



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEONATOLOJİ BİLİM DALI**

**ANNE SÜTÜ SARILIĞININ GELİŞİMİNDE, ANNE SÜTÜ
MİKROBİYAL İÇERİĞİ VE BEBEK BARSