceae (%16) Sphingomonadaceae (%13)	Enterobacteriaceae (%54) Lactobacillaceae (%15) Bifidobacteriaceae (%11) Veillonellaceae (%8) Enterococcaceae (%7) Clostridiaceae (%3)	Enterobacteriaceae (%82) Streptococcaceae (%10) Enterococcaceae (%3)	Enterobacteriaceae (%51) Moraxellaceae (%12) Enterococcaceae (%11) Streptococcaceae (%10) Veillonellaceae (%8) Lachnospiraceae (%8)	Enterobacteriaceae (%94) Streptococcaceae (%3) Enterococcaceae (%2)
Cins	Methylobacterium (%72) Lactobacillus (%8) Variovorax (%5)	Variovorax (%37) Sphingomonas (%15) Lactobacillus (%13)	Lactobacillus (%37) Bifidobacterium (%26) Veillonella (%21) f_Clostridiaceae (g_Clostridium) (%8) Streptococcus (%5) Acinetobacter (%1)	Streptococcus (%70) Veillonella (%18) Acinetobacter (%4)	Acinetobacter (%31) Streptococcus (%25) Veillonella (%20) F_Lachnospiraceae (g_Clostridium) (%20) Lactobacillus (%2)	Streptococcus (%64) Lactobacillus (%11) Acinetobacter (%8)



5. TARTIŞMA

Yenidoğan döneminde beslenme şekli bebeğin gelecekteki sağlığını şekillendirmede önemli bir role sahiptir. Anne sütü optimum bebek gelişimi için gerekli tüm besin maddelerini sağladığı için, bebeklerin beslenmesinde en önemli unsur olarak kabul edilmektedir (Beghetti ve diğerleri, 2019). Bebeklik döneminde anne sütü ile beslenmenin sağlıklı mikrobiyatanın şekillenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Jost ve diğerleri, 2012). Büyüme ve gelişme döngüsünde beslenmenin çok önemli bir faktör oluşturduğu özellikle YYBÜ’de izlenen bebeklerin mümkün olduğunca erken dönemde ve anne sütü ile beslenmesi önerilmektedir (Rodriguez ve diğerleri, 2017). Bunun için taze ve dondurulmuş anne sütünün birçok açıdan değerlendirildiği gibi sağlıklı mikrobiyata açısından da değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Yenidoğan mikrobiyatasının kısa ve uzun vadede sağlığı nasıl etkilediğine dair artan kanıtlar göz önüne alındığında, hemşirelerin mikrobiyata hakkında temel bir yaklaşıma sahip olmaları ve bakım sağlarken bunu klinik ortamda uygulayabilmeleri önemlidir. Çalışmadan elde edilen bulgular altı başlık altında tartışılmıştır.

1. Gruplandırma Analizi Sonuçlarının Tartışması
2. Alfa Çeşitlilik (Alpha diversity) Analizi Sonuçlarının Tartışması
3. Beta Çeşitlilik (Beta diversity) Analizi Sonuçlarının Tartışması
4. Bray-curtis Isı Haritası Analizi Sonuçlarının Tartışması
5. OTU Venn Analizi Sonuçlarının Tartışması
6. Taxa-bar plots Analizi Sonuçlarının Tartışması

5.1. Gruplandırma Analizi Sonuçlarının Tartışması

Yapılan gruplama analizlerine TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:8) ve 10. gün gaitalarının (n:8) karşılaştırıldığı grupta (Adonis: p:0.023, Anosim: p:0.01, MRPP: p:0.027), TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10.gün gaitalarının karşılaştırıldığı grupta (Adonis: p:0.016, Anosim: p:0.01, MRPP: p:0.007) kendi içlerinde mikrobiyata çeşitliliği açısından birbirinden farklı olduğu ve çalışma için doğru bir gruplama yapıldığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olması grupların mikrobiyata verisi açısından uygun olduğunu, mekonyum ve 10. gün gaitanın TAS grubundaki varyasyonları ile TAS ve DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarının

karşılaştırıldığı gruplardaki varyasyonların birbirlerinden çok farklı olduğunu bu farkın analiz için anlamlı olduğunu göstermektedir.

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının, DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının, TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının, DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10.gün gaitalarının ve TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10.gün gaitalarının karşılaştırıldığı gruplarda yapılan gruplandırma analizinde grupların kendi içlerinde mikrobiyaya çeşitliliği açısından birbirlerine benzer oldukları görülmüştür ($p>0.05$). Gruplandırma analizinde benzerlik olması gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmaması grupların mikrobiyaya çeşitliliği açısından benzer özellikte olduğunu, gruplardaki varyasyonların istatistiksel olarak fark yaratmayacak benzerlikte olduğunu göstermektedir.

5.2. Alfa Çeşitlilik (Alpha diversity) Analizi Sonuçlarının Tartışması

Yapılan Alfa çeşitlilik analizine göre (Observed OTU:0.02, Chao1:0.02, Simpson:0.34 Shannon's diversity:0.52) mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının karşılaştırıldığı TAS grubunda Observed OTU ($p<0.05$) ve Chao1 ($p<0.05$) dışındaki tüm yöntemlerde alfa çeşitlilik açısından farklılaşmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Bu sonuç bizim çalışmamızda gruplar arasındaki her grubun kendi içinde mikrobiyaya alfa çeşitlilik açısından tüm yöntemlerde farklılaşmadığını grupların kendi içlerinde benzer türleri barındırdığını göstermektedir.

TAS ve DAS grubunda mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının, DAS grubunda mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10.gün gaitalarının, TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10.gün gaitalarının, TAS alan kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının, TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10.gün gaitalarının ve DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10.gün gaitalarının karşılaştırıldığı gruplarda ise mikrobiyaya Alfa çeşitliliği açısından farklılaşmadıkları görülmüştür ($p>0.05$). Gruplardaki örneklerin mikrobiyaya tür çeşitliliği açısından birbirlerine benzer özellikte oldukları belirlenmiştir. Bunun sebebinin çalışmanın mikrobiyaya açısından henüz tam olgunluğa erişmemiş olan yenidoğanlar üzerinde yürütülmüş olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.3. Beta Çeşitlilik (Beta diversity) Analizi Sonuçlarının Tartışması

OTU değerlerine göre yapılan PCA analizinde mekonyumların incelendiği tüm grupların farklı mikroorganizmalar barındırsalar bile birbirlerine yakın özellikte mikroorganizmaların çoğunlukta olduğu görülmüştür. Bu durumun örneğin mekonyum olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. PCA analizine göre TAS ve DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarının karşılaştırıldığı grupta TAS alan bebeklerin kümeleşme göstererek birbirlerine yakın özellikte mikroorganizmalar barındırdığı, DAS alan bebeklerin ise birbirlerinden farklı mikroorganizmalar barındırdığı gözlenmiştir. Bu durumun anne sütünün dondurulup çözülmesinden kaynaklı bakterilerin parçalanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Shao, Khin ve Kopp, 2012).

OTU değerlerine göre yapılan PCA’da TAS grubundaki bebeklerin mekonyumları ile 10.gün gaitalarının incelendiği grupta mekonyum örneklerinin farklı özellikte mikroorganizmalar barındırmasına rağmen benzer özellikte olduğu, 10. gün gaitalarının da birbirine yakın özellikte mikroorganizmalar barındırdığı, grupların birbirine yakın kümeleşme gösterdiği görülmüştür. Mekonyum ve 10. gün gaitalarının kendi içlerinde yakın kümeleşme göstermelerinin nedeninin çalışmadaki örneklerin yenidoğan gibi spesifik bir gruptan alınmış olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Cinsiyete göre bakılan gruplarda beta çeşitlilik açısından farklılaşma gözlenmemiştir. Kız ve erkek bebeklerin benzer özellikte mikroorganizmaları barındırdıkları gözlenmiştir.

5.4. Bray-curtis Isı Haritası Analizi Sonuçlarının Tartışması

Isı haritasına bakıldığında bebeklerin mekonyum örneklerinde *Sphingomonadaceae*, *Rhizobiales*, *Enterobacteriaceae*, *Sphingomonadaceae* cinslerinin bolluklarında artış olduğu görülmüştür. DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında *Enterobacteriaceae* cinsinin bolluklarında artış gözlenirken, TAS alan grupta *Enterobacteriaceae* cinsinin bolluğunda azalma gözlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında *Lactobacillus*, *Bifidobacterium.longum*, *Acinetobacter s.*, *Streptococcus s.*, *Enterococcaceae*, *Bacilli*, *Colostridium hathewayi* cislerinde bolluklar gözlenmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Gemellales* cislerinde bolluklar gözlenmiştir. Isı haritasında kırmızı renklerin koyuluğunun artması o grupta o mikroorganizmanın daha yoğun olarak temsil edildiğini göstermektedir. Bağırsak

mikrobiyotasının üyeleri olmasına rağmen patojen olarak kabul edilen ve birçok enfeksiyona sebep olan *Enterobacteriaceae*'nın (De Angelis, Del Giacomo, Posteraro, Sanguinetti ve Tumbarello, 2020) DAS alan grup içerisindeki örneklerde daha yüksek oranda temsil edildiği, TAS alan grup içerisindeki örneklerde ise daha az oranda temsil edildiği görülmektedir. Bu bilgi doğrultusunda DAS alan bebeklerin bağırsaklarında daha fazla oranda patojen mikroorganizmanın olduğu görülmüştür.

5.5. OTU Venn Analizi Sonuçlarının Tartışması

TAS (n:20) ve DAS (n:20) alan bebeklerin 10. gün gaitalarının mikrobiyotasının OTU dağılımına bakıldığında TAS alan grupta benzersiz 89 OTU, DAS alan grupta 29 OTU ve her iki grup arasında 84 OTU'nun ortak olduğu görülmüştür. TAS alan bebeklerde erken yaşamda daha fazla mikrobiyal çeşitliliğin olduğu görülmektedir. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyumları (n:11) ile 10. gün gaitalarının (n:11) mikrobiyata OTU dağılımına bakıldığında mekonyum olan grupta benzersiz 1884 OTU, 10. gün gaita olan grupta 418 OTU ve her iki grup arasında 125 OTU'nun ortak olduğu görülmüştür. Mekonyumun gaitaya göre farklı mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğu, beslenme ve diğer çevresel faktörler ile gaitada mikrobiyal çeşitliliğin farklılaştığı gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda da benzer şekilde mekonyumun gaitadan daha farklı bir mikrobiyataya sahip olduğu belirtilmiştir (Moles ve diğerleri, 2013; Neu, 2016).

5.6. Taxa-bar plots Analizi Sonuçlarının Tartışması

Sağlıklı annenin plasentasında, göbek kordonunda ve bebeğin mekonyumunda mikroorganizmaların varlığı, fetal mikrobiyal temasın fizyolojik bir olay olduğunu düşündürmektedir (Collado ve diğerleri, 2016). Mekonyum mikrobiyotasının bileşimi ve hastanede yatan prematüre bebeklerdeki değişimi hakkındaki çalışmalar sınırlıdır (Chernikova ve diğerleri, 2018b; Lu ve diğerleri, 2020; Moles ve diğerleri, 2013).

Çalışmamızdaki bebeklerin mekonyum mikrobiyatalarında önde gelen filum olan Proteobacteria TAS grubunda (%99) ve DAS grubunda (%99) yüksek bollukta olup bunu Firmicutes filumu (TAS %1, DAS %1) takip etmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular literatürü destekler niteliktedir. Çalışmamıza benzer şekilde Stinson, Boyce, Payne ve Keelan (2019) yapmış oldukları çalışmada acil olmayan sezaryenle doğum yapan ve rahim

içi enfeksiyonu olmayan 50 annenin amniyotik sıvı örnekleri ve 34-42 gestasyon haftasındaki bebeklerin mekonyum örnekleri toplanmıştır. Toplanan 50 mekonyum örneğinden yedisi ekstrakte edilemediği için çalışma dışında bırakılmıştır. 43 mekonyum örneğinde *Proteobacteria* filumundan *P. Puraquae* cinsi bakterinin bolluğunun fazla olduğu görülmüştür (Stinson, Boyce, Payne ve Keelan, 2019). Dornelles ve diğerleri (2020) yapmış oldukları çalışmada 32 gestasyon haftasından küçük olan ve erken başlangıçlı neonatal sepsis tanısı alan 40 prematüre bebek ile tanı almayan 44 premature bebeğin mekonyumları mikrobiyata özelliği açısından değerlendirilmiştir. Her iki grupta da en fazla bulunan filumun *Proteobacteria* olduğu tespit edilmiştir (Dornelles ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmaların sonuçlarında da görüldüğü gibi *Proteobacteria*'nın yenidoğan mekonyumunda görülen en baskın filum olduğu belirlenmiştir.

Bizim çalışmamızda mekonyum analizinde ikinci en yüksek bollukta bulunan *Firmicutes* filumu bazı çalışmalarda en bol filum olarak bulunmuştur. Yapılan mekonyum mikrobiyata çalışmalarında *Firmicutes* filumuna ait cins düzeyinde, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Lactobacillus* baskın olduğu bildirilmiştir (Jacquot ve diğerleri, 2011; LaTuga ve diğerleri, 2011; Mshvildadze ve diğerleri, 2010). Moles ve diğerleri (2013) yapmış oldukları çalışmada 32 gestasyon haftasından küçük 14 prematüre bebeğin mekonyumları ile birinci hafta, ikinci haftada ve üçüncü haftadaki gaitalarının mikrobiyal analizi yapılmıştır. *Firmicutes* mekonyum örneklerinde en bol bulunan filum olarak saptanmıştır bunu *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* takip etmiştir (Moles ve diğerleri, 2013).

Collado ve diğerleri (2016) yapmış oldukları çalışmada 37 gestasyon haftasından büyük 15 elektif sezeryan ile doğan anne-bebek çiftinden plasenta, amniyotik sıvı ve kolostrumdaki mikrobiyal popülasyonları belirlemek amacı ile örnekler alınmıştır. Mekonyum mikrobiyata örneklerinde filum düzeyinde *Firmicutes*'in, aile düzeyinde *Staphylococcaceae*'nin baskın olduğu bulunmuştur (Collado ve diğerleri, 2016). Yapılan bu mekonyum çalışmalarında mekonyum mikrobiyalarının filum düzeyinde öncelikli olarak *Proteobacteria* ya da *Firmicutes* olmasının bebeklerin gestasyon haftaları ile doğrudan bir ilişkisi olmadığı görülmüştür. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada mekonyum mikrobiyotasının annenin birden fazla vücut bölgesinden tohumlandığı, amniyotik sıvı mikrobiyotasının mekonyum mikrobiyotasının tohumlanmasında en etkili kaynak olduğu orta konulmuştur (He ve

diğerleri, 2020). Mekonyum mikrobiyalarında filum düzeyinde en yüksek bollukta *Proteobacteria* ya da *Firmicutes* olmasının anne kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Yenidoğan beslenmesinde anne sütü bebek bağırsağını yararlı mikroorganizmalar ile kolonileştiren, mikrobiyotanın büyümesini teşvik eden ve dolayısıyla bebeklerde bağışıklık sistemini etkileyen ilk faktörlerden biridir. Anne sütündeki kommensal bakterilerin bebeklik döneminde gastrointestinal enfeksiyonlara karşı koruyucu rol oynadığı bilinmektedir (Carr, Elolimy, Rosa, Virmani, Munblit ve Yeruva, 2021). Mikrobiyatada bakteri türlerini değerlendirmek için bolluk ve görülme sıklığı kullanılır. Bir bakteri türünün bolluğu, bir toplulukta bulunan bireysel türlerin sayısını ifade ederken, insidans, topluluklarda bulunan her bir bakteri türünün sıklığını ölçmektedir. Genel olarak, yararlı bakteriler olan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*'un yüksek bolluğu, *E. coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella* ve *Candida* gibi patojenik bakterilere göre prematüre bebeklerde sağlıklı mikrobiyotanın oluşmasında daha çok etkili olduğu bilinmektedir. Anne sütü oligosakkaritleri *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus*'un büyümesini kolaylaştıran, prematüre bebekler için en faydalı prebiyotiklerden biri olarak görülmektedir (Xu ve diğerleri, 2018).

Çalışmamızda TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarında filum düzeyinde bolluk olarak sırasıyla *Proteobacteria* (%51), *Firmicutes* (%45) ve *Actinobacteria* (%4) bakterileri gözlenmiştir. DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarında ise filum düzeyinde *Proteobacteria* (%79) ve *Firmicutes* (%21) bakterileri gözlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında DAS alan bebeklere göre *Proteobacteria* bolluğu azalmış olup *Firmicutes* bolluğu artmıştır. TAS alan bebeklerde görülen *Actinobacteria* filumu DAS alan bebeklerde gözlenmemiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında daha fazla çeşitlilikte bakteri görülmüştür. TAS ve DAS alan bebeklerin hepsinin 10. gün gaitalarında oransal farklılıklar olmasına rağmen filum düzeyinde *Proteobacteria* ve *Firmicutes* her iki grupta da gözlenmiştir. Bağırsak mikrobiyotasının *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumlarını da içeren dört filumdan geliştiği (Yang ve diğerleri, 2016) düşünüldüğünde ve çalışmamızda bebeklerin taze ya da dondurulmuş ağırlıklı olarak anne sütü ile beslenmiş olduklarından aradaki farkın TAS alan bebeklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. TAS alan bebeklerde daha fazla çeşitlilikte bakteri görülmesinin nedeninin sütün dondurulmak gibi herhangi bir işleme maruz kalmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda TAS ve DAS alan bebeklerin 10. gün bağırsak mikrobiyotalarındaki bakteri bolluklarında oluşan farkın DAS grubundaki anne sütlerinin dondurulup çözündürülmesinden dolayı bakteri DNA'sında oluşturabileceği hasardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Dondurmanın bakteriler üzerindeki zararlı etkileri hücre içi buz oluşumuna atfedilmiştir (Corbett, De Buck ve Barkema, 2018), ancak Fonseca, Marin ve Morris (2006) yaptıkları çalışmada donmaya bağlı hücre hasarının ısınma sırasında hücre içi ve hücre dışı ozmotik dengesizliklerin sonucu olabileceğini bildirmiştir (Fonseca, Marin ve Morris, 2006). Anne sütünü dondurma işleminin sütün içeriğinde ve bakteri çeşitliliğinde değişiklikler meydana getirdiği çalışmalar ile kanıtlanmıştır.

Yapılan bir çalışmada kan numunelerinde dondurma/ çözme döngülerinin genomik DNA'nın aşamalı olarak parçalanmasını indüklediği, dondurma/ çözme döngülerinin sayısının arttıkça genomik DNA'nın parçalanma derecesinin de arttığı, DNA boyutu ne kadar büyükse donma / çözme döngüleri ile parçalanmaya o kadar duyarlı olduğu görülmüştür (Shao ve diğerleri, 2012).

García-Lara ve diğerleri (2012) yapmış oldukları çalışmada anne sütünün 90 gün boyunca -20° C'de dondurulmasının taze anne sütüne yağ, protein ve kalori miktarının azaldığı tespit edilmiştir (García-Lara ve diğerleri, 2012). Hung ve diğerleri (2013) 37. gestasyon haftasından küçük 18 prematüre bebek ile yürüttükleri çalışmada ardışık iki besleme saatinde taze anne sütü ve çözündürülmüş anne sütü verildikten sonra kalp atış hızları ve oksijen saturasyonları besleme öncesi ve sonrası ölçülmüş prematüre bebekler taze anne sütüne göre çözündürülmüş anne sütü ile beslenmede daha fazla stres bulguları göstermişlerdir (Hung ve diğerleri, 2013). Hanna ve diğerleri (2004) anne sütünün antioksidan aktivitelerini ölçtükleri çalışmada taze, soğutulmuş ve dondurulmuş toplam 16 anne sütü örneğini incelemişler. Anne sütünün antioksidan aktivitelerinde hem soğutma hem de donma sıcaklıklarında önemli ölçüde azalma olduğu, dondurma işleminin soğutmaya göre daha çok azalmaya neden olduğu bulunmuştur (Hanna ve diğerleri, 2004). Yapılan birkaç çalışmada, dondurulmuş sütte E vitamini seviyelerinin stabil olduğu C vitamini seviyelerinde ise 1-5 aylık depolamadan sonra önemli ölçüde azalma görüldüğü tespit edilmiştir (Buss, McGill, Darlow ve Winterbourn, 2001; Romeu-Nadal, Castellote ve López-Sabater, 2008).

Yapılan bazı çalışmalarda -20°C'de 3 ay boyunca dondurulmuş anne sütünde biyoaktif faktörlerin, laktoferrin seviyelerinin ve biyoaktivitenin önemli ölçüde daha düşük

seviyelerde olduğu gözlenmiştir (Raoof, Adamkin, Radmacher ve Telang, 2016; Rollo, Radmacher, Turcu, Myers ve Adamkin, 2014; Takci ve diğerleri, 2012). Soğutulmuş ve dondurulmuş anne sütünün içeriğindeki trigliseritin parçalanması ve yağ asitleri salınması nedeniyle taze anne sütünde farklı bir kokuya sahip olabileceği koku değişikliğinin bu yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Sandgruber, Much, Amann-Gassner, Hauner ve Buettner., 2012; Spitzer, Klos ve Buettner 2013). Çalışmaların sonuçlarında görüldüğü gibi dondurma/çözme işlemlerinin anne sütünün yapısında, kokusunda ve içeriğinde değişiklikler meydana getirdiği görülmüştür.

Taze anne sütü, dondurulmuş anne sütünden daha kalitelidir ve maternal sekretuar IgA antikorları içerir. Yeni sağılmış anne sütü, soğutulmuş veya dondurulmuş süte kıyasla antioksidanlar, vitaminler, protein, yağ ve probiyotik bakteri bakımından daha zengindir. Taze anne sütü aynı zamanda soğutulmuş veya dondurulmuş süte kıyasla en büyük immünolojik aktiviteye sahiptir (Egash ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda TAS alan bebeklerin bağırsak mikrobiyalarında DAS alan bebeklere göre faydalı bakterilerin bolluğunun fazla görülmesinin anne sütü içindeki bakterilerin yapısının korunarak bebek bağırsağında sağlıklı mikrobiyal çevrenin oluşmasına katkı sağladığı düşünülmektedir.

Anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsak mikrobiyom topluluklarında *Bifidobacteria* ve *Bacteroidetes*'in daha baskın olduğu belirtilmiştir (Groer ve diğerleri, 2014). Anne sütü bakterileri sitotoksik Th1 hücrelerinin olgunlaşmasını uyararak enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (Carr ve diğerleri, 2021). Özellikle anne sütündeki *Lactobacillus* immün sistemin en önemli hücreleri olan NK (natural killer) hücrelerini, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerini arttırmaktadır (Fernández ve diğerleri, 2013). Anne sütündeki *Lactobacillus gasseri* ve *Lactobacillus crispatus* gibi kommensal bakterilerin bağırsak hücrelerine tutunma özelliği bulunduğundan dolayı anne sütü beslenenlerin bağırsaklarında faydalı bakterilerin kolonizasyonunun artmasına neden olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte yakın zamanda yapılan bir çalışmada *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus gasseri* ve *Streptococcus salivarius* bakterilerinin bağırsak epitel hücrelerine patojen bakterilerin tutunmasını önlediği bulunmuştur (Damaceno ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda TAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarında cins düzeyinde Veillonella (%20), Acinetobacter (%18), Lactobacillus (%17), Streptococcus (%16), Bifidobacterium (%12), f__Lachnospiraceae (g__Clostridium) (%11) ve f__Clostridiaceae (g__Clostridium) (%4) bakterileri gözlenmiştir. DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaitalarında ise cins düzeyinde

Streptococcus (%69), *Veillonella* (%15), *Acinetobacter* (%5), *Lactobacillus* (%3), *Bifidobacterium* (%1), *Stenotrophomonas* (%3) ve *Enterococcus* (%1) bakterileri gözlenmiştir. TAS ve DAS alan bebeklerin 10.gün gaitalarında bakteri türü ve bolluk açısından farklılıklar gözlenmiştir. Anne sütünde olması beklenen yararlı bakterilerden olan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un TAS alan bebeklerde DAS alan bebeklere göre daha yüksek bollukta gözlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda yaşamın erken dönemlerinde sağlıklı anne sütüyle beslenen bebeklerde gaita *Bifidobacterium* miktarının arttığı bulunmuştur (Avershina ve diğerleri, 2014; Azad ve diğerleri, 2013; Borewicz ve diğerleri, 2019). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada yaşamın birinci haftasında *Bifidobacterium* bolluğu fazla olan bebeklerde, *Bifidobacterium* bolluğu düşük olanlara göre ilerleyen yıllarda daha yüksek IL-13, IL-5, IL-6, TNF ve IL-1b seviyeleri belirlenmiştir (Rabe ve diğerleri, 2020). Patel, Konduru, Patra, Chandel ve Panigrahi (2015) yapmış oldukları çalışmada 22 prematüre bebeğin bağırsak mikrobiyaya çeşitliliği analiz edilmiş, *Bifidobacterium*'un sadece anne sütü ile beslenenlerde, kısmen anne sütü ile beslenen yenidoğanlara kıyasla yaşamın birinci ve üçüncü haftalarında daha yüksek bollukta olduğu tespit edilmiştir (Patel, Konduru, Patra, Chandel ve Panigrahi, 2015). Çalışmamızda bu çalışmaya benzer şekilde TAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında *Bifidobacterium* (%12) bolluğu DAS alan bebeklere göre daha fazla gözlenmiştir.

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* gibi yararlı bakterilerin DAS alan bebeklerde bolluklarının daha az olmasının nedeninin anne sütünün dondurulmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tüm vücutta flora bakterisi olarak en çok deride bulunan, büyük çoğunluğu insan patojeni ve hastalık etkeni kabul edilen bakterilerden olan *Streptococcus* (Reglinski ve Sriskandan, 2015) DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında en yüksek bollukta gözlenmiştir. Sağlıklı bağırsak florasında bulunan *Lactobacillus*'un bağırsak epitel tabakasına yapışma özelliğinin olmasından dolayı patojen mikroorganizmaları uzaklaştırma özelliği bulunduğu bilinmektedir (Kwon, Bae, Kim ve Han., 2018). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda DAS alan grupta *Lactobacillus* oranının daha az olmasından dolayı bebek bağırsağında patojen mikroorganizmaların daha kolay tutunduğu ve bu yüzden DAS alan bebeklerde *Streptococcus* gibi patojen kabul edilen bakterilerin bolluklarının daha fazla olduğu düşünülmektedir.

İnsanlarda ve hayvanlarda patojenler olarak sınıflandırılan bir başka takım da *Enterobacteriales*'dir (Adeolu, Alnajjar, Naushad ve Gupta, 2016). Cong ve diğerleri (2017)

yapmış oldukları çalışmada 33 prematüre bebeğin beslenme şekillerine göre bağırsak mikrobiyotaları değerlendirilmiş anne sütü ile beslenen bebekler en yüksek bollukta *Clostridiales*, *Lactobacillales* ve *Bacillales*'e sahip olarak bulunmuş; donör süt veya bebek formülü ile beslenen bebeklerde yüksek miktarda *Enterobacteriales* gözlenmiştir (Cong ve diğerleri, 2017). Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar bu çalışmanın sonuçlarına benzemekle birlikte DAS alan bebeklerin 10.gün gaitalarında daha fazla *Enterobacteriales* (%79) bolluğu gözlenmiştir. Bu sonuç DAS'ın TAS'a göre bebek bağırsağında daha fazla patojen mikroorganizmanın gelişimini sağlayan bir mikroçevre oluşturabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamıza benzer şekilde La Rosa ve diğerleri (2014) yapmış oldukları çalışmada anne sütünde *Gammaproteobacteria* kolonizasyonunun baskın olduğunu bulmuşlardır (La Rosa ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda da TAS ve DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarında sınıf düzeyinde en fazla bulunan bakteri *Gammaproteobacteria* olup DAS alan grupta (%78) daha yüksek bollukta olduğu tespit edilmiştir. *Gammaproteobacteria* sınıfının, *Proteobacteria* filumuna ait olduğu ve yaklaşık 250 cins içerdiği, bu da onu *Prokaryotların* cins açısından en zengin taksonu yaptığı bilinmektedir (Garrity, Bell ve Lilburn, 2005). Çalışmamızda filum düzeyinde *Proteobacteria*'nın DAS alan bebeklerde daha fazla bollukta görülmesinden dolayı *Gammaproteobacteria*'nın DAS alan bebeklerdeki bolluğunun fazla olmasının nedeni olabileceği düşünülmüştür.

Bağırsak mikrobiyotasının durumunu beslenme, ırk, yaş, antibiyotikler, stres, psikolojik faktörler, annenin sağlığı, doğum şekli, çevresel faktörler ve egzersiz gibi çeşitli faktörlerin etkileyebileceği bilinmektedir (Osadchiy, Martin ve Mayer, 2019). Bu yüzden mikrobiyota üzerine çalışma planlarken ve çalışma sonuçları yorumlarken bu faktörler dikkate alınmalıdır. Bu faktörlerin yanı sıra cinsiyetin de mikrobiyatanın gelişiminde önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Özellikle bebeklik döneminde cinsiyetin mikrobiyatanın şekillenmesindeki rolü ile bilgiler yetersizdir. Sonuçlar tutarsız olsa da, hayvan ve insan çalışmaları bağırsak mikrobiyotasında cinsiyete bağlı farklılıklar olduğunu göstermekle birlikte cinsiyetin etkisinin diğer faktöre göre daha az olduğu düşünülmektedir (Kim ve diğerleri, 2020). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda farelerin bağırsak mikrobiyotasının erkeklerde ve kadınlarda farklılık gösterdiği ve bu eğilimin erkek farelerde kastrasyonla tersine döndüğü, cinsiyete bağlı olduğu bilinen belirli bağışıklık hastalıklarına (kadınlarda tip 1 diyabet veya erkeklerde otizm gibi) yatkınlığın açıklaması olarak erkek ve dişi arasındaki mikrobiyota kompozisyonundaki farklılıktan kaynaklanabileceği

gösterilmiştir (Markle, Frank, Adeli, Von Bergen & Danska, 2014; Markle ve diğerleri, 2013; Romero ve diğerleri, 2014a; Yurkovetskiy ve diğerleri, 2013). Hormonal değişiklikler nedeniyle ergenliğin mikrobiyota kompozisyonunu etkilediği düşünülse de, bu fikri destekleyen veriler yetersizdir (Martin ve diğerleri, 2016).

Çalışmamızda TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitalarında cins düzeyinde *Lactobacillus* (%37) hem erkek bebeklere hem de DAS alan diğer tüm bebeklere göre daha fazla bollukta gözlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Martin ve diğerleri (2016) yapmış oldukları çalışmada doğumda erkek bebeklerin bağırsaklarındaki toplam bakteri sayısının kızlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Martin ve diğerleri, 2016). Vajinal mikrobiyotada baskın bir cins olan ve kadın östrojenleri tarafından düzenlendiği bilinen (Romero ve diğerleri, 2014b) *Lactobacillus*'un, erken yaşlarda kızların bağırsaklarını erkeklerden daha sık kolonileştirdiğini bulmuşlardır (Martin ve diğerleri, 2016). Martin ve diğerleri (2016) yapmış oldukları çalışmanın aksine çalışmamızda DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitalarında cins düzeyinde *Lactobacillus* görülmezken erkek bebeklerin 10. gün gaitalarında *Lactobacillus* (%11) daha fazla bollukta görülmüştür. Aynı grup içinde görülen bu farklılıkların cinsiyet faktöründen kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda TAS ve DAS alan bebeklerin cinsiyetleri karşılaştırıldığında görülen farklılıkların hem anne sütünün dondurulmasından hem de cinsiyetler arasında oluşan farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Haro ve diğerleri (2016) yapmış oldukları çalışmada bağırsak mikrobiyotasının erkeklerde ve kadınlarda filum düzeyinde (*Firmicutes* / *Bacteroidetes* oranı), cins düzeyinde (*Bacteroides*, *Bilophila*, *Veillonella* ve *Methanobrevibacter*) ve tür düzeyinde (*B. plebeius*, *B. caccae*, *C. catus*) farklılıklar gösterdiğini bulmuşlardır (Haro ve diğerleri, 2016). Çalışmamızda benzer şekilde TAS alan hem kız hem de erkek bebeklerin 10. gün gaitalarında DAS alan bebeklerin 10. gün gaitalarına oranla daha yüksek çeşitlilikte bakteri gözlenmiştir

Cong ve diğerleri (2016) yapmış oldukları çalışmada prematüre bebek grubunda doğumdan sonra erkeklerde ve kızlarda bağırsak mikrobiyom topluluklarının farklı olduğu bulunmuş. Erkek bebekler daha düşük bir çeşitlilik indeksi ile yaşama başlarken, kız bebekler doğumdan kısa bir süre sonra daha yüksek bir çeşitliliğe sahip olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarında kız bebeklerin erken yaşamlarında erkek bebeklere göre daha yüksek miktarda *Clostridiales* ve daha az *Enterobacteriales*'e sahip olma durumunun yüksek olduğu gösterilmiştir (Cong ve diğerleri, 2016). Bizim çalışmamız bu

Çalışmanın sonuçlarını kısmen desteklemekle birlikte TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaitalarında takım düzeyinde hem *Enterobacteriales* hem de *Clostridiales* bollukları erkek bebeklere göre daha az görülmüştür. Çalışmamızda takım düzeyinde *Enterobacteriales* DAS alan kız (%75) ve erkek bebeklerin (%94) 10. gün gaitalarında en yüksek bollukta görülmekle birlikte kız bebeklerde oranın daha düşük olduğu gözlenmiştir. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarında takım düzeyinde *Clostridiales* gözlenmemiştir.

Tüm bu sonuçlar doğrultusunda prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmenin bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkisinin olduğu görüldüğü için H_0 hipotezi reddedilmiş H_1 hipotezi kabul edilmiştir. Çalışmamız taze ya da dondurulmuş anne sütünün yenidoğan bağırsak mikrobiyotası üzerine olan etkilerini incelemesi bakımından uluslararası düzeyde ilk çalışma olması nedeni ile alandaki eksikliği gidereceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

YYBÜ’de izlenen prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütüyle beslenmenin bağırsak mikrobiyotasına etkisini incelemek amacıyla yapılan araştırmanın bulguları doğrultusunda aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

6.1. Sonuçlar

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) mikrobiyalarında öncelikle *Proteobacteria* (%99) filumu saptanmış olup, daha sonra *Firmicutes* (%1) filumu belirlenmiştir. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10.gün gaita (n:8) mikrobiyalarında ise öncelikle *Firmicutes* (%56) filumu görülmüş olup, daha sonra *Proteobacteria* (%44) filumu saptanmıştır.

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) mikrobiyalarında öncelikle *Klebsiella* (%64) cinsi belirlenmiş olup, daha sonra *Methylobacterium* (%14), *Enterococcus* (%4), *Variovorax* (%4), *Lactobacillus* (%3), *Acinetobacter* (%2), *Sphingomonas* (%1) ve *Staphylococcus* (%1) cinsleri görülmüştür. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10.gün gaita (n:8) mikrobiyalarında ise öncelikle *Veillonella* (%19) cinsi saptanmış olup, daha sonra *Lactobacillus* (%18), *Enterococcus* (%17), *Staphylococcus* (%14), *Acinetobacter* (%14) ve *Klebsiella* (%12) cinsleri görülmüştür.

DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu *Firmicutes* (%1) filumu takip etmiştir. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10.gün gaita (n:3) mikrobiyalarında ilk sırada gelen filum *Firmicutes* (%64) olup, bunu *Proteobacteria* (%36) filumu takip etmiştir

DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) mikrobiyalarında ilk sırada gelen cins *Variovorax* (%35) olup, bunu sırasıyla *Sphingomonas* (%9), *Klebsiella* (%7), *Methylobacterium* (%5), *Bifidobacterium* (%5), *Enterococcus* (%4), *Serratia* (%4), *Alcaligenes* (%4), *Streptococcus* (%3) ve *Stenotrophomonas* (%2) cinsleri takip etmiştir. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10.gün gaita (n:3)

mikrobiyatalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%67) olup, bunu sırasıyla *Klebsiella* (%27) ve *Stenotrophomonas* (%4) cinsleri takip etmiştir.

TAS alan bebeklerin 10. gün gaita (n:20) mikrobiyatalarında ilk olarak *Proteobacteria* (%51) filumu görülmüş olup, daha sonra *Firmicutes* (%45) ve *Actinobacteria* (%4) filumları belirlenmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita (n:20) mikrobiyatalarında ise öncelikle *Proteobacteria* (%79) filumu görülmüş olup, daha sonra *Firmicutes* (%21) filumu saptanmıştır.

TAS alan bebeklerin 10. gün gaita (n:20) mikrobiyatalarında öncelikle *Veillonella* (%20) cinsi belirlenmiş olup, sonrasında *Acinetobacter* (%18), *Lactobacillus* (%17), *Streptococcus* (%16), *Bifidobacterium* (%12), *f__Lachnospiraceae(g__Clostridium)* (%11) ve *f__Clostridiaceae(g__Clostridium)* (%4) cinsleri saptanmıştır. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita (n:20) mikrobiyatalarında ise ilk olarak *Streptococcus* (%69) cinsi görülmüş olup, daha sonra *Veillonella* (%15), *Acinetobacter* (%5) ve *Lactobacillus* (%3), *Stenotrophomonas* (%3), *Bifidobacterium* (%1) ve *Enterococcus* (%1) cinsleri belirlenmiştir.

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) mikrobiyatalarında ilk sırada gelen filum *Proteobacteria* (%99) olup, bunu *Firmicutes* (%1) filumu takip etmiştir. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10. gün gaita (n:11) mikrobiyatalarında ilk sırada gelen filum *Firmicutes* (%58) olup, bunu *Proteobacteria* (%42) filumu takip etmiştir.

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) mikrobiyatalarında ilk sırada gelen cins *Klebsiella* (%60) olup, bunu sırasıyla *Methylobacterium* (%13), *Variovax* (%7), *Enterococcus* (%4), *Lactobacillus* (%2), *Sphingomonas* (%2), *Veillonella* (%1) ve *Acinetobacter* (%1) cinsleri takip etmiştir. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin 10. gün gaita (n:11) mikrobiyatalarında ilk sırada gelen cins *Streptococcus* (%17) olup, bunu sırasıyla *Veillonella* (%16), *Lactobacillus* (%15), *Klebsiella* (%15), *Enterococcus* (%14), *Acinetobacter* (%12) ve *Staphylococcus* (%11) cinsleri takip etmiştir.

TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum (n:4) mikrobiyatalarında öncelikle *Proteobacteria* (%99) filumu belirlenmiş olup, daha sonra *Firmicutes* (%0.6) filumu

saptanmıştır. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum (n:4) mikrobiyalarında ise ilk olarak *Proteobacteria* (%99) filumu görülmüş olup, sonrasında *Firmicutes* (%0.9) filumu görülmüştür.

TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum (n:4) mikrobiyalarında öncelikle *Variovorax* (%37) cinsi belirlenmiş olup, sonrasında *Sphingomonas* (%15) ve *Lactobacillus* (%13) cinsleri görülmüştür. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum (n:4) mikrobiyalarında ise öncelikle *Methylobacterium* (%72) cinsi saptanmış olup, sonrasında *Lactobacillus* (%8) ve *Variovorax* (%5) cinsleri belirlenmiştir.

TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında ilk olarak *Proteobacteria* (%60) filumu belirlenmiş olup, daha sonra *Firmicutes* (%40) ve *Actinobacteria* (%0.3) filumları saptanmıştır. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında ise öncelikle *Firmicutes* (%50) filumu görülmüş olup, daha sonra *Proteobacteria* (%42) ve *Actinobacteria* (%8) filumları saptanmıştır.

TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında öncelikle *Acinetobacter* (%31) cinsi belirlenmiş olup, sonrasında *Streptococcus* (%25), *Veillonella* (%20), *f__Lachnospiraceae(g__Clostridium)* (%20) ve *Lactobacillus* (%2) cinsleri belirlenmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında ise ilk olarak *Lactobacillus* (%37) cinsi görülmüş olup, sonrasında *Bifidobacterium* (%26), *Veillonella* (%21), *f__Clostridiaceae(g__Clostridium)* (%8), *Streptococcus* (%5) ve *Acinetobacter* (%1) cinsleri belirlenmiştir.

DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında öncelikle *Proteobacteria* (%83) filumu belirlenmiş olup, sonrasında *Firmicutes* (%17) filumu saptanmıştır. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında ise ilk olarak *Proteobacteria* (%76) filumu görülmüş olup, daha sonra *Firmicutes* (%24) filumu belirlenmiştir.

DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında öncelikle *Streptococcus* (%64) cinsi saptanmış olup, sonrasında *Lactobacillus* (%11) ve *Acinetobacter* (%8) cinsleri görülmüştür. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita (n:10) mikrobiyalarında ise ilk olarak *Streptococcus* (%70) cinsi belirlenmiş olup, daha sonra *Veillonella* (%18) ve *Acinetobacter* (%4) cinsleri saptanmıştır.

6.2. Öneriler

Prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütüyle beslenmenin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan araştırmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda şu önerilerde bulunulabilir.

- Çalışmamızda bebeklerin TAS ve DAS grubundaki tüm bebeklerin mekonyum mikrobiyotalarının benzer olduğu mikrobiyatayı beslenme biçiminin şekillendirdiği görüldüğünden, TAS alan bebeklerde faydalı bakterin, DAS alan bebeklerde ise patojen bakterilerin daha yoğunlukta bulunduğu belirlendiğinden anne sütünün taze olarak kullanımı hasta ya da sağlıklı tüm bebeklerde yaygınlaştırılmalıdır. Buna yönelik eğitimler düzenlenerek hem anneler hem de sağlık çalışanları bilgilendirilmelidir.
- Yenidoğan yoğun bakımlarda taze anne sütü getiriliyorsa besleme önceliği bu sütte kullanılmasıdır.
- Taze anne sütü sağlamak mümkün görünmüyorsa dondurulmuş anne sütü o zaman kullanılmalıdır. Anne sütünün bebeğe hiç sağlanamadığı durumlarda bebek formülü en son tercih olarak kullanılmalıdır.
- Taze anne sütünü dondurmadan daha fazla muhafaza edilebilecek yeni yöntemlere yönelik çalışmalar yürütülmelidir.
- Annelerin bebeklerine taze anne sütü temin etmeleri konusunda kamusal sorumluluk projeleri gerçekleştirilmelidir.
- Taze anne sütü temini için annenin bebeğine daha yakın konumda olabileceği anne otelleri ya da anne odaları arttırılmalıdır.
- Çalışmamızda 10 gün taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsak mikrobiyotaları değerlendirildiği için daha uzun süre beslenen bebekler için genellenemez. Bu yüzden uzun süre beslenen bebekler için geniş örneklemli çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Çalışmamızda tüm bebekler aynı tür antibiyotiği aldığı için bulgular hiç antibiyotik almayan çocukları kapsamamaktadır bu yüzden antibiyotik almayan term ya da prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütü ile beslenmenin bağırsak mikrobiyotalarına etkileri değerlendirilmelidir.
- Taze ya da dondurulmuş anne sütü ve bebek gaita mikrobiyotası üzerine etkilerini belirleyen daha geniş ölçekli çalışmaların yapılması önerilmektedir.

- Bebeklik döneminde cinsiyetin bağırsak mikrobiyatasını nasıl şekillendirdiğine dair daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.
- Bu çalışma ile yenidoğanın en önemli besin kaynağı olan anne sütünün kalitesini arttırarak yenidoğanın anne sütünden en fazla düzeyde yararlanması ve sağlıklı nesillerin yetiştirilmesi hedeflenmelidir.





KAYNAKLAR

- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721-5732.
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & Gupta, R. S. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5575-5599.
- Adlerberth, I., & Wold, A. (2009). Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatrica*, 98(2), 229-238.
- Afsar, F. (2009). Skin care for preterm and term neonates. *Clinical and Experimental Dermatology: Clinical Dermatology*, 34(8), 855-858.
- Akagawa, S., Tsuji, S., Onuma, C., Akagawa, Y., Yamaguchi, T., Yamagishi, M., Yamanouchi, S., Kimata, T., Sekiya, S.-i., & Ohashi, A. (2019). Effect of delivery mode and nutrition on gut microbiota in neonates. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 74(2), 132-139.
- Aksu, T., Atalay, Y., Turkyilmaz, C., Gulbahar, O., Hirfanoglu, I. M., Demirel, N., Onal, E., Ergenekon, E., & Koc, E. (2015). The effects of breast milk storage and freezing procedure on interleukine-10 levels and total antioxidant activity. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 28(15), 1799-1802.
- Antony, K. M., Ma, J., & Aagaard, K. M. (2014). The microbiome and development: a mother's perspective. *Seminars in Reproductive Medicine*, 32, 14-22.
- Arbolea, S., Binetti, A., Salazar, N., Fernández, N., Solís, G., Hernandez-Barranco, A., Margolles, A., de los Reyes-Gavilan, C. G., & Gueimonde, M. (2012). Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, 79(3), 763-772.
- Ardissone, A. N., Diomel, M., Davis-Richardson, A. G., Rechcigl, K. T., Li, N., Drew, J. C., Murgas-Torrazza, R., Sharma, R., Hudak, M. L., Triplett, E. W., & Neu, J. (2014). Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PloS One*, 9(3), e90784.
- Arrieta, M.-C., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. M., & Finlay, B. (2014). The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Frontiers in Immunology*, 5, 427.
- Asnicar, F., Manara, S., Zolfo, M., Truong, D. T., Scholz, M., Armanini, F., Ferretti, P., Gorfer, V., Pedrotti, A., & Tett, A. (2017). Studying vertical microbiome transmission from mothers to infants by strain-level metagenomic profiling. *MSystems*, 2(1), e00164-00116.

- Avershina, E., Storrø, O., Øien, T., Johnsen, R., Pope, P., & Rudi, K. (2014). Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, 87(1), 280-290.
- Azad, M. B., Konya, T., Maughan, H., Guttman, D. S., Field, C. J., Chari, R. S., Sears, M. R., Becker, A. B., Scott, J. A., & Kozyskyj, A. L. (2013). Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *Canadian Medical Association Journal*, 185(5), 385-394.
- Azad, M. B., Konya, T., Persaud, R. R., Guttman, D. S., Chari, R. S., Field, C. J., Sears, M. R., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., Subbarao, P., Becker, A. B., Scott, J. A., & Kozyskyj, A. L. (2016). Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 123(6), 983-993.
- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., Li, Y., Xia, Y., Xie, H., & Zhong, H. (2015). Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*, 17(5), 690-703.
- Bagci, S., Brosens, E., Tibboel, D., De Klein, A., Ijsselstijn, H., Wijers, C. H., Roeleveld, N., de Blaauw, I., Broens, P. M., & van Rooij, I. A. (2016). More than fetal urine: enteral uptake of amniotic fluid as a major predictor for fetal growth during late gestation. *European Journal of Pediatrics*, 175(6), 825-831.
- Baquero, F., & Nombela, C. (2012). The microbiome as a human organ. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 2-4.
- Baselga, A. (2010). Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 134-143.
- Beghetti, I., Biagi, E., Martini, S., Brigidi, P., Corvaglia, L., & Aceti, A. (2019). Human Milk's Hidden Gift: Implications of the Milk Microbiome for Preterm Infants' Health. *Nutrients*, 11(12), 2944.
- Bezirtzoglou, E., Tsiotsias, A., & Welling, G. W. (2011). Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*, 17(6), 478-482.
- Bilgen, H., Kültürsay, N., & Türkyılmaz, C. (2018). Türk Neonatoloji Derneği sağlıklı term bebeğin beslenmesi rehberi. *Türk Pediatri Arşivi*, 53(1), 128-137.
- Bokulich, N. A., Chung, J., Battaglia, T., Henderson, N., Jay, M., Li, H., Lieber, A. D., Wu, F., Perez-Perez, G. I., & Chen, Y. (2016). Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science Translational Medicine*, 8(343), 343ra382-343ra382.
- Bokulich, N. A., Mills, D. A., & Underwood, M. A. (2013a). Surface microbes in the neonatal intensive care unit: changes with routine cleaning and over time. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(8), 2617-2624.

- Bokulich, N. A., Subramanian, S., Faith, J. J., Gevers, D., Gordon, J. I., Knight, R., Mills, D. A., & Caporaso, J. G. (2013b). Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 10(1), 57-59.
- Boquien, C. Y. (2018). Human milk: An ideal food for nutrition of preterm newborn. *Frontiers in Pediatrics*, 6, 295.
- Boran, P. (2020). Emzirme sorunlarına kanıta dayalı yaklaşım. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 35-40.
- Borewicz, K., Suarez-Diez, M., Hechler, C., Beijers, R., de Weerth, C., Arts, I., Penders, J., Thijs, C., Nauta, A., & Lindner, C. (2019). The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life. *Scientific Reports*, 9(1), 1-13.
- Brahm, P., & Valdes, V. (2017). [The benefits of breastfeeding and associated risks of replacement with baby formulas]. *Revista Chilena de Pediatría*, 88(1), 7-14. (Beneficios de la lactancia materna y riesgos de no amamantar.)
- Brandon, D., Hill, C. M., Heimall, L., Lund, C. H., Kuller, J., McEwan, T., & New, K. (2018). *Neonatal Skin Care: Evidence-Based Clinical Practice Guideline*. Association of Women's Health, Obstetric and Neonatal Nurses. 4th edition, page:147.
- Brooks, B., Firek, B. A., Miller, C. S., Sharon, I., Thomas, B. C., Baker, R., Morowitz, M. J., & Banfield, J. F. (2014). Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. *Microbiome*, 2(1), 1.
- Bunyavanich, S., Shen, N., Grishin, A., Wood, R., Burks, W., Dawson, P., Jones, S. M., Leung, D. Y., Sampson, H., & Sicherer, S. (2016). Early-life gut microbiome composition and milk allergy resolution. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(4), 1122-1130.
- Buss, I., McGill, F., Darlow, B., & Winterbourn, C. (2001). Vitamin C is reduced in human milk after storage. *Acta Paediatrica*, 90(7), 813-815.
- Cabrera-Rubio, R., Collado, M. C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., & Mira, A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(3), 544-551.
- Cai, C., Zhang, Z., Morales, M., Wang, Y., Khafipour, E., & Friel, J. (2019). Feeding practice influences gut microbiome composition in very low birth weight preterm infants and the association with oxidative stress: A prospective cohort study. *Free Radical Biology and Medicine*, 142, 146-154.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S. M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., Gormley, N., Gilbert, J. A., Smith, G., & Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The International Symposium on Microbial Ecology Journal*, 6(8), 1621-1624.

- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N., & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (Supplement 1), 4516-4522.
- Carr, L. E., Elolimy, A., Rosa, F., Virmani, M. D., Munblit, D., & Yeruva, L. (2021). Role of Human Milk Bioactives on Infants' Gut and Immune Health. *Frontiers in Immunology*, 12, 290.
- Chang, Y. C., Chen, C. H., & Lin, M. C. (2012). The macronutrients in human milk change after storage in various containers. *Pediatrics & Neonatology*, 53(3), 205-209.
- Chernikova, D. A., Madan, J. C., Housman, M. L., Lundgren, S. N., Morrison, H. G., Sogin, M. L., Williams, S. M., Moore, J. H., Karagas, M. R., & Hoen, A. G. (2018a). The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. *Pediatric Research*, 84(1), 71-79.
- Chong, C. Y. L., Bloomfield, F. H., & O'Sullivan, J. M. (2018). Factors affecting gastrointestinal microbiome development in neonates. *Nutrients*, 10(3), 274.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270.
- Collado, M. C., Cernada, M., Neu, J., Pérez-Martínez, G., Gormaz, M., & Vento, M. (2015). Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. *Pediatric Research*, 77(6), 726-731.
- Collado, M. C., Rautava, S., Aakko, J., Isolauri, E., & Salminen, S. (2016). Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports*, 6, 23129.
- Cong, X., Judge, M., Xu, W., Diallo, A., Janton, S., Brownell, E. A., Maas, K., & Graf, J. (2017). Influence of feeding type on gut microbiome development in hospitalized preterm infants. *Nursing Research*, 66(2), 123-133.
- Cong, X., Xu, W., Janton, S., Henderson, W. A., Matson, A., McGrath, J. M., Maas, K., & Graf, J. (2016). Gut Microbiome Developmental Patterns in Early Life of Preterm Infants: Impacts of Feeding and Gender. *PLoS One*, 11(4), e0152751.
- Consortium, H. M. P. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207-214.
- Contreras, G. A., & Rodríguez, J. M. (2011). Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16(4), 339-356.
- Corbett, C. S., De Buck, J., & Barkema, H. W. (2018). Effects of freezing on ability to detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from bovine tissues following culture. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30(5), 743-746.
- Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2015). More than a gut feeling: the microbiota regulates neurodevelopment and behavior. *Neuropsychopharmacology*, 40(1), 241.

- Cusack, L., & Brennan, M. (2011). Lactational mastitis and breast abscess: diagnosis and management in general practice. *Australian Family Physician*, 40(12), 976.
- D'Argenio, V. (2018). The prenatal microbiome: a new player for human health. *High-throughput*, 7(4), 38.
- Damaceno, Q. S., Souza, J. P., Nicoli, J. R., Paula, R. L., Assis, G. B., Figueiredo, H. C., Azevedo, V., & Martins, F. S. (2017). Evaluation of potential probiotics isolated from human milk and colostrum. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(4), 371-379.
- De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. (2020). Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of beta-Lactam resistance in Enterobacteriaceae. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14).
- de Goffau, M. C., Bergman, K. A., de Vries, H. J., Meessen, N. E., Degener, J. E., van Dijk, J. M., & Harmsen, H. J. (2011). Cold spots in neonatal incubators are hot spots for microbial contamination. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(24), 8568-8572.
- Demmelmaier, H., Jiménez, E., Collado, M. C., Salminen, S., & McGuire, M. K. (2020). Maternal and perinatal factors associated with the human milk microbiome. *Current Developments in Nutrition*, 4(4), nzaa027.
- Dominguez-Bello, M. G., Blaser, M. J., Ley, R. E., & Knight, R. (2011). Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing. *Gastroenterology*, 140(6), 1713-1719.
- Dominguez-Bello, M. G., De Jesus-Laboy, K. M., Shen, N., Cox, L. M., Amir, A., Gonzalez, A., Bokulich, N. A., Song, S. J., Hoashi, M., & Rivera-Vinas, J. I. (2016). Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nature Medicine*, 22(3), 250.
- Dong, T., Chen, T., White III, R. A., Wang, X., Hu, W., Liang, Y., Zhang, y., Lu, c., Chen, M., Aase, H., & Xia, Y. (2018). Meconium microbiome associates with the development of neonatal jaundice. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 9(9).
- Dornelles, L. V., Procianoy, R. S., Roesch, L. F., Corso, A. L., Dobbler, P. T., Mai, V., & Silveira, R. C. (2020). Meconium microbiota predicts clinical early-onset neonatal sepsis in preterm neonates. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 1-9.
- Drago, L., Panelli, S., Bandi, C., Zuccotti, G., Perini, M., & D'Auria, E. (2019). What Pediatricians Should Know Before Studying Gut Microbiota. *Journal of Clinical Medicine*, 8(8).
- Dunn, A. B., Jordan, S., Baker, B. J., & Carlson, N. S. (2017). The maternal infant microbiome: considerations for labor and birth. *MCN. The American Journal of Maternal Child Nursing*, 42(6), 318.
- Dunne, J., Triplett, E., Gevers, D., Xavier, R., Insel, R., Danska, J., & Atkinson, M. (2014). The intestinal microbiome in type 1 diabetes. *Clinical & Experimental Immunology*, 177(1), 30-37.

- Eglash, A., Simon, L., & Medicine, A. o. B. (2017). ABM clinical protocol# 8: human milk storage information for home use for full-term infants, Revised 2017. *Breastfeeding Medicine*, 12(7), 390-395.
- El-Metwally, D. E., & Medina, A. E. (2020). The potential effects of NICU environment and multisensory stimulation in prematurity. *Pediatric Research*, 88(2), 161-162.
- Erny, D., de Angelis, A. L. H., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., Keren-Shaul, H., Muhlaker, T., Jakobshagen, K., & Buch, T. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*, 18(7), 965-977.
- Evans, J. M., Morris, L. S., & Marchesi, J. R. (2013). The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host. *The Journal of Endocrinology*, 218(3), R37-47.
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., & Rodríguez, J. M. (2013). The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 1-10.
- Ferretti, P., Pasolli, E., Tett, A., Asnicar, F., Gorfer, V., Fedi, S., Armanini, F., Truong, D. T., Manara, S., & Zolfo, M. (2018). Mother-to-infant microbial transmission from different body sites shapes the developing infant gut microbiome. *Cell Host Microbe*, 24(1), 133-145. e135.
- Finegold, S. M., Dowd, S. E., Gontcharova, V., Liu, C., Henley, K. E., Wolcott, R. D., Youn, E., Summanen, P. H., Granpeesheh, D., & Dixon, D. (2010). Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*, 16(4), 444-453.
- Fitzstevens, J. L., Smith, K. C., Hagadorn, J. I., Caimano, M. J., Matson, A. P., & Brownell, E. A. (2017). Systematic review of the human milk microbiota. *Nutrition in Clinical Practice*, 32(3), 354-364.
- Fonseca, F., Marin, M., & Morris, G. (2006). Stabilization of frozen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in glycerol suspensions: freezing kinetics and storage temperature effects. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(10), 6474-6482.
- Forno, E., Onderdonk, A. B., McCracken, J., Litonjua, A. A., Laskey, D., Delaney, M. L., DuBois, A. M., Gold, D. R., Ryan, L. M., & Weiss, S. T. (2008). Diversity of the gut microbiota and eczema in early life. *Clinical and Molecular Allergy*, 6(1), 11.
- Fouhy, F., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Stanton, C., & Cotter, P. D. (2012). Composition of the early intestinal microbiota: knowledge, knowledge gaps and the use of high-throughput sequencing to address these gaps. *Gut Microbes*, 3(3), 203-220.
- Francino, M. P. (2015). Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1543.
- Francino, M. P. (2018). Birth mode-related differences in gut microbiota colonization and immune system development. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(3), 12-16.

- Fujimura, K. E., Sitarik, A. R., Havstad, S., Lin, D. L., Levan, S., Fadrosh, D., Panzer, A. R., LaMere, B., Rackaityte, E., & Lukacs, N. W. (2016). Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nature Medicine*, 22(10), 1187-1191.
- García-Lara, N. R., Escuder-Vieco, D., García-Algar, O., De la Cruz, J., Lora, D., & Pallás-Alonso, C. (2012). Effect of freezing time on macronutrients and energy content of breastmilk. *Breastfeeding Medicine*, 7(4), 295-301.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. (2005). Class I. Alphaproteobacteria class. nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer, page:1-574.
- Giannattasio, A., & Guarino, A. (2018). Caesarean-section and neonatal gut microbiome: short and long term effects and new targets for early prevention. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(3), 1-3.
- Gregory, K. E., Samuel, B. S., Houghteling, P., Shan, G., Ausubel, F. M., Sadreyev, R. I., & Walker, W. A. (2016). Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants. *Microbiome*, 4(1), 68.
- Groer, M. W., Luciano, A. A., Dishaw, L. J., Ashmeade, T. L., Miller, E., & Gilbert, J. A. J. M. (2014). Development of the preterm infant gut microbiome: a research priority. *Microbiome*, 2(1), 1-8.
- Guaraldi, F., & Salvatori, G. (2012). Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 94.
- Hanna, N., Ahmed, K., Anwar, M., Petrova, A., Hiatt, M., & Hegyi, T. (2004). Effect of storage on breast milk antioxidant activity. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 89(6), F518-F520.
- Haro, C., Rangel-Zúñiga, O. A., Alcalá-Díaz, J. F., Gómez-Delgado, F., Pérez-Martínez, P., Delgado-Lista, J., Quintana-Navarro, G. M., Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., & Tena-Sempere, M. J. P. o. (2016). Intestinal microbiota is influenced by gender and body mass index. *PloS One*, 11(5), e0154090.
- Hartz, L. E., Bradshaw, W., & Brandon, D. H. (2015). Potential NICU environmental influences on the neonate's microbiome: a systematic review. *Advances in neonatal care: official journal of the National Association of Neonatal Nurses*, 15(5), 324-335.
- He, Q., Kwok, L.-Y., Xi, X., Zhong, Z., Ma, T., Xu, H., Meng, H., Zhao, F., & Zhang, H. J. G. m. (2020). The meconium microbiota shares more features with the amniotic fluid microbiota than the maternal fecal and vaginal microbiota. *Gut Microbes*, 12(1), 1794266.
- Hewitt, K. M., Mannino, F. L., Gonzalez, A., Chase, J. H., Caporaso, J. G., Knight, R., & Kelley, S. T. (2013). Bacterial diversity in two neonatal intensive care units (NICUs). *PLoS One*, 8(1), e54703.
- Hill, C. J., Lynch, D. B., Murphy, K., Ulaszewska, M., Jeffery, I. B., O'Shea, C. A., Watkins, C., Dempsey, E., Mattivi, F., Tuohy, K., Ross, R. P., Ryan, C. A., PW, O. T., &

- Stanton, C. (2017). Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome*, 5(1), 4.
- Hillman, E. T., Lu, H., Yao, T., & Nakatsu, C. H. (2017). Microbial ecology along the gastrointestinal tract. *Microbes and Environments*, 32(4), 300-313.
- Hong, P.-Y., Lee, B. W., Aw, M., Shek, L. P. C., Yap, G. C., Chua, K. Y., & Liu, W.-T. (2010). Comparative analysis of fecal microbiota in infants with and without eczema. *PLoS One*, 5(4), e9964.
- Hua, X., Goedert, J. J., Pu, A., Yu, G., & Shi, J. (2016). Allergy associations with the adult fecal microbiota: analysis of the American Gut Project. *EBioMedicine*, 3, 172-179.
- Hung, H. Y., Hsu, Y. Y., Su, P. F., & Chang, Y. J. (2018). Variations in the rancid-flavor compounds of human breastmilk under general frozen-storage conditions. *BMC Pediatrics*, 18(1), 94.
- Hung, H.-Y., Hsu, Y.-Y., & Chang, Y.-J. (2013). Comparison of Physiological and Behavioral Responses to Fresh and Thawed Breastmilk in Premature Infants—A Preliminary Study. *Breastfeeding Medicine*, 8(1), 92-98.
- Internet: United Nations International Children's Emergency Fund. (2018). *Every Child Alive*. URL: https://www.unicef.org/supply/files/180207_Every_Child_Alive_report.pdf, Son Erişim Tarihi: 01.01.2021.
- Internet: World Health Organization. (2018). Preterm birth. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>, Son Erişim Tarihi: 19.07.2021.
- Internet: World Health Organization. (2018). *UN IGME Child Mortality Report 2018*. URL: [file:///C:/Users/SAMSUNG/Downloads/UN%20IGME%20Child%20Mortality%20Report%202018%20\(6\).pdf](file:///C:/Users/SAMSUNG/Downloads/UN%20IGME%20Child%20Mortality%20Report%202018%20(6).pdf), Son Erişim Tarihi: 01.01.2021.
- Jacquot, A., Neveu, D., Aujoulat, F., Mercier, G., Marchandin, H., Jumas-Bilak, E., & Picaud, J.-C. (2011). Dynamics and clinical evolution of bacterial gut microflora in extremely premature patients. *The Journal of Pediatrics*, 158(3), 390-396.
- Jiménez, E., Marín, M. L., Martín, R., Odriozola, J. M., Olivares, M., Xaus, J., Fernández, L., & Rodríguez, J. M. (2008). Is meconium from healthy newborns actually sterile?. *Research in Microbiology*, 159(3), 187-193.
- Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C. P., & Chassard, C. (2012). New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates. *PLoS One*, 7(8), e44595.
- Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., & Chassard, C. (2013). Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches. *British Journal of Nutrition*, 110(7), 1253-1262.
- Kalliomäki, M., Carmen Collado, M., Salminen, S., & Isolauri, E. (2008). Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(3), 534-538.

- Khodayar-Pardo, P., Mira-Pascual, L., Collado, M., & Martínez-Costa, C. (2014). Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *Journal of Perinatology*, 34(8), 599-605.
- Kim, H., Sitarik, A. R., Woodcroft, K., Johnson, C. C., & Zoratti, E. (2019). Birth mode, breastfeeding, pet exposure, and antibiotic use: associations with the gut microbiome and sensitization in children. *Current Allergy and Asthma Reports*, 19(4), 22.
- Kim, Y. S., Unno, T., Kim, B. Y., & Park, M. S. (2020). Sex differences in gut microbiota. *The World Journal of Men's Health*, 38(1), 48.
- Koleva, P. T., Bridgman, S. L., & Kozyrskyj, A. L. (2015a). The infant gut microbiome: evidence for obesity risk and dietary intervention. *Nutrients*, 7(4), 2237-2260.
- Koleva, P. T., Kim, J. S., Scott, J. A., & Kozyrskyj, A. L. (2015b). Microbial programming of health and disease starts during fetal life. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 105(4), 265-277.
- Kordy, K., Gaufin, T., Mwangi, M., Li, F., Cerini, C., Lee, D. J., Adisetiyo, H., Woodward, C., Pannaraj, P. S., & Tobin, N. H. (2020). Contributions to human breast milk microbiome and enteromammary transfer of *Bifidobacterium breve*. *PLoS One*, 15(1), e0219633.
- Korpela, K., Blakstad, E. W., Moltu, S. J., Strømmen, K., Nakstad, B., Rønnestad, A. E., Brække, K., Iversen, P. O., Drevon, C. A., & de Vos, W. (2018). Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Scientific Reports*, 8(1), 1-9.
- Korpela, K., Salonen, A., Virta, L. J., Kumpu, M., Kekkonen, R. A., & de Vos, W. M. (2016). *Lactobacillus rhamnosus* GG Intake Modifies Preschool Children's Intestinal Microbiota, Alleviates Penicillin-Associated Changes, and Reduces Antibiotic Use. *PLoS One*, 11(4), e0154012.
- Kumar, R. K., Singhal, A., Vaidya, U., Banerjee, S., Anwar, F., & Rao, S. (2017). Optimizing nutrition in preterm low birth weight infants-consensus summary. *Frontiers in Nutrition*, 4, 20.
- Kumbhare, S. V., Patangia, D. V., Patil, R. H., Shouche, Y. S., & Patil, N. P. (2019). Factors influencing the gut microbiome in children: from infancy to childhood. *Journal of Biosciences*, 44(2), 49.
- Kwon, Y. W., Bae, J. H., Kim, S. A., & Han, N. S. (2018). Development of freeze-thaw tolerant *Lactobacillus rhamnosus* GG by adaptive laboratory evolution. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2781.
- La Rosa, P. S., Warner, B. B., Zhou, Y., Weinstock, G. M., Sodergren, E., Hall-Moore, C. M., Stevens, H. J., Bennett, W. E., Shaikh, N., & Linneman, L. A. (2014). Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(34), 12522-12527.
- LaTuga, M. S., Ellis, J. C., Cotton, C. M., Goldberg, R. N., Wynn, J. L., Jackson, R. B., & Seed, P. C. (2011). Beyond bacteria: a study of the enteric microbial consortium in extremely low birth weight infants. *PLoS One*, 6(12), e27858.

- Leach, S. T., Lui, K., Naing, Z., Dowd, S. E., Mitchell, H. M., & Day, A. S. (2015). Multiple opportunistic pathogens, but not pre-existing inflammation, may be associated with necrotizing enterocolitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 60(12), 3728-3734.
- Lee, M. J., Kang, M. J., Lee, S. Y., Lee, E., Kim, K., Won, S., Suh, D. I., Kim, K. W., Sheen, Y. H., Ahn, K., Kim, B. S., & Hong, S. J. (2018). Perturbations of gut microbiome genes in infants with atopic dermatitis according to feeding type. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(4), 1310-1319.
- Lee, S. A., Lim, J. Y., Kim, B.-S., Cho, S. J., Kim, N. Y., Kim, O. B., & Kim, Y. (2015). Comparison of the gut microbiota profile in breast-fed and formula-fed Korean infants using pyrosequencing. *Nutrition Research and Practice*, 9(3), 242-248.
- Lewis, Z. T., & Mills, D. A. (2017). Differential Establishment of Bifidobacteria in the Breastfed Infant Gut. *Intestinal Microbiome: Functional Aspects in Health and Disease*, 88, 149-159.
- Li, H., Zhang, Y., Xiao, B., Xiao, S., Wu, J., & Huang, W. (2020). Impacts of delivery mode on very low birth weight infants' oral microbiome. *Pediatrics & Neonatology*, 61(2), 201-209.
- Li, M., Bai, Y., Zhou, J., Huang, W., Yan, J., Tao, J., Fan, Q., Liu, Y., Mei, D., Yan, Q., Yuan, J., Malard, P., Wang, Z., Gu, J., Taniguchi, N., & Li, W. (2019). Core fucosylation of maternal milk N-Glycan evokes B cell activation by selectively promoting the l-Fucose metabolism of gut Bifidobacterium spp. and Lactobacillus spp. *mBio*, 10(2).
- Liu, Z., Roy, N. C., Guo, Y., Jia, H., Ryan, L., Samuelsson, L., Thomas, A., Plowman, J., Clerens, S., Day, L., & Young, W. (2016). Human breast milk and infant formulas differentially modify the intestinal microbiota in human infants and host physiology in rats. *The Journal of Nutrition*, 146(2), 191-199.
- Llewellyn, S. R., Britton, G. J., Contijoch, E. J., Vennaro, O. H., Mortha, A., Colombel, J.-F., Grinspan, A., Clemente, J. C., Merad, M., & Faith, J. J. (2018). Interactions between diet and the intestinal microbiota alter intestinal permeability and colitis severity in mice. *Gastroenterology*, 154(4), 1037-1046. e1032.
- Lu, Q., Lin, Y., Chen, T., Lv, H., Diao, F., Liu, C., Peng, M., Ling, X., Li, H., & Wang, Y. J. G. m. (2020). Alternations of gut microbiota composition in neonates conceived by assisted reproductive technology and its relation to infant growth. *Gut Microbes*, 12(1), 1794466.
- Lundgren, S. N., Madan, J. C., Emond, J. A., Morrison, H. G., Christensen, B. C., Karagas, M. R., & Hoen, A. G. (2018). Maternal diet during pregnancy is related with the infant stool microbiome in a delivery mode-dependent manner. *Microbiome*, 6(1), 109.
- Ma, J., Li, Z., Zhang, W., Zhang, C., Zhang, Y., Mei, H., Zhuo, N., Wang, H., Wang, L., & Wu, D. J. S. R. (2020). Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: A study of 91 term infants. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11.

- Macpherson, A. J., de Agüero, M. G., & Ganai-Vonarburg, S. C. (2017). How nutrition and the maternal microbiota shape the neonatal immune system. *Nature Reviews Immunology*, 17(8), 508.
- Madan, J. C., Salari, R. C., Saxena, D., Davidson, L., O'Toole, G. A., Moore, J. H., Sogin, M. L., Foster, J. A., Edwards, W. H., Palumbo, P., & Hibberd, P. L. (2012). Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 97(6), F456-F462.
- Mahana, D., Trent, C. M., Kurtz, Z. D., Bokulich, N. A., Battaglia, T., Chung, J., Müller, C. L., Li, H., Bonneau, R. A., & Blaser, M. J. (2016). Antibiotic perturbation of the murine gut microbiome enhances the adiposity, insulin resistance, and liver disease associated with high-fat diet. *Genome Medicine*, 8(1), 48.
- Maldonado-Lobón, J. A., Díaz-López, M. A., Carputo, R., Duarte, P., Díaz-Ropero, M. P., Valero, A. D., Sanudo, A., Sempere, L., Ruiz-López, M. D., & Banuelos, O. (2015). *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 reduces *Staphylococcus* load in the breastmilk of lactating mothers suffering breast pain: A randomized controlled trial. *Breastfeeding Medicine*, 10(9), 425-432.
- Marín, M. L., Arroyo, R., Jiménez, E., Gómez, A., Fernández, L., & Rodríguez, J. M. (2009). Cold storage of human milk: effect on its bacterial composition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(3), 343-348.
- Markle, J. G., Frank, D. N., Adeli, K., Von Bergen, M., & Danska, J. S. (2014). Microbiome manipulation modifies sex-specific risk for autoimmunity. *Gut Microbes*, 5(4), 485-493.
- Markle, J. G., Frank, D. N., Mortin-Toth, S., Robertson, C. E., Feazel, L. M., Rolfe-Kampczyk, U., Von Bergen, M., McCoy, K. D., Macpherson, A. J., & Danska, J. S. J. S. (2013). Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science*, 339(6123), 1084-1088.
- Markopoulos, P. P., Kundu, S., Chamadia, S., & Pados, D. A. (2017). Efficient L1-norm principal-component analysis via bit flipping. *IEEE Transactions on Signal Processing*, 65(16), 4252-4264.
- Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M. L., Xaus, J., Fernández, L., & Rodríguez, J. M. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *The Journal of Pediatrics*, 143(6), 754-758.
- Martin, R., Makino, H., Cetinyurek Yavuz, A., Ben-Amor, K., Roelofs, M., Ishikawa, E., Kubota, H., Swinkels, S., Sakai, T., Oishi, K., Kushiro, A., & Knol, J. (2016). Early-life events, including mode of delivery and type of feeding, siblings and gender, shape the developing gut microbiota. *PLoS One*, 11(6), e0158498.
- Martínez-Costa, C., Silvestre, M. D., López, M. C., Plaza, A., Miranda, M., & Guijarro, R. (2007). Effects of refrigeration on the bactericidal activity of human milk: a preliminary study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 45(2), 275-277.

- Maukonen, J., & Saarela, M. (2015). Human gut microbiota: does diet matter? *Proceedings of the Nutrition Society*, 74(1), 23-36.
- McElroy, K. G., Chung, S.-Y., & Regan, M. (2017). CE: Health and the Human Microbiome A Primer for Nurses. *AJN The American Journal of Nursing*, 117(7), 24-30.
- McInnes, P., & Cutting, M. (2010). Manual of procedures for human microbiome project: Core microbiome sampling protocol A, *Human Microbiome Project*, Protocol 07-001, version 12.0.
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Arbolea Montes, S., Mancabelli, L., Lugli, G. A., Rodriguez, J. M., Bode, L., de Vos, W., Gueimonde, M., Margolles, A., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4).
- Mohammadkhah, A. I., Simpson, E. B., Patterson, S. G., & Ferguson, J. F. (2018). Development of the gut microbiome in children, and lifetime implications for obesity and cardiometabolic disease. *Children*, 5(12), 160.
- Moles, L., Gomez, M., Heilig, H., Bustos, G., Fuentes, S., de Vos, W., Fernández, L., Rodríguez, J. M., & Jiménez, E. (2013). Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PLoS One*, 8(6), e66986.
- Moore, R. E., & Townsend, S. D. (2019). Temporal development of the infant gut microbiome. *Open Biology*, 9(9), 190128.
- Mor, G., Aldo, P., & Alvero, A. B. (2017). The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nature Reviews Immunology*, 17(8), 469.
- Mshvildadze, M., Neu, J., Shuster, J., Theriaque, D., Li, N., & Mai, V. (2010). Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *The Journal of Pediatrics*, 156(1), 20-25.
- Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J., Grigoryan, Z., & Dominguez-Bello, M. G. (2015). The infant microbiome development: mom matters. *Trends in Molecular Medicine*, 21(2), 109-117.
- Murphy, K., Curley, D., O'Callaghan, T. F., O'Shea, C.-A., Dempsey, E. M., O'Toole, P. W., Ross, R. P., Ryan, C. A., & Stanton, C. (2017). The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: a pilot study. *Scientific Reports*, 7(1), 1-10.
- Mutic, A. D., Jordan, S., Edwards, S. M., Ferranti, E. P., Thul, T. A., & Yang, I. (2017). The postpartum maternal and newborn microbiomes. *MCN. The American Journal of Maternal Child Nursing*, 42(6), 326.
- Neu, J. (2016, December). The microbiome during pregnancy and early postnatal life. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. WB Saunders, Vol. 21, No. 6, page: 373-379.

- Neu, J. (2017). Dysbiosis in the neonatal period: role of cesarean section. In *Intestinal Microbiome: Functional Aspects in Health and Disease*. Karger Publishers, Vol. 88, page: 57-66.
- Neuman, H., Forsythe, P., Uzan, A., Avni, O., & Koren, O. (2018). Antibiotics in early life: dysbiosis and the damage done. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 42(4), 489-499.
- Niemarkt, H. J., De Meij, T. G., van Ganzewinkel, C. J., de Boer, N. K. H., Andriessen, P., Hutten, M. C., & Kramer, B. W. (2019). Necrotizing Enterocolitis, Gut Microbiota, and Brain Development: Role of the Brain-Gut Axis. *Neonatology*, 115(4), 423-431.
- Nuriel-Ohayon, M., Neuman, H., & Koren, O. (2016). Microbial changes during pregnancy, birth, and infancy. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1031.
- Ogundele, M. O. (2000). Techniques for the storage of human breast milk: implications for anti-microbial functions and safety of stored milk. *European Journal of Pediatrics*, 159(11), 793-797.
- Osadchiy, V., Martin, C. R., & Mayer, E. A. (2019). The gut-brain axis and the microbiome: mechanisms and clinical implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(2), 322-332.
- Padilha, M., Danneskiold-Samsøe, N. B., Brejnrod, A., Hoffmann, C., Cabral, V. P., Iaucci, J. d. M., Sales, C. H., Fisberg, R. M., Cortez, R. V., & Brix, S. (2019). The human milk microbiota is modulated by maternal diet. *Microorganisms*, 7(11), 502.
- Palmquist, A. E. L., Holdren, S. M., & Fair, C. D. (2020). "It was all taken away": Lactation, embodiment, and resistance among mothers caring for their very-low-birth-weight infants in the neonatal intensive care unit. *Social Science & Medicine*, 244, 112648.
- Pannaraj, P. S., Li, F., Cerini, C., Bender, J. M., Yang, S., Rollie, A., Adisetiyo, H., Zabih, S., Lincez, P. J., Bittinger, K., Bailey, A., Bushman, F. D., Sleasman, J. W., & Aldrovandi, G. M. (2017). Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *The Journal of the American Medical Association Pediatrics*, 171(7), 647-654.
- Pardou, A., Serruys, E., Mascart-Lemone, F., Dramaix, M., & Vis, H. L. (1994). Human milk banking: influence of storage processes and of bacterial contamination on some milk constituents. *Neonatology*, 65(5), 302-309.
- Parra-Llorca, A., Gormaz, M., Alcántara, C., Cernada, M., Nuñez-Ramiro, A., Vento, M., & Collado, M. C. J. F. i. m. (2018). Preterm gut microbiome depending on feeding type: significance of donor human milk. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1376.
- Patel, K., Konduru, K., Patra, A. K., Chandel, D. S., & Panigrahi, P. (2015). Trends and determinants of gastric bacterial colonization of preterm neonates in a NICU setting. *PLoS One*, 10(7), e0114664.
- Perez-Munoz, M. E., Arrieta, M. C., Ramer-Tait, A. E., & Walter, J. (2017). A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5(1), 48.

- Polin, R. A., Denson, S., & Brady, M. T. (2012). Strategies for prevention of health care-associated infections in the NICU. *Pediatrics*, 129(4), e1085-e1093.
- Proctor, C., Thiennimitr, P., Chattipakorn, N., & Chattipakorn, S. C. (2017). Diet, gut microbiota and cognition. *Metabolic Brain Disease*, 32(1), 1-17.
- Pytko, M., Kordowska-Wiater, M., & Jarocki, P. (2019). Microbiome of the women's genital system. *Advancements Of Microbiology*, 58(3), 227-236.
- Rabe, H., Lundell, A.-C., Sjöberg, F., Ljung, A., Strömbeck, A., Gio-Batta, M., Maglio, C., Nordström, I., Andersson, K., & Nookaew, I. (2020). Neonatal gut colonization by *Bifidobacterium* is associated with higher childhood cytokine responses. *Gut Microbes*, 12(1), 1-14.
- Ramsay, D. T., Kent, J. C., Owens, R. A., & Hartmann, P. E. (2004). Ultrasound imaging of milk ejection in the breast of lactating women. *Pediatrics*, 113(2), 361-367.
- Raouf, N. A., Adamkin, D., Radmacher, P., & Telang, S. (2016). Comparison of lactoferrin activity in fresh and stored human milk. *Journal of Perinatology*, 36(3), 207-209.
- Reglinski, M., & Sriskandan, S. (2015). Chapter 38 - *Streptococcus pyogenes*. In Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Eds.), *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)*. Academic Press, page: 675-716.
- Richardson, J. B., Dancy, B. C., Horton, C. L., Lee, Y. S., Madejczyk, M. S., Xu, Z. Z., Ackermann, G., Humphrey, G., Palacios, G., & Knight, R. J. S. r. (2018). Exposure to toxic metals triggers unique responses from the rat gut microbiota. *Scientific Reports*, 8(1), 1-12.
- Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., Avershina, E., Rudi, K., Narbad, A., & Jenmalm, M. C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(1), 26050.
- Rodriguez, J., Jordan, S., Mutic, A., & Thul, T. (2017). The neonatal microbiome: implications for neonatal intensive care unit nurses. *MCN. The American Journal of Maternal Child Nursing*, 42(6), 332-337.
- Rollo, D., Radmacher, P., Turcu, R., Myers, S., & Adamkin, D. (2014). Stability of lactoferrin in stored human milk. *Journal of Perinatology*, 34(4), 284-286.
- Romero, R., Hassan, S. S., Gajer, P., Tarca, A. L., Fadrosh, D. W., Bieda, J., Chaemsathong, P., Miranda, J., Chaiworapongsa, T., & Ravel, J. J. M. (2014a). The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term. *Microbiome*, 2(1), 1-15.
- Romero, R., Hassan, S. S., Gajer, P., Tarca, A. L., Fadrosh, D. W., Nikita, L., Galuppi, M., Lamont, R. F., Chaemsathong, P., & Miranda, J. J. M. (2014b). The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome*, 2(1), 1-19.

- Romeu-Nadal, M., Castellote, A., & López-Sabater, M. (2008). Effect of cold storage on vitamins C and E and fatty acids in human milk. *Food Chemistry*, 106(1), 65-70.
- Rutayisire, E., Huang, K., Liu, Y., & Tao, F. (2016). The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: A systematic review. *BMC Gastroenterology*, 16(1), 86.
- Saavedra, J. M., & Dattilo, A. M. (2012). Early development of intestinal microbiota: implications for future health. *Gastroenterology Clinics*, 41(4), 717-731.
- Salminen, S., Endo, A., Isolauri, E., & Scalabrin, D. (2016). Early gut colonization with lactobacilli and staphylococcus in infants: the hygiene hypothesis extended. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 62(1), 80-86.
- Salminen, S., Gibson, G. R., McCartney, A. L., & Isolauri, E. (2004). Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut*, 53(9), 1388-1389.
- Sandgruber, S., Much, D., Amann-Gassner, U., Hauner, H., & Buettner, A. (2012). Sensory and molecular characterisation of the protective effect of storage at -80 °C on the odour profiles of human milk. *Food Chemistry*, 130(2), 236-242.
- Saulnier, D. M., Riehle, K., Mistretta, T. A., Diaz, M. A., Mandal, D., Raza, S., Weidler, E. M., Qin, X., Coarfa, C., & Milosavljevic, A. (2011). Gastrointestinal microbiome signatures of pediatric patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 141(5), 1782-1791.
- Scheepers, L., Penders, J., Mbakwa, C., Thijs, C., Mommers, M., & Arts, I. (2015). The intestinal microbiota composition and weight development in children: the KOALA Birth Cohort Study. *International Journal of Obesity*, 39(1), 16-25.
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biology*, 14(8), e1002533.
- Shao, W., Khin, S., & Kopp, W. C. (2012). Characterization of effect of repeated freeze and thaw cycles on stability of genomic DNA using pulsed field gel electrophoresis. *Biopreservation and Biobanking*, 10(1), 4-11.
- Sherman, M. P., Zaghouani, H., & Niklas, V. (2015). Gut microbiota, the immune system, and diet influence the neonatal gut-brain axis. *Pediatric Research*, 77(1-2), 127-135.
- Shiel, W. (2008). Webster's new world medical dictionary. *Wiley Publishing.*, New Jersey, 3th edition, page:450.
- Spatz, D. L., & Edwards, T. M. (2016). The use of human milk and breastfeeding in the neonatal intensive care unit: position statement 3065. *Advances in Neonatal Care*, 16(4), 254.
- Spitzer, J., Klos, K., & Buettner, A. (2013). Monitoring aroma changes during human milk storage at +4 °C by sensory and quantification experiments. *Clinical Nutrition*, 32(6), 1036-1042.

- Stewart, C. J., Embleton, N. D., Clements, E., Luna, P. N., Smith, D. P., Fofanova, T. Y., Nelson, A., Taylor, G., Orr, C. H., & Petrosino, J. F. (2017). Cesarean or vaginal birth does not impact the longitudinal development of the gut microbiome in a cohort of exclusively preterm infants. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1008.
- Stewart, C. J., Nelson, A., Scribbins, D., Marrs, E. C. L., Lanyon, C., Perry, J. D., Embleton, N. D., Cummings, S. P., & Berrington, J. E. (2013). Bacterial and fungal viability in the preterm gut: NEC and sepsis. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 98(4), F298-F303.
- Stiemsma, L. T., Reynolds, L. A., Turvey, S. E., & Finlay, B. B. (2015). The hygiene hypothesis: current perspectives and future therapies. *ImmunoTargets and Therapy*, 4, 143.
- Stinson, L. F., Boyce, M. C., Payne, M. S., & Keelan, J. A. (2019). The not-so-sterile womb: evidence that the human fetus is exposed to bacteria prior to birth. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1124.
- Stinson, L. F., Payne, M. S., & Keelan, J. A. (2017). Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(3), 352-369.
- Takci, S., Gulmez, D., Yigit, S., Dogan, O., Dik, K., & Hascelik, G. (2012). Effects of freezing on the bactericidal activity of human milk. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(2), 146-149.
- Tanaka, M., & Nakayama, J. (2017). Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergology International*, 66(4), 515-522.
- Tapiainen, T., Paalanen, N., Tejesvi, M. V., Koivusaari, P., Korpela, K., Pokka, T., Salo, J., Kaukola, T., Pirttilä, A.M., Uhari, M., & Renko, M. (2018). Maternal influence on the fetal microbiome in a population-based study of the first-pass meconium. *Pediatric Research*, 84(3), 371-379.
- Tauchi, H., Yahagi, K., Yamauchi, T., Hara, T., Yamaoka, R., Tsukuda, N., Watanabe, Y., Tajima, S., Ochi, F., Iwata, H., Ohta, M., Ishii, E., Matsumoto, S., & Matsuki, T. (2019). Gut microbiota development of preterm infants hospitalised in intensive care units. *Beneficial Microbes*, 10(6), 641-651.
- Thomson, P., Medina, D. A., & Garrido, D. (2018). Human milk oligosaccharides and infant gut bifidobacteria: Molecular strategies for their utilization. *Food Microbiology*, 75, 37-46.
- Thorburn, A. N., McKenzie, C. I., Shen, S., Stanley, D., Macia, L., Mason, L. J., Roberts, L. K., Wong, C. H., Shim, R., & Robert, R. (2015). Evidence that asthma is a developmental origin disease influenced by maternal diet and bacterial metabolites. *Nature Communications*, 6(1), 1-13.
- Tomova, A., Husarova, V., Lakatosova, S., Bakos, J., Vlkova, B., Babinska, K., & Ostatnikova, D. (2015). Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiology & Behavior*, 138, 179-187.

- Toscano, M., De Grandi, R., Grossi, E., & Drago, L. (2017). Role of the human breast milk-associated microbiota on the newborns' immune system: A mini review. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2100.
- Underwood, M. A. (2019). Probiotics and human milk oligosaccharides in premature infants. *Neoreviews*, 20(1), e1-e11.
- Van Belkum, M., Mendoza Alvarez, L., & Neu, J. (2020). Preterm neonatal immunology at the intestinal interface. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(7), 1209-1227.
- Vangay, P., Ward, T., Gerber, J. S., & Knights, D. (2015). Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. *Cell Host Microbe*, 17(5), 553-564.
- Venn, J. (1880). I. On the diagrammatic and mechanical representation of propositions and reasonings. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 10(59), 1-18.
- Villarroel, M., Chaichulee, S., Jorge, J., Davis, S., Green, G., Arteta, C., Zisserman, A., McCormick, K., Watkinson, P., & Tarassenko, L. (2019). Non-contact physiological monitoring of preterm infants in the Neonatal Intensive Care Unit. *NPJ Digital Medicine*, 2, 128.
- Volchkov, P., Becker, L., Antonopoulos, D., Umesaki, Y., & Chervonsky, A. V. J. I. (2013). Gender bias in autoimmunity is influenced by microbiota. *Immunity*, 39(2), 400-412.
- Walker, W. A. (2017). The importance of appropriate initial bacterial colonization of the intestine in newborn, child, and adult health. *Pediatric Research*, 82(3), 387-395.
- Wang, M., Karlsson, C., Olsson, C., Adlerberth, I., Wold, A. E., Strachan, D. P., Martricardi, P. M., Åberg, N., Perkin, M. R., & Tripodi, S. (2008). Reduced diversity in the early fecal microbiota of infants with atopic eczema. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121(1), 129-134.
- Wang, Z., Neupane, A., Vo, R., White, J., Wang, X., & Marzano, S.-Y. L. (2020). Comparing gut microbiome in mothers' own breast milk-and formula-fed moderate-late preterm infants. *Frontiers in Microbiology*, 11, 891.
- Warton, D. I., Wright, S. T., & Wang, Y. (2012). Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(1), 89-101.
- Wilkinson, L., & Friendly, M. (2009). The history of the cluster heat map. *The American Statistician*, 63(2), 179-184.
- Williams, J. E., Carrothers, J. M., Lackey, K. A., Beatty, N. F., York, M. A., Brooker, S. L., Shafii, B., Price, W. J., Settles, M. L., & McGuire, M. A. (2017). Human milk microbial community structure is relatively stable and related to variations in macronutrient and micronutrient intakes in healthy lactating women. *The Journal of Nutrition*, 147(9), 1739-1748.
- Willyard, C. (2018). Could baby's first bacteria take root before birth? *Nature*, 553(7688), 264-266.

- Xu, W., Judge, M. P., Maas, K., Hussain, N., McGrath, J. M., Henderson, W. A., & Cong, X. (2018). Systematic review of the effect of enteral feeding on gut microbiota in preterm infants. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, 47(3), 451-463.
- Xu, Z., & Knight, R. (2015). Dietary effects on human gut microbiome diversity. *British Journal of Nutrition*, 113 Suppl, S1-5.
- Yang, B., Chen, Y., Stanton, C., Ross, R. P., Lee, Y. K., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. (2019). Bifidobacterium and Lactobacillus composition at species level and gut microbiota diversity in infants before 6 weeks. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13).
- Yang, I., Corwin, E. J., Brennan, P. A., Jordan, S., Murphy, J. R., & Dunlop, A. (2016). The infant microbiome: Implications for infant health and neurocognitive development. *Nursing Research*, 65(1), 76-88.
- Yap, G. C., Loo, E. X. L., Aw, M., Lu, Q., Shek, L. P.-C., & Lee, B. W. (2014). Molecular analysis of infant fecal microbiota in an Asian at-risk cohort—correlates with infant and childhood eczema. *BMC Research Notes*, 7(1), 166.
- Yassour, M., Vatanen, T., Siljander, H., Hämäläinen, A. M., Härkönen, T., Ryhänen, S. J., Franzosa, E. A., Vlamakis, H., Huttenhower, C., Gevers, D., Lander, E. S., Knip, M., & Xavier, R. J. (2016). Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Science Translational Medicine*, 8(343), 343ra381.
- Yıldız, S. (2008). Dünyada ve Ülkemizde Yemidoğan Hemşireliği. In G. Görak & T. Dağaloğlu (Eds.), *Temel neonatoloji ve hemşirelik ilkeleri*. Nobel Tıp Kitapevi, Ankara, page:3-14.
- Yilmaz, M., & Aykut, M. (2019). The effect of breastfeeding training on exclusive breastfeeding: a randomized controlled trial. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 1-8.
- Zanella, A., Silveira, R. C., Roesch, L. F., Corso, A. L., Dobbler, P. T., Mai, V., & Procianoy, R. S. (2019). Influence of own mother's milk and different proportions of formula on intestinal microbiota of very preterm newborns. *PLoS One*, 14(5), e0217296.
- Zheng, H., Liang, H., Wang, Y., Miao, M., Shi, T., Yang, F., Liu, E., Yuan, W., Ji, Z.-S., & Li, D.-K. (2016). Altered gut microbiota composition associated with eczema in infants. *PLoS One*, 11(11), e0166026.
- Zhuang, L., Chen, H., Zhang, S., Zhuang, J., Li, Q., & Feng, Z. (2019). Intestinal microbiota in early life and its implications on childhood health. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 17(1), 13-25.



EKLER

EK-1. Tanımlayıcı Bilgi Formu

Anket No _____ :

Adı Soyadı _____ :

Görüşme Tarihi _____ :

Anneye yönelik demografik bilgiler

1. Yaşı _____ :

2. Eğitim düzeyi :

() İlkokul

() Ortaokul

() Lise

() Üniversite

() Diğer ve üzeri

3. Aile Yapısı

() Çekirdek aile

() Geniş aile

4. Annenin gebelik sayısı:

5. Gebeliğiniz süresince anne sütü ile ilgili eğitim aldınız mı?

() Hayır ()Evet

6. Bebeğinizi doğum sonrası ilk ne zaman gördünüz?

() İlk gün

() İkinci gün

() 1 hafta içinde

() 1 haftadan sonra

7. Bebeğinizi ne kadar sıklıkta yenidoğan bakım ünitesinde görüyorsunuz?

Günde..... kez

Hafada kez

EK-1. (devam) Tanımlayıcı bilgi formu

Yenidoğana yönelik demografik bilgiler (Bu kısım araştırmacı tarafından doldurulacaktır)

1. Doğum haftası:
2. Cinsiyet
☐ Kız
☐ Erkek
3. Doğum Kilosu:
4. Doğumdaki bebek sayısı
☐ Tek
☐ İkiz
☐ Diğer
5. Doğumda resüsitasyon varlığı
☐ Evet
☐ Hayır
6. Bebeğin tanısı:

EK-2. Bebek İzlem Formu

Annenin Adı Soyadı:

TAS Grubu ()

Bebğin Cinsiyeti:

() Kız () Erkek

DAS Grubu ()

Bebek Adı Soyadı:

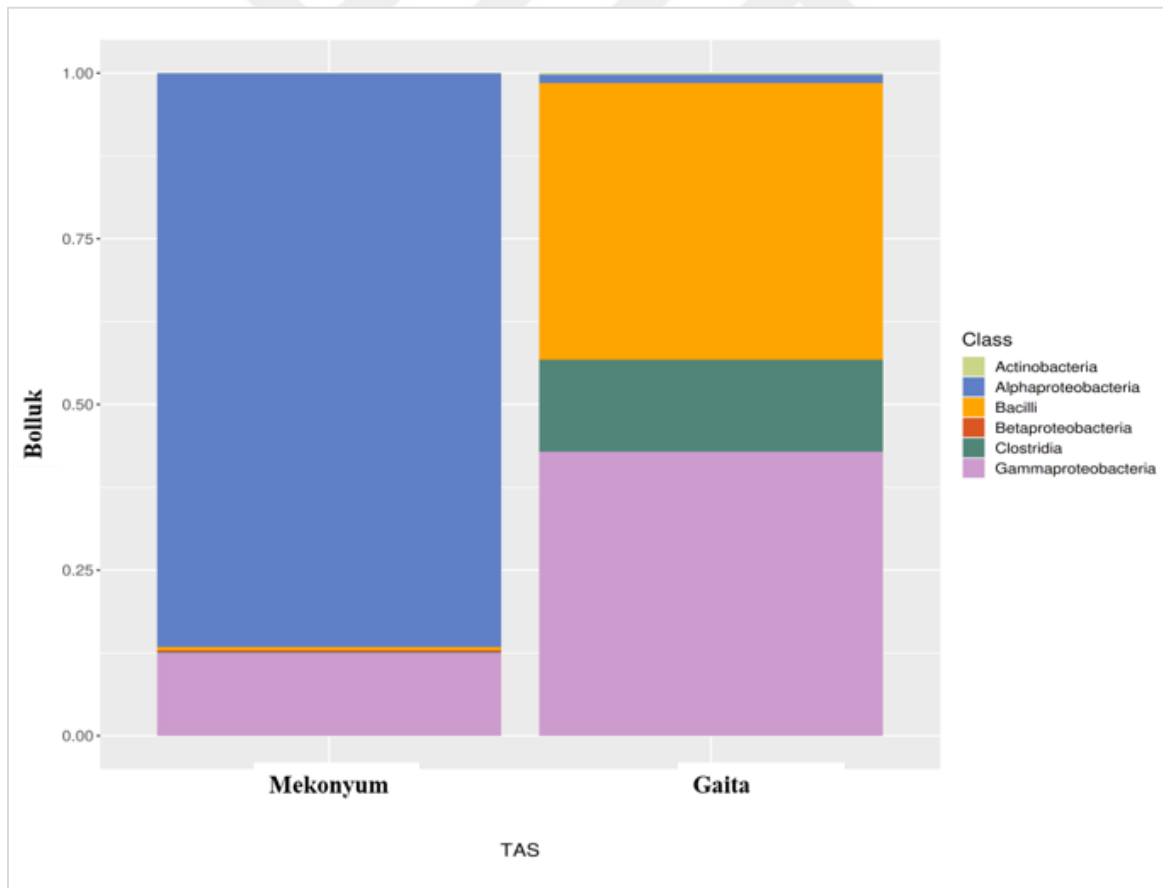
Formun Doldurulduđu Tarih:

Saat /Beslenme Solüsyonu ve Miktarı	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	8.gün	9.gün	10.gün
1.Besleme	Örnek 08:15 TAS 10cc									
2.Besleme										
3.Besleme										
4.Besleme										
5.Besleme										
6.Besleme										
7.Besleme										
8.Besleme										
9.Besleme										
10.Besleme										
Toplam%										

	Tarih	Postnatal yaşı	Gaita Örnek Alımı	Gaita Örneğinin Analiz Sonuçları
1. örnek				
2. örnek				
.....				

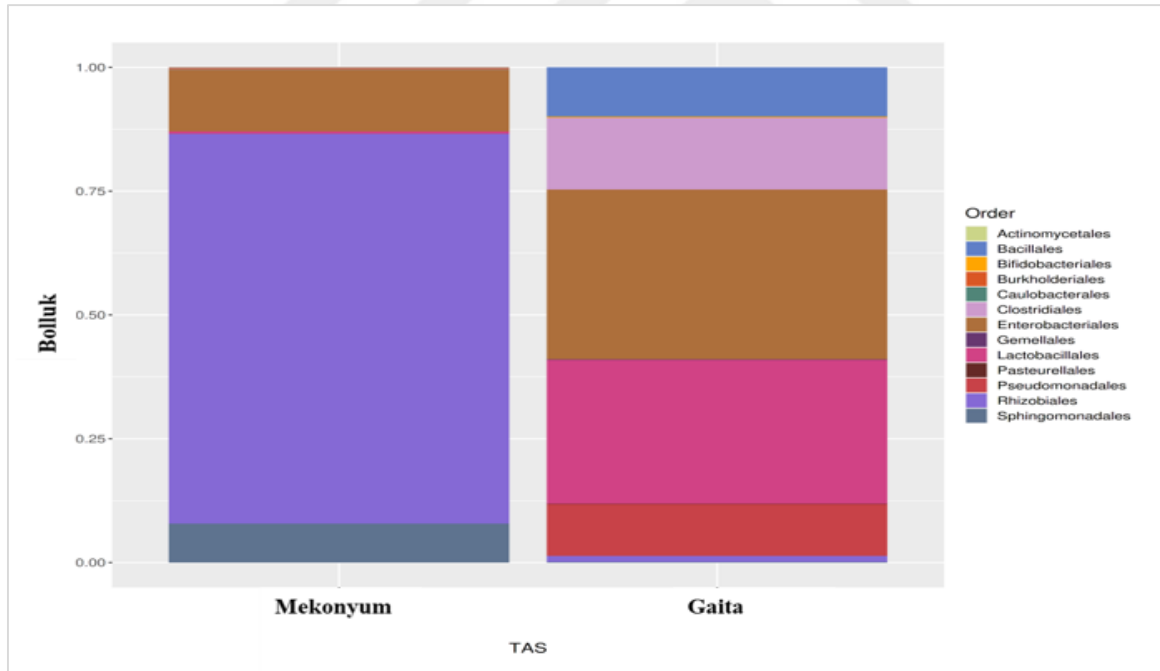
EK-3. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10. gün gaitalarının (n:8) sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Alphaproteobacteria* (%86) olup, bunu *Gammaproteobacteria* (%13) sınıfı takip etmiştir. TAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Gammaproteobacteria* (%43) olup bunu sırasıyla *Bacilli* (%42), *Clostridia* (%14) ve *Alphaproteobacteria* (%1) sınıfları takip etmiştir. TAS grubundaki mekonyumların *Alphaproteobacteria* (%95) sınıfının 10. gün gaitalarına göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. TAS grubundaki 10. gün gaitalarının *Gammaproteobacteria* (%13) sınıfının TAS grubundaki mekonyumlara göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



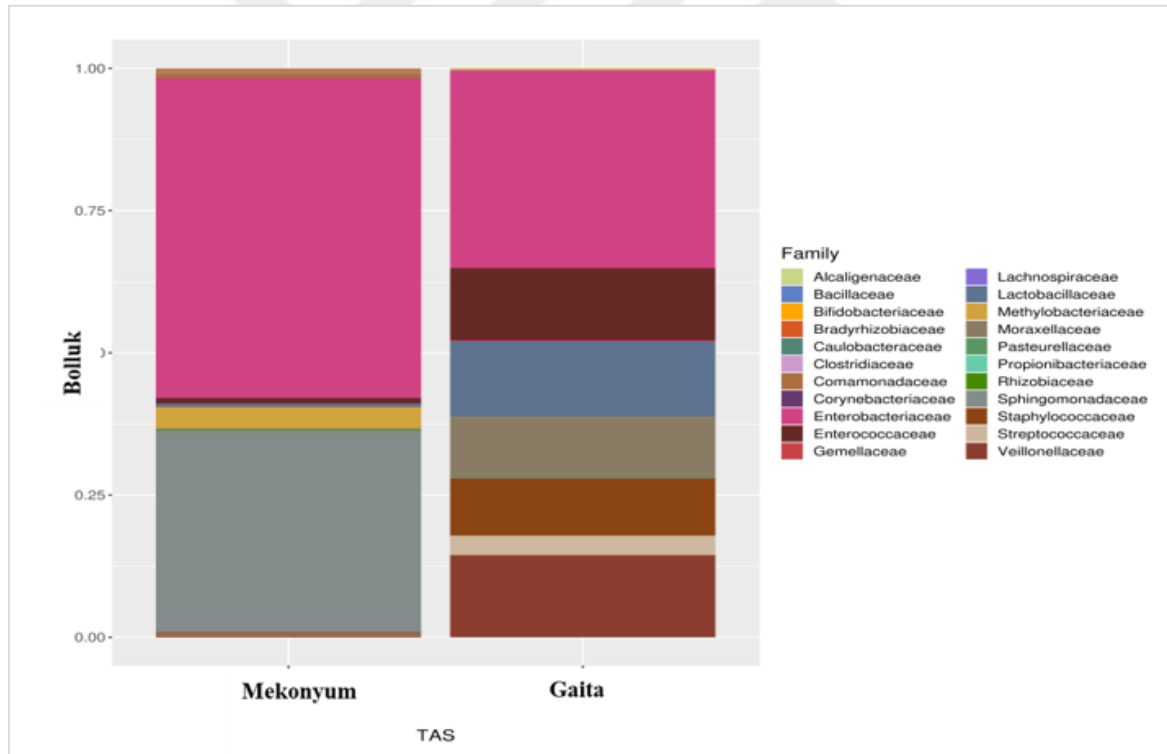
EK-4. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10. gün gaitalarının (n:8) takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Rhizobiales* (%78) olup, bunu sırasıyla *Enterobacteriales* (%13) ve *Sphingomonadales* (%8) takımları takip etmiştir. TAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%34) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%29), *Clostridiales* (%15), *Bacillales* (%10), *Pseudomonadales* (%10) ve *Rhizobiales* (%1) takımları takip etmiştir. TAS grubundaki mekonyumların *Enterobacteriales* (%13) takımının 10. gün gaitalarına göre görece bolluğunun daha az olduğu belirlenmiştir. TAS grubundaki 10. gün gaitaların *Rhizobiales* (%1) takımının mekonyumlara göre görece bolluğunun daha az olduğu belirlenmiştir.



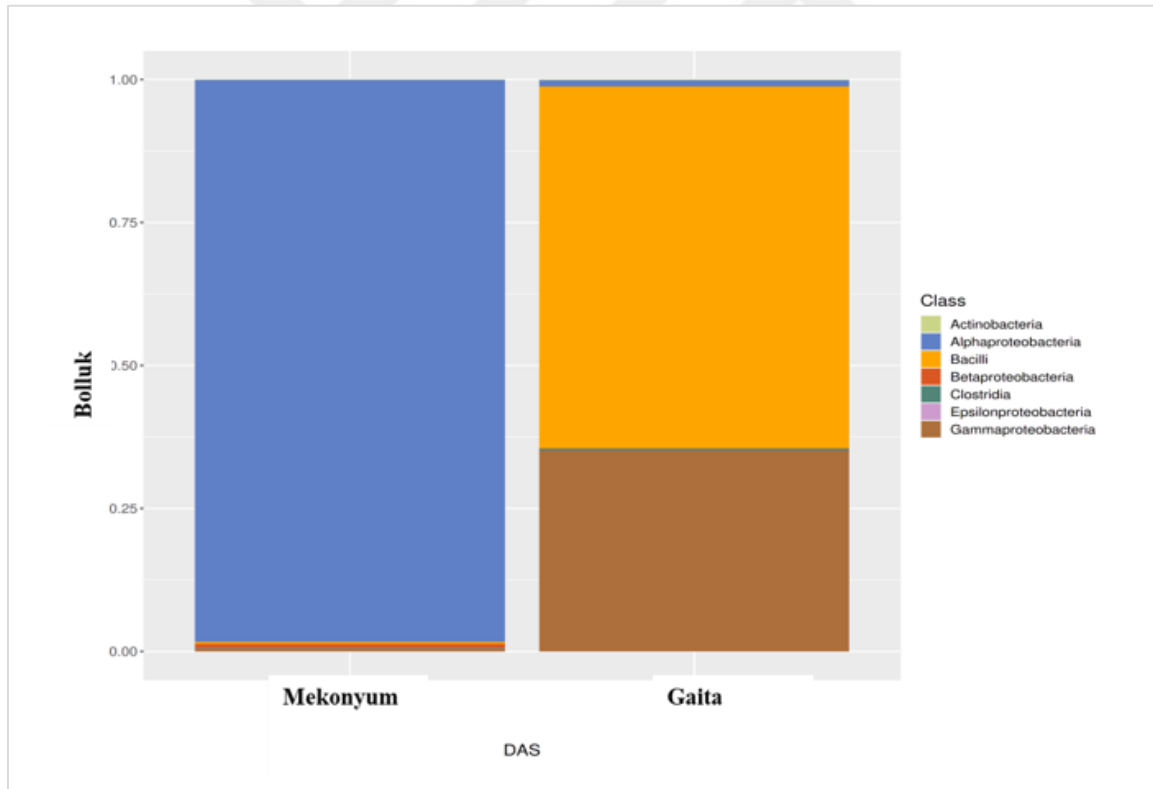
EK-5. TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:8) ve 10. gün gaitalarının (n:8) aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%55) olup, bunu sırasıyla *Sphingomonadaceae* (%35), *Methylobacteriaceae* (%4) ve *Comamonadaceae* (%1) aileleri takip etmiştir. TAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%35) olup, bunu sırasıyla *Veillonellaceae* (%14), *Enterococcaeaceae* (%13), *Lactobacillaceae* (%13), *Moraxellaceae* (%11), *Staphylococcaceae* (%10) ve *Streptococcaceae* (%3) aileleri takip etmiştir. TAS grubundaki mekonyumların *Enterobacteriaceae* (%55) ailesinin 10. gün gaitalarına göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



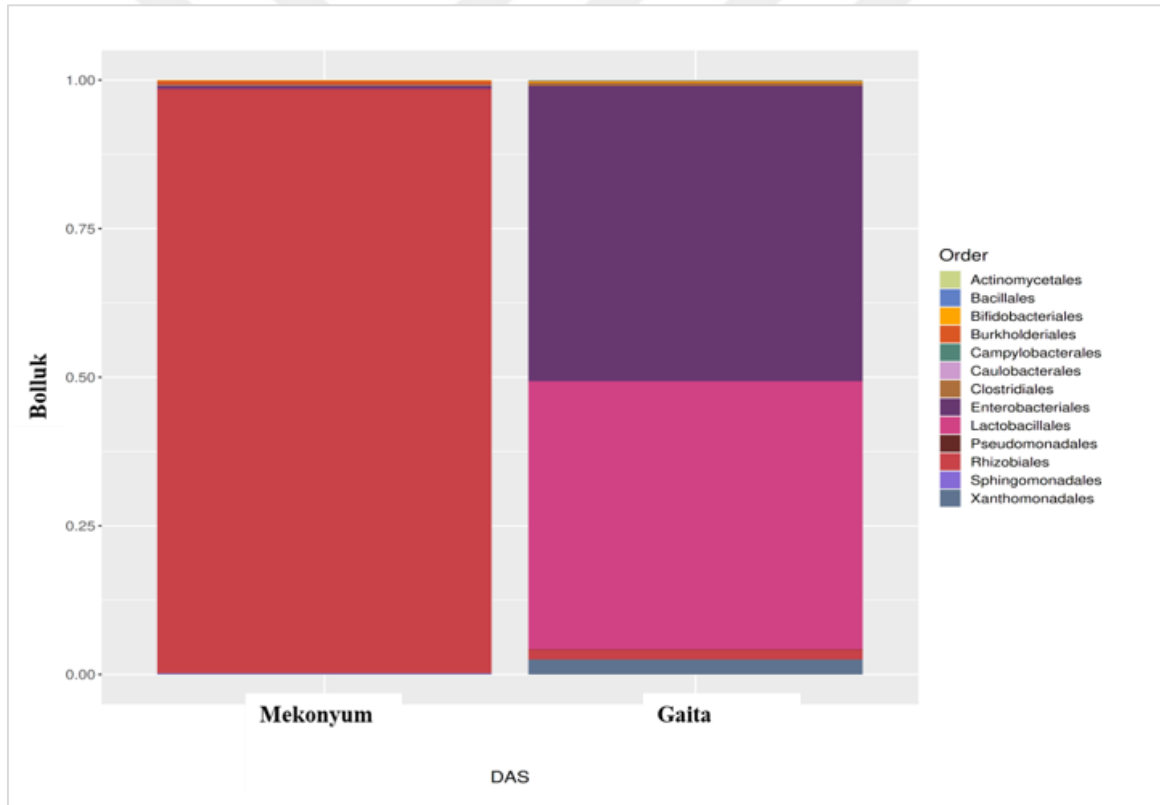
EK-6. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10. gün gaitalarının (n:3) sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Alphaproteobacteria* (%98) olup, bunu sırasıyla *Gammaproteobacteria* (%1) ve *Betaproteobacteria* (%1) sınıfları takip etmiştir. DAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Bacilli* (%63) olup bunu sırasıyla *Gammaproteobacteria* (%35) ve *Alphaproteobacteria* (%1) sınıfları takip etmiştir. DAS grubundaki mekonyumların *Alphaproteobacteria* (%98) sınıfının 10. gün gaitalarına göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. DAS grubundaki 10. gün gaitalarının *Gammaproteobacteria* (%35) sınıfının mekonyumlara göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



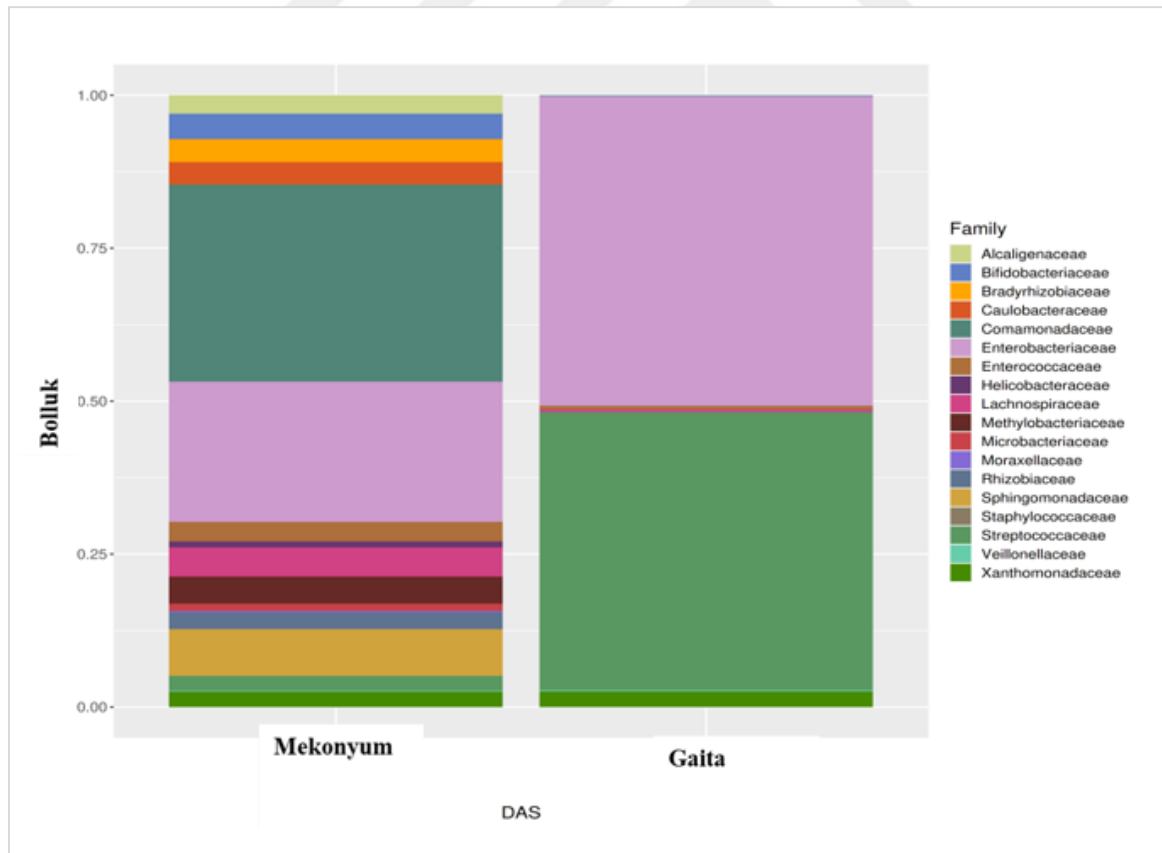
EK-7. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10. gün gaitalarının (n:3) takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Rhizobiales* (%98) olup, bunu *Burkholderiales* (%1) takımı takip etmiştir. DAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%50) olup bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%45), *Xanthomonadales* (%2) ve *Rhizobiales* (%1) takımları takip etmiştir. DAS grubundaki mekonyumların *Rhizobiales* (%98) takımının 10. gün gaitalarına göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



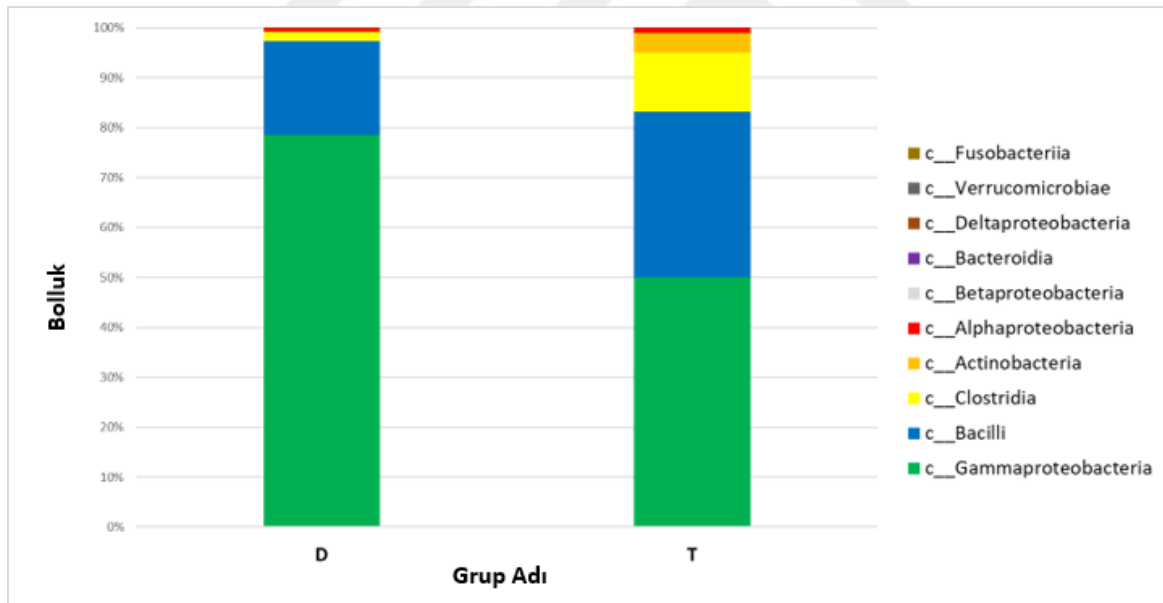
EK-8. DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:3) ve 10. gün gaitalarının (n:3) aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS grubundaki bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Comamonadaceae* (%25) olup, bunu sırasıyla *Enterobacteriaceae* (%18), *Lachnospiraceae* (%6), *Sphingomonadaceae* (%6), *Methylobacteriaceae* (%4), *Bifidobacteriaceae* (%4), *Bradyrhizobiaceae* (%3), *Rhizobiaceae* (%2), *Xanthomonadaceae* (%2), *Streptococcaceae* (%2) ve *Rhodobacteraceae* (%1) takımları takip etmiştir. DAS grubundaki bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%50) olup bunu sırasıyla *Streptococcaceae* (%45) ve *Xanthomonadaceae* (%3) aileleri takip etmiştir. DAS grubundaki 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriaceae* (%50) ve *Streptococcaceae* (%45) ailelerinin mekonyumlara göre görece bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



EK-9. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

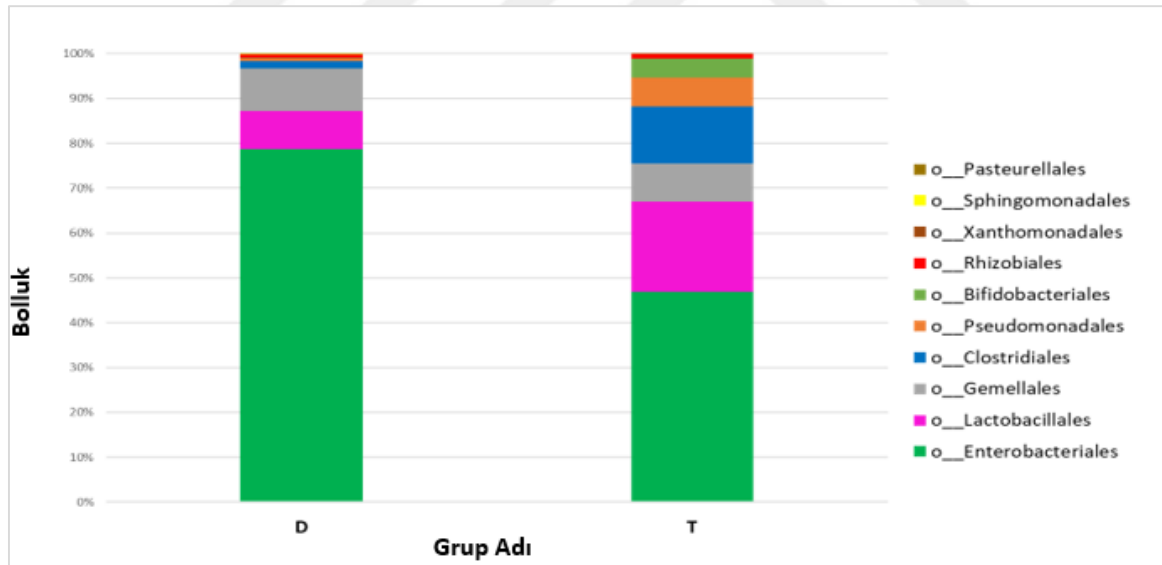
TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Gammaproteobacteria* (%78) olup, bunu sırasıyla *Bacilli* (%19) ve *Clostridia* (%2) filumları takip etmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Gammaproteobacteria* (%50) olup, bunu sırasıyla *Bacilli* (%33), *Clostridia* (%12), *Actinobacteria* (%4) ve *Alphaproteobacteria* (%1) sınıfları takip etmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Gammaproteobacteria* (%78) sınıfının göreceli bolluğunun TAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Bacilli* (%33), *Clostridia* (%12), *Actinobacteria* (%4) ve *Alphaproteobacteria* (%1) sınıflarının göreceli bolluğunun DAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



D:Dondurulmuş anne sütü, T:Taze anne sütü

EK-10. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

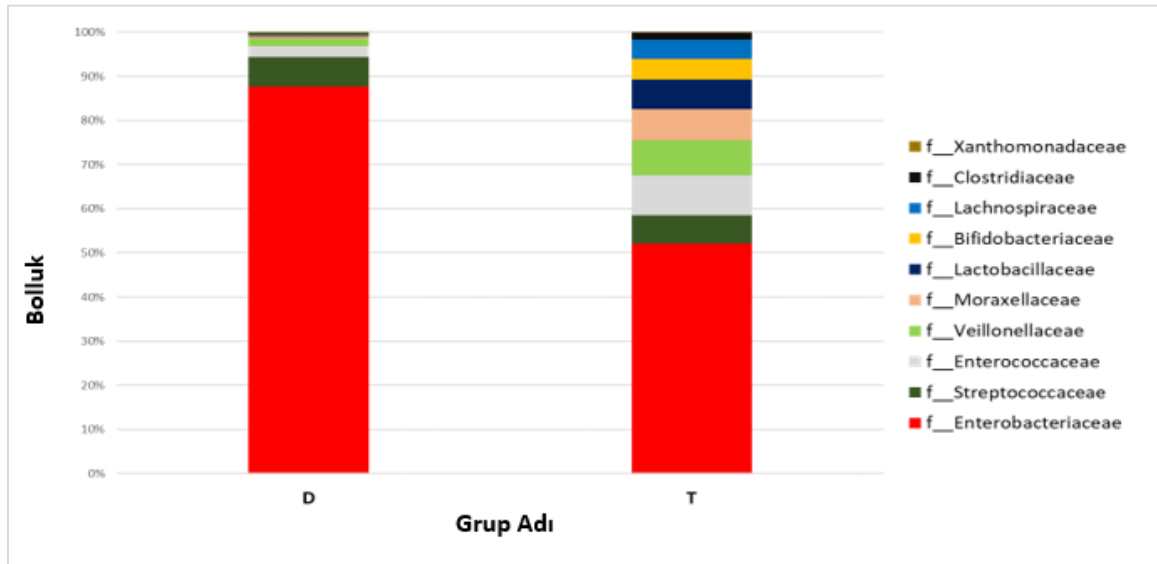
TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%79) olup, bunu sırasıyla *Gemellales* (%10), *Lactobacillales* (%9) ve *Clostridiales* (%2) takımları takip etmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%47) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%20), *Clostridiales* (%13), *Gemellales* (%9), *Pseudomonadales* (%6), *Bifidobacteriales* (%4) ve *Rhizobiales* (%1) takımları takip etmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriales* (%79) ve *Gemellales* (%10) takımlarının göreceli bolluğunun TAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Lactobacillales* (%20), *Clostridiales* (%13), *Pseudomonadales* (%6), *Bifidobacteriales* (%4) ve *Rhizobiales* (%1) takımlarının göreceli bolluğunun DAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



D:Dondurulmuş anne sütü, T:Taze anne sütü

EK-11. TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

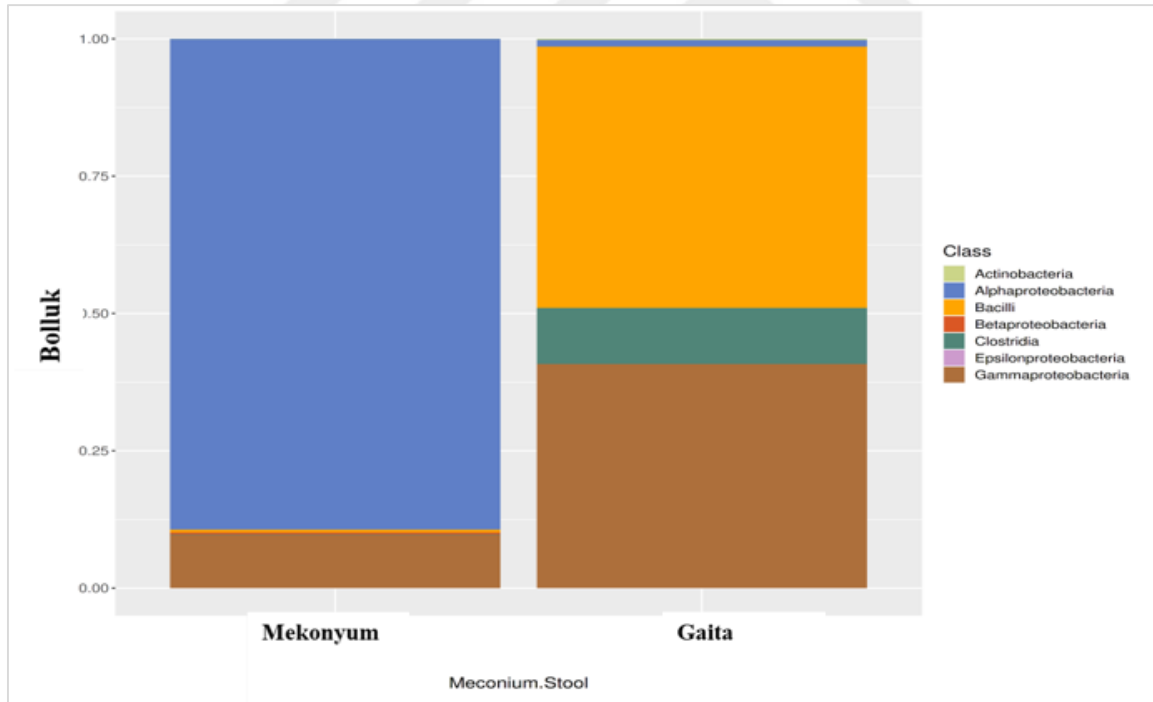
TAS ve DAS alan tüm bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%88) olup, bunu sırasıyla *Streptococcaceae* (%7), *Enterococcaceae* (%3) ve *Veillonellaceae* (%2) aileleri takip etmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%52) olup, bunu sırasıyla *Enterococcaceae* (%10), *Veillonellaceae* (%8), *Moraxellaceae* (%7), *Lactobacillaceae* (%7), *Streptococcaceae* (%6), *Bifidobacteriaceae* (%5), *Lachnospiraceae* (%4) ve *Clostridiaceae* (%2) aileleri takip etmiştir. DAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriaceae* (%88) ve *Streptococcaceae* (%7) ailelerinin göreceli bolluğunun TAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterococcaceae* (%10), *Veillonellaceae* (%8), *Moraxellaceae* (%7), *Lactobacillaceae* (%7), *Bifidobacteriaceae* (%5), *Lachnospiraceae* (%4) ve *Clostridiaceae* (%2) ailelerinin göreceli bolluğunun DAS alan bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



D:Dondurulmuş anne sütü, T:Taze anne sütü

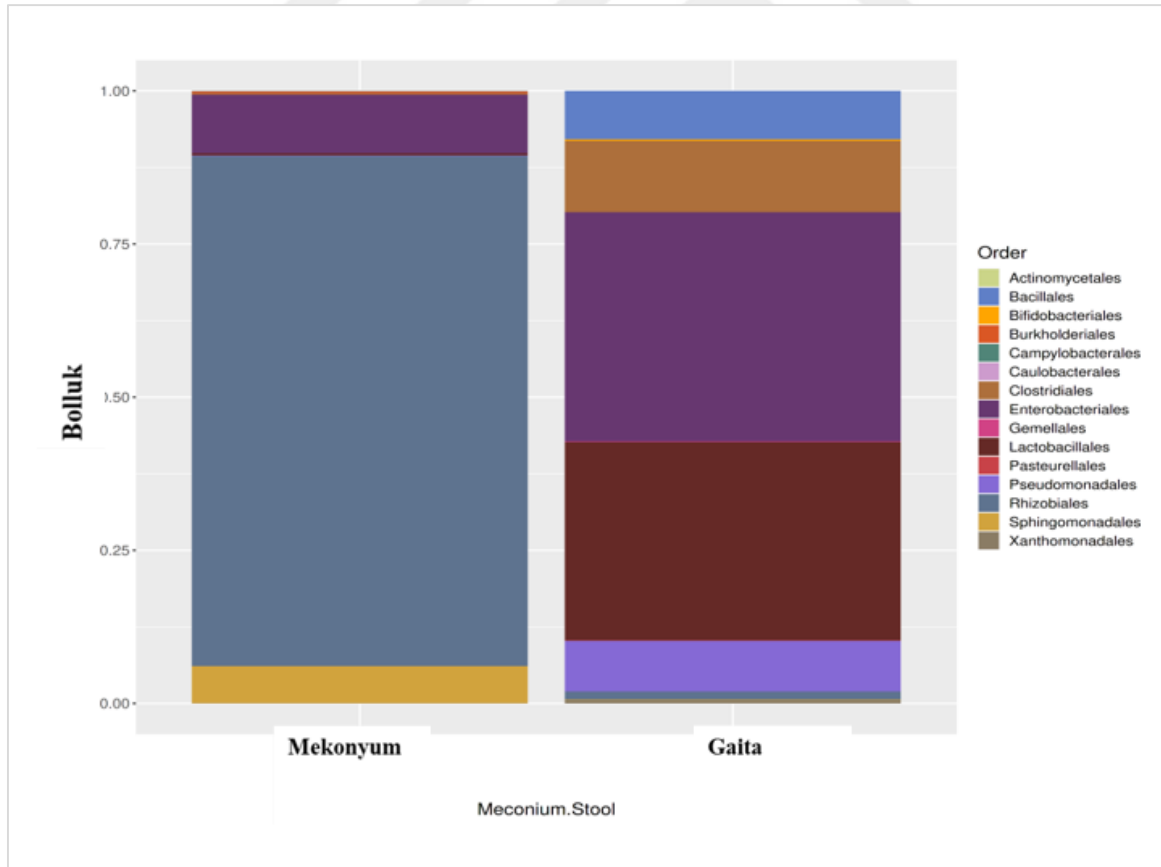
EK-12. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) mikrobiyalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Alphaproteobacteria* (%89) olup bunu *Gammaproteobacteria* (%10) sınıfı takip etmiştir. Bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Alphaproteobacteria* (%89) olup bunu sırasıyla *Bacilli* (%45) olup bunu sırasıyla *Gammaproteobacteria* (%41), *Clostridia* (%10) ve *Alphaproteobacteria* (%1) sınıfları takip etmiştir. Bebeklerin gaita mikrobiyalarında *Gammaproteobacteria* (%41) sınıfının göreceli bolluğunun mekonyumlardan fazla olduğu belirlenmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında *Alphaproteobacteria* (%89) sınıfının göreceli bolluğunun 10. gün gaitalarından fazla olduğu belirlenmiştir.



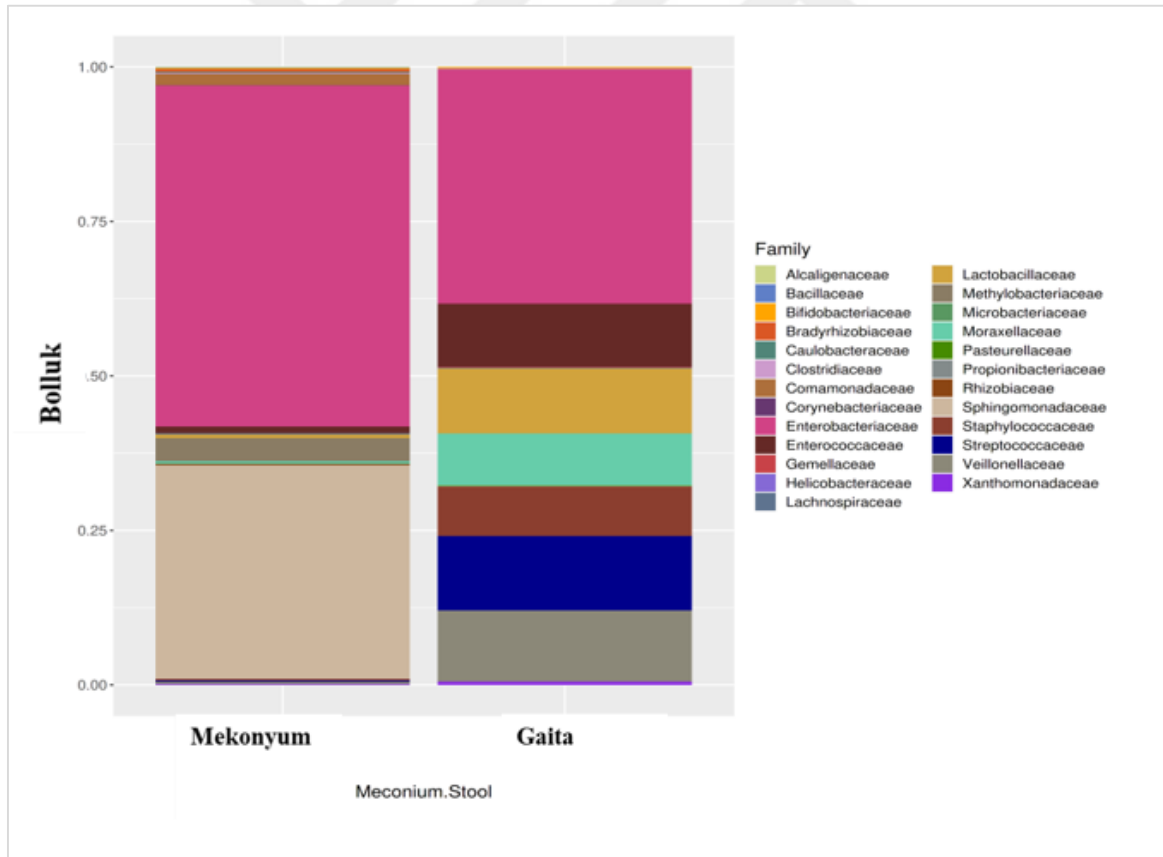
EK-13. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) mikrobiyalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Rhizobiales* (%83) olup bunu sırasıyla *Enterobacteriales* (%10) ve *Sphingomonadales* (%6) takımları takip etmiştir. Bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%37) olup bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%32), *Clostridiales* (%12), *Bacillales* (%8), *Pseudomonadales* (%8) ve *Rhizobiales* (%1) takımları takip etmiştir. Bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriales* (%37) takımının göreceli bolluğunun mekonyumlardan fazla olduğu belirlenmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında *Rhizobiales* (%83) takımının göreceli bolluğunun 10. gün gaitalarından fazla olduğu belirlenmiştir.



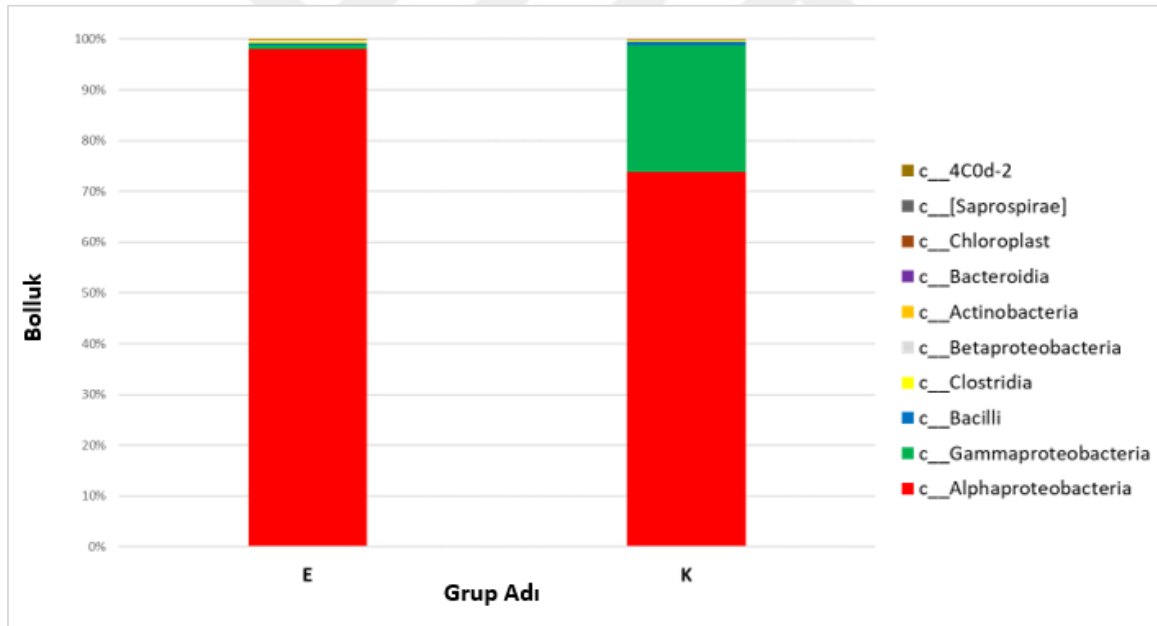
EK-14. TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum ve 10. gün gaita mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

TAS ve DAS grubundaki mekonyum analizi yapılan bebeklerin mekonyum (n:11) ve 10. gün gaita (n:11) mikrobiyalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%54) olup bunu sırasıyla *Sphingomonadaceae* (%34), *Methylobacteriaceae* (%4), *Comamonadaceae* (%2) ve *Enterococcaceae* (%1) aileleri takip etmiştir. Bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%38) olup bunu sırasıyla *Veillonellaceae* (%12), *Streptococcaceae* (%12), *Lactobacillaceae* (%11), *Enterococcaceae* (%10), *Moraxellaceae* (%8) ve *Staphylococcaceae* (%8) aileleri takip etmiştir. Bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında *Enterobacteriaceae* (%54) ailesinin göreceli bolluğunun 10. gün gaitalardan fazla olduğu belirlenmiştir.



EK-15. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

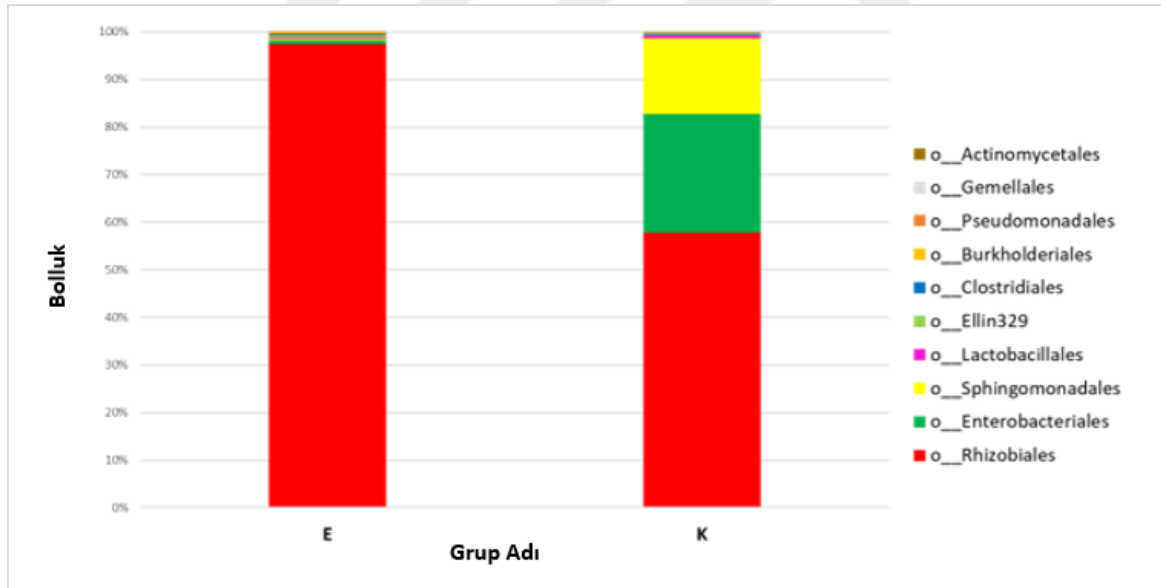
TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerin mekonyumlarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Alphaproteobacteria* (%98) olup, bunu sırasıyla *Gammaproteobacteria* (%0.8) ve *Bacilli* (%0.3) sınıfları takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Alphaproteobacteria* (%74) olup, bunu sırasıyla *Gammaproteobacteria* (%26) ve *Bacilli* (%0.7) sınıfları takip etmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyumlarındaki *Alphaproteobacteria* (%98) sınıfının kız bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumlarındaki *Gammaproteobacteria* (%26) sınıfının erkek bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-16. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

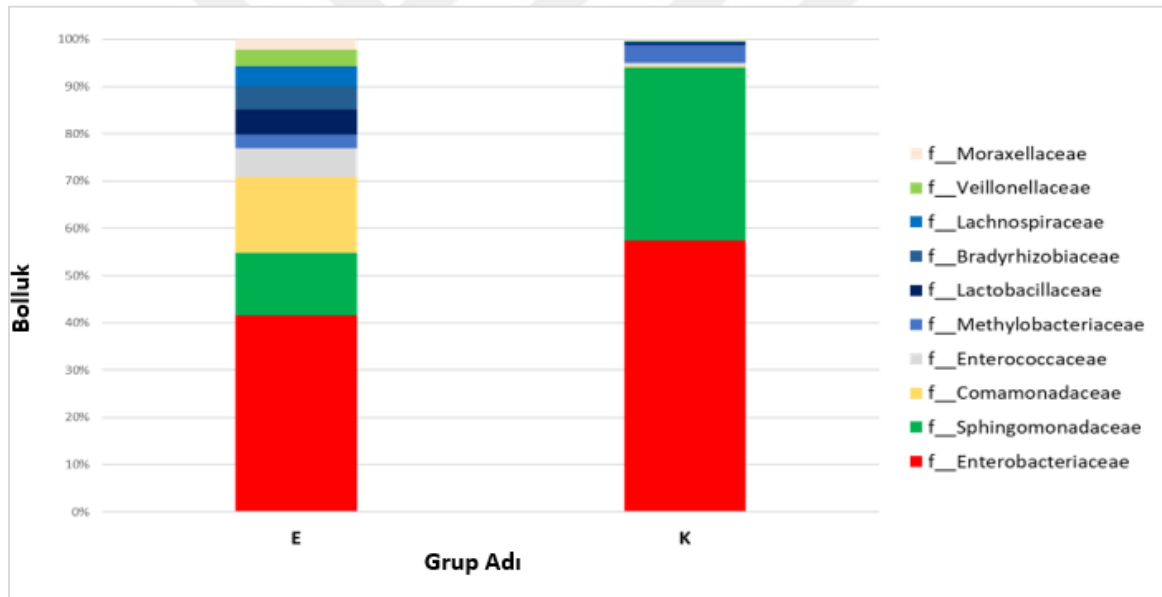
TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerin mekonyumlarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Rhizobiales* (%98) olup, bunu sırasıyla *Enterobacteriales* (%0.7) ve *Ellin329* (%0.5) takımları takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Rhizobiales* (%58) olup, bunu sırasıyla *Enterobacteriales* (%25) ve *Sphingomonadales* (%16) takımları takip etmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyumlarındaki *Rhizobiales* (%98) takımının kız bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumlarındaki *Enterobacteriales* (%25) ve *Sphingomonadales* takımlarının erkek bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-17. TAS grubundaki kız ve erkek bebeklerin mekonyumlarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

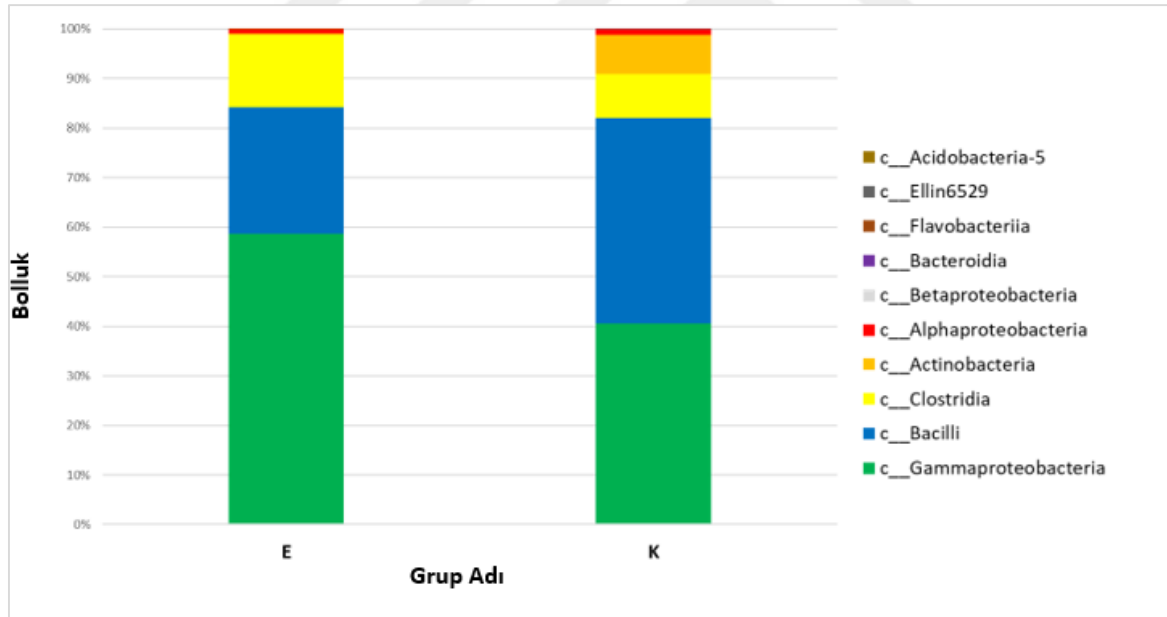
TAS grubundaki kız (n:4) ve erkek (n:4) bebeklerin mekonyumlarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS grubundaki erkek bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%41) olup, bunu sırasıyla *Comamonadaceae* (%16) ve *Sphingomonadaceae* (%13) aileleri takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyum mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%57) olup, bunu sırasıyla *Sphingomonadaceae* (%37) ve *Methylobacteriaceae* (%4) aileleri takip etmiştir. TAS grubundaki kız bebeklerin mekonyumlarındaki *Enterobacteriaceae* (%57) ve *Sphingomonadaceae* (%37) ailelerinin erkek bebeklerin mekonyumlarına göre göreceli bolluklarının fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız.

EK-18. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

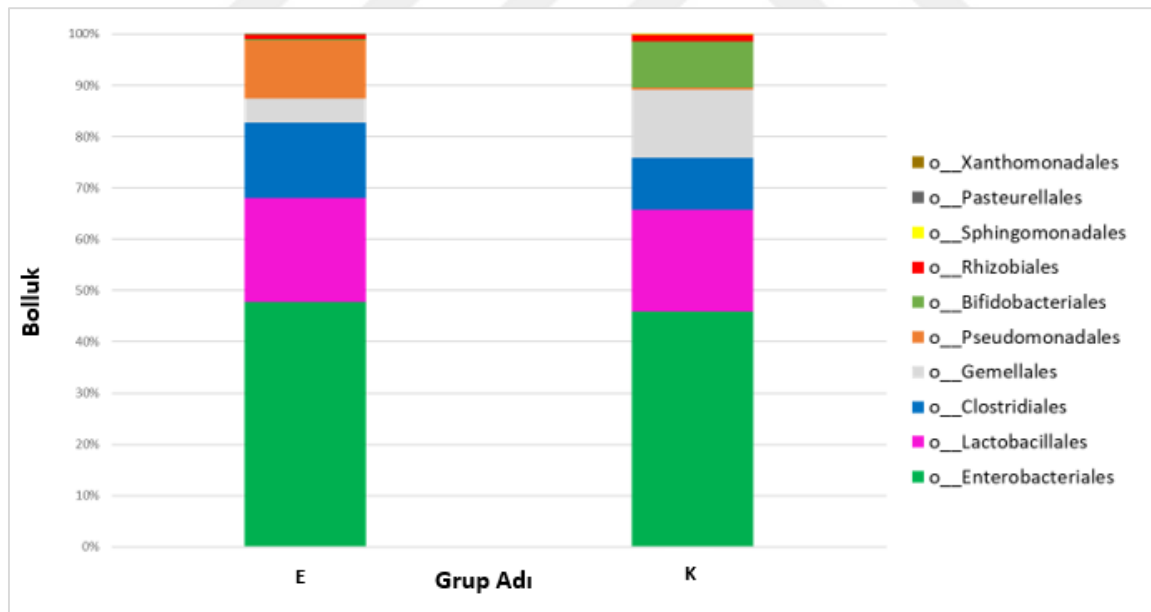
TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Gammaproteobacteria* (%59) olup, bunu sırasıyla *Bacilli* (25) ve *Clostridia* (%15) takip etmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Bacilli* (41) olup, bunu sırasıyla *Gammaproteobacteria* (%40) ve *Clostridia* (%9) sınıfları takip etmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Clostridia* sınıfının göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Gammaproteobacteria* (%59) ve *Clostridia* (%15) sınıflarının göreceli bolluğunun kız bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Bacilli* (41) sınıfının göreceli bolluğunun erkek bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-19. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

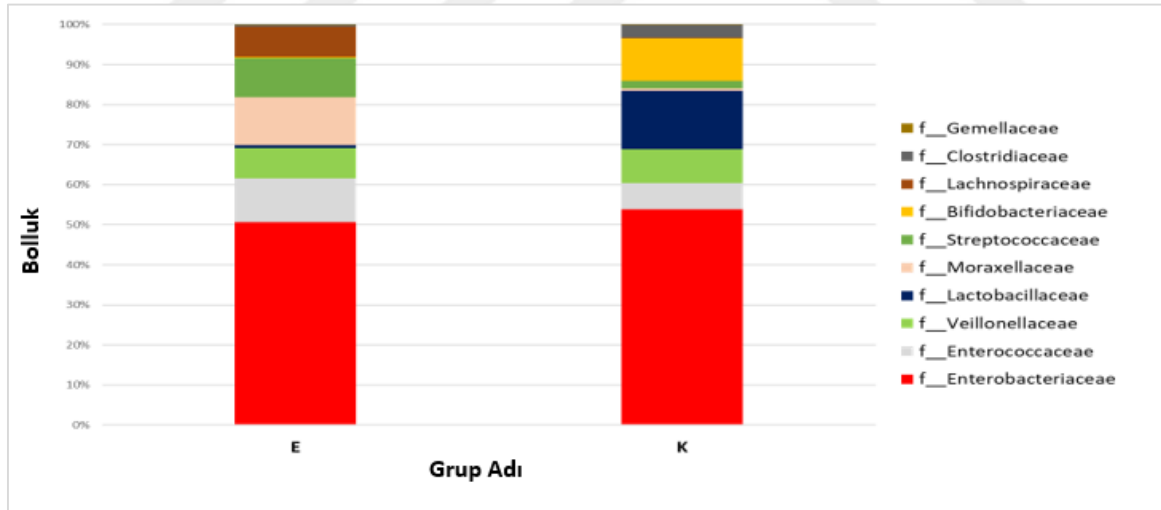
TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%48) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%20), *Clostridiales* (%15), *Pseudomonadales* (%11) ve *Gemellales* (%5) takımları takip etmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%46) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%20), *Gemellales* (%13), *Clostridiales* (%10), *Bifidobacteriales* (%9) ve *Rhizobiales* (%1) takımları takip etmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriales* (%48), *Clostridiales* (%15) ve *Pseudomonadales* (%11) takımlarının göreceli bolluğunun kız bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Gemellales* (%13) ve *Bifidobacteriales* (%9) takımlarının göreceli bolluğunun erkek bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-20. TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

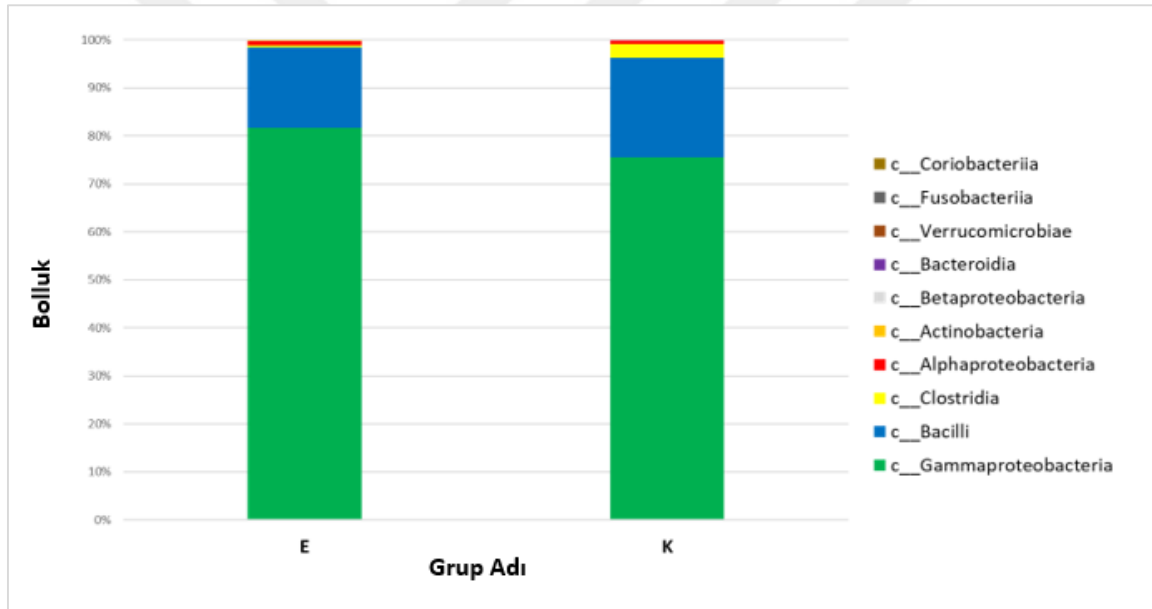
TAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%51) olup, bunu sırasıyla *Moraxellaceae* (%12), *Enterococcaceae* (%11), *Streptococcaceae* (%10), *Veillonellaceae* (%8) ve *Lachnospiraceae* (%8) aileleri takip etmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%54) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillaceae* (%15), *Bifidobacteriaceae* (%11), *Veillonellaceae* (%8), *Enterococcaceae* (%7) ve *Clostridiaceae* (%3) aileleri takip etmiştir. TAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterococcaceae* (%11), *Streptococcaceae* (%10) ve *Lachnospiraceae* (%8) ailelerinin göreceli bolluğunun kız bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir. TAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriaceae* (%54), *Lactobacillaceae* (%15) *Bifidobacteriaceae* (%11) ve *Clostridiaceae* (%3) ailelerinin göreceli bolluğunun erkek bebeklerinkinden fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-21. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

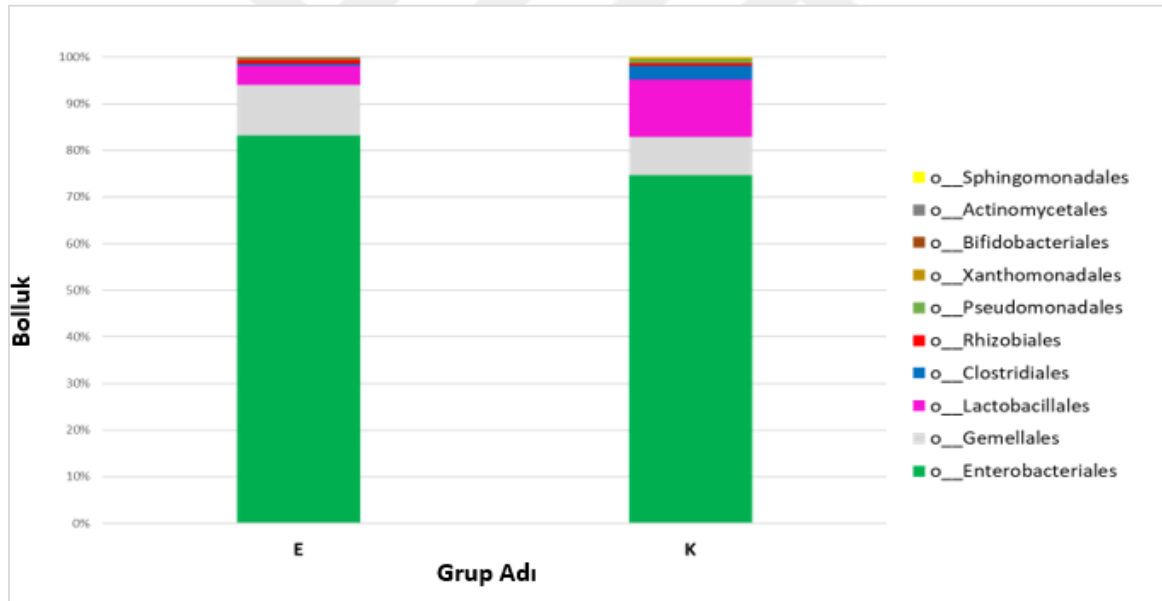
DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Gammaproteobacteria* (%82) olup, bunu sırasıyla *Bacilli* (%17) ve *Alphaproteobacteria* (%0.8) sınıfları takip etmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen sınıf *Gammaproteobacteria* (%76) olup, bunu sırasıyla *Bacilli* (%21) ve *Clostridia* (%3) sınıfları takip etmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Gammaproteobacteria* (%82) sınıfının göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-22. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

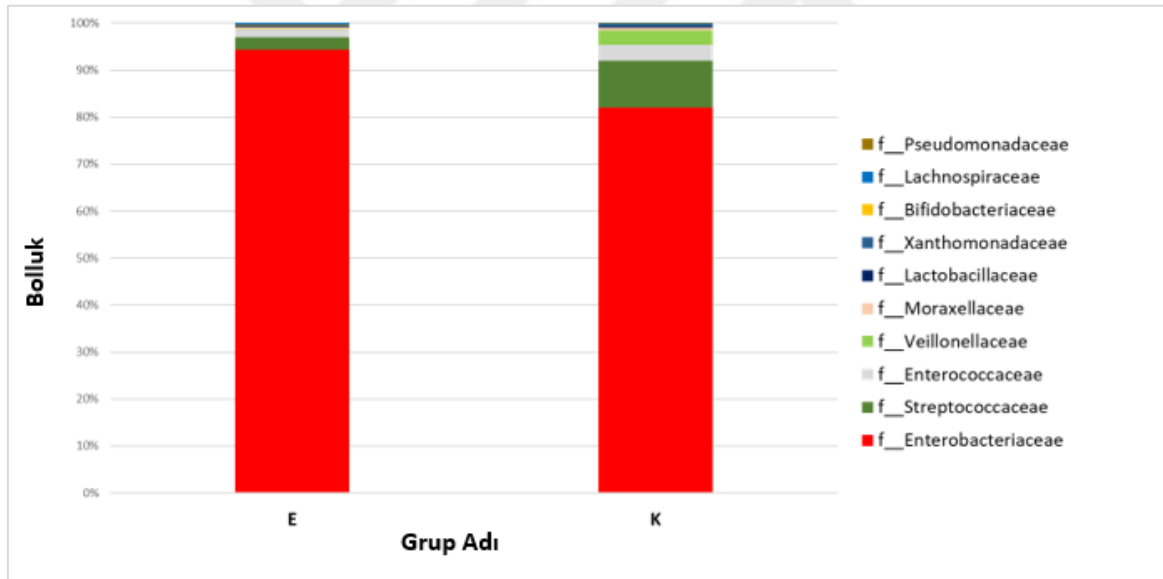
DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının takım düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%83) olup, bunu sırasıyla *Gemellales* (%11) ve *Lactobacillales* (%4) takımları takip etmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen takım *Enterobacteriales* (%75) olup, bunu sırasıyla *Lactobacillales* (%12) ve *Gemellales* (%8) takımları takip etmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriales* (%83) ve *Gemellales* (%11) takımlarının kız bebeklere göre göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Lactobacillales* (%12)) takımının erkek bebeklere göre göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-23. DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri

DAS alan kız ve erkek bebeklerin 10. gün gaitalarının aile düzeyinde göreceli bolluk değişimleri gösterilmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%94) olup, bunu sırasıyla *Streptococcaceae* (%3) ve *Enterococcaceae* (%2) aileleri takip etmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında ilk sırada gelen aile *Enterobacteriaceae* (%82) olup, bunu sırasıyla *Streptococcaceae* (%10) ve *Enterococcaceae* (%3) aileleri takip etmiştir. DAS alan erkek bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Enterobacteriaceae* (%94) ailesinin kız bebeklere göre göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir. DAS alan kız bebeklerin 10. gün gaita mikrobiyalarında *Streptococcaceae* (%10) ailesinin erkek bebeklere göre göreceli bolluğunun fazla olduğu belirlenmiştir.



E:Erkek, K:Kız

EK-24. Etik Komisyon izin yazısı

Evrak Tarih ve Sayısı: 30/11/2018-E.44987



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



Sayı : 14574941-199-
Konu : Etik Kurul Gelen Cevap
Bildirimi-Özlem Selime
MERTER

Sayın Doç. Dr. Naime ALTAY

Enstitümüz Hemşirelik Anabilim Dalı doktora programı öğrencisi Özlem Selime MERTER'in , etik kurul başvurusu ile ilgili olarak Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun cevabi yazısı ekte gönderilmektedir.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Doç. Dr. Aysel BERKKAN
Enstitü Müdür Yardımcısı

DAĞITIM
Gereği:
Hemşirelik Anabilim Dalı Başkanlığına

Bilgi:
Sayın Doç. Dr. Naime ALTAY
Sayın Özlem Selime MERTER
Hemşirelik Anabilim Dalı Doktora Programı
Öğrencisi



Evrakın Doğrulanması İçin: <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr>
Emniyet Mahallesi Abant Sokak NO10/2 E Blok Kat 5 06500 Yenimahalle ANKARA
Tel:0 (312) 202 33 87 Faks:0 (312) 202 82 20
E-Posta: saclik@gaui.edu.tr İnternet Adresi: <http://saclik.gazi.edu.tr/>

Pin: 92422
Bilgi için :Rubia Demirel
Memur
Telefon No:03122023254

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 9. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-24. (devam) Etik Komisyon izin yazısı

Evrak Tarih ve Sayısı: 27/11/2018-8/102

Evrak Tarih ve Sayısı: 30/11/2018-E.55091

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu

 1975

Sayı :97132852/100/
Konu :Eğitim - Öğretim İşleri Doç. Dr. Naime ALTAY (Dok. Öğr. Özlem MERTER)

Gazi Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Hemşirelik Anabilim Dalı
Emniyet Mah. Abant Sok. No: 10/2 E Blok Kat:5
P.K. 06500 Yenimahalle/ANKARA

İlgi :26.11.2018 tarihli, 295931 sayılı "Doç. Dr. Naime ALTAY (Dok. Öğr. Özlem MERTER)" konulu yazı.

Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 22.11.2018 tarih ve 19 (9) sayılı toplantı kararı ekte sunulmuştur.

İlgililere iletilmesini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI
Rektör Yardımcısı

EKLER :
1- Yazı (1 sayfa)
2- Etik Kurul Kararı (1 sayfa)

**BELGENİN
ELEKTRONİK İMZALIDIR**

Evrakı Doğrulamak İçin : https://ebys.firat.edu.tr/en/Vislon/Validate_Doc.aspx?V=BE84BLD45
Fırat Üniversitesi Rektörlüğü 23119 ELAZIĞ/TÜRKİYE Ayrıntılı bilgi için lütfen: İsmet AKSOY
Tel: 0 (424) 237 00 00 Faks: 0 (424) 0
E-Posta: Elektronik ağı: <http://www.firat.edu.tr>



EK-24. (devam) Etik Komisyon izin yazısı

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ÇALIŞMACININ ADI SOYADI
22.11.2018	19	9	Doç. Dr. Naim ALTAY

KARAR

"Prematüre Bebeklerde Taze ya da Dondurulmuş Anne Sütüyle Beslenmenin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkisinin İncelenmesi" konulu çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup; çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oybirliğiyle karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN (Başkan)		Prof. Dr. Demet ÇİÇEK (Üye)	İmza
Prof. Dr. Figen DEVECİ (Üye)	İmza	Prof. Dr. Engin ŞAHNA (Üye)	Bulunmadı
Prof. Dr. Erdal TAŞKIN (Üye)	İmza	Prof. Dr. Yüksel SAVUCU (Üye)	Bulunmadı
Doç. Dr. Funda GÜLCÜ BULMUŞ (Üye)	İmza	Doç. Dr. Fazilet ERMAN (Üye)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Turgay BÖRK (Üye)	İmza	Dr. Öğr. Üyesi Gökhan GÖKDERE (Üye)	Bulunmadı

EK-25. Hastane izin yazısı

Tarih ve Sayısı: 06/12/2018-298163

T.C.



FIRAT ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

Fırat Üniversitesi Hastanesi Başhekimliği

Sayı :19003918/903.99/
Konu :Tez Çalışması hk.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

*Emniyet Mah. Akant Sok. No:10/2 E Blok. Kat 5
06500- Yenimahalle / ANKARA*

İlgi :14/11/2018 tarihli, 43049 sayılı ve "Bilgi(Tez Çalışması İzin Talebi)(Özlem Selime
MERTER)" konulu yazı

İlgi yazınıza istinaden hastanemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Başkanlığının 04.12.2018 tarih 297494 sayılı cevabi yazıları ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır.
Prof. Dr. Refik AYTEN
Üniversite Hastanesi Başhekimi

EK-25. (devam) Hastane izin yazısı



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ



Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Sayı :57083341/903.99/

Konu :Tez Çalışması hk.

FIRAT ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ BAŞHEKİMLİĞİNE

Özlem Selime MERTER'in Anabilim Dalımız Yenidoğan Yoğun Bakım ünitesinde çalışma yapması uygun görülmüştür. Gereğini bilgilerinize arz ederim.

e-imzalıdır.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ
Anabilim Dalı Başkanı

EK-26. Katılımcılar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

KATILIMCILAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sizi, Fırat Üniversitesi Etik Komisyonu'ndan 30.11.2018 tarihli, E.55091 sayılı izin alınan ve Doç. Dr. Naime ALTAY tarafından yürütülen “Prematüre Bebeklerde Taze ya da Dondurulmuş Anne Sütüyle Beslenmenin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkisinin İncelenmesi” başlıklı araştırmaya davet ediyoruz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkına sahipsiniz. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecek ve çalışmaya katıldığınız için size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Çalışmanın yürütülmesi ve yayınlanması aşaması dahil hiç bir aşamada çocuğunuzun ve sizin isminiz ve kişisel bilgileriniz kullanılmayacaktır sadece araştırma sonucu elde edilen bilgiler ve bulgular kullanılacaktır. Çalışmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda ya da herhangi bir nedenle çalışmadan çıkmanız halinde bebeğinizin yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki tedavisinde herhangi bir aksama olmayacaktır.

Bu form sizi çalışma hakkında bilgilendirmeye yöneliktir. Bu formun bir kopyası size verilecektir. Size özel olarak anlatılan bilgilerin yazılı halini içermektedir. Lütfen formu dikkatlice okuyunuz ve imzalayınız. Bilmediğiniz terimleri ve anlamadığınız noktaları lütfen araştırmacıya sorunuz, talebiniz halinde yapılan açıklamalar yazılı olarak verilecektir.

Araştırmanın Önemi

İnsan vücudu, içinde yaşayan milyonlarca mikroorganizmaya ev sahipliği yapar. Mikrobiyota insanlarla birlikte yaşayan mikroorganizmaların tamamını ifade etmektedir. Gastrointestinal sistem özofagustan (yemek borusu) rektuma (kalın bağırsak) kadar uzanan geniş yüzey alanı ve içerdiği zengin besin öğeleri nedeniyle bakteri kolonizasyonu açısından en uygun ortamı sunmaktadır.

Anne sütü, bağırsak gelişimi ve olgunlaşmasını sağlar. Yaşamın ilk ayında yenidoğanın bağırsaklarında anne sütünden ve annenin cilt florasından gelen bakteriler baskındır. Taze anne sütünün kullanılması, barsakların yararlı bakterilerle, özellikle insan sütü oligosakkaritlerini beslenme için kullanan probiyotik bakterilerle kolonize edilmesine neden olacaktır.

EK-26. (devam) Katılımcılar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Araştırmanın amacı

Bu araştırma yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen prematüre bebeklerde taze ya da dondurulmuş anne sütüyle beslenmenin bağırsak mikrobiyotasına etkisini incelemek amacıyla planlanmıştır.

Araştırmanın Yöntemi

Araştırmada taze anne sütü grubu (TAS) ve dondurulmuş anne sütü grubu (DAS) belirlenecektir.

Annelere süt saklama poşetleri temin ettirilerek bebeklerinin beslenme miktarına göre uygun miktarda sütü hastaneye getirmeleri/göndermeleri söylenecektir. Sütlerin hastaneye anne veya baba tarafından buz aküleri içinde getirilmesi gerektiği ebeveynlere anlatılacaktır.

Taze anne sütü getirilen bebekler

Buz aküleri ile üniteye getirilen taze anne sütleri üzerine bebek adı tarih ve saat yazılarak, üniteye bulunan buzdolabının raf kısmında (4° C) maksimum 3 güne kadar muhafaza edilecektir (Bilgen, Kültürsay, & Türkyılmaz, 2018). Taze anne sütü getirilen bebeklerin kendi annelerinin taze anne sütü ile beslenmeleri sağlanacaktır.

Dondurulmuş anne sütü getirilen bebekler

Buz aküleri ile üniteye getirilen dondurulmuş anne sütleri üzerine bebek adı tarih ve saat yazılarak, üniteye bulunan derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilecektir. Dondurulmuş anne sütü getirilen bebeklerin kendi annelerinin dondurulmuş anne sütü ile beslenmeleri sağlanacaktır.

Tüm bebeklere 10 günlük bir izlem yapılacaktır. Bu izlem sırasında bebeklerin aldıkları beslenme solüsyonlarının özelliklerine (taze anne sütü, dondurulmuş anne sütü, bebek formülü) yönelik bilgileri kaydedilecektir. Gruplar tüm örnekler alındıktan sonra belirlenecektir. İzlem aşamasında tüm bebeklerin gaita mikrobiyota örnekleri doğumdan sonraki ilk gaitası (mekonyum) ve 10. günün sonundaki gaitası steril olarak alınarak -80° C de analiz zamanına kadar saklanacaktır. Yapılacak olan bu çalışmada taze ve dondurulmuş anne sütünün yenidoğan mikrobiyotası üzerine etkilerinin karşılaştırılması ile taze ya da dondurulmuş süt kullanımının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri incelenerek hemşirelere, diğer sağlık çalışanlarına ve çalışan annelere yenidoğanın beslenmesi ve sağlıklı mikrobiyota geliştirmesine yönelik bakım konularında yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

EK-26. (devam) Katılımcılar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Araştırmacı tarafından şahsıma anlatılan tüm bu bilgiler doğrultusunda bebeğimin araştırmaya katılmasını kabul ediyorum. Çalışma süreci içinde araştırma ile ilgili herhangi bir nedenle başvurulacak araştırıcının,

Adı Soyadı : Özlem Selime Merter

Telefon : 05xx xxx xx xx

Bebeğin Soyadı :

Ebeveynin Adı-Soyadı :

Adres :

Telefon :

İmza :

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : MERTER, Özlem Selime
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi/Hemşirelik A.B.D.	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği A.B.D.	2015
Lisans	Süleyman Demirel Üniversitesi Burdur Sağlık Yüksekokulu	2007
Lise	Selma Yiğitalp Yabancı Dil Ağırlıklı Lise	2003

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görevi
2020- devam ediyor	Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	Öğretim Görevlisi
2016-2017	Ankara Zekai Tahir Burak Hastanesi	Hemşire
2009-2013	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi	Hemşire
2007-2009	İzmir Özel Çankaya Tıp Merkezi	Hemşire

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Merter, Ö. S., ve Altay, N. (2020). Yenidoğan Yoğun Bakımda İzlenen Prematüre Bebeklerin Anne Sütü ile Beslenme Durumlarının Değerlendirilmesi. Evaluation of the Nutritional Status of Breastfed Preterm Neonates in a Neonate Intensive Care Unit. *Gazi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 21-29.
2. Merter, O. S., and Bolişik, Z. B. (2020). The effects of manual and automatic lancets on neonatal capillary heel blood sampling pain: A prospective randomized controlled trial. *Journal of Pediatric Nursing*.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..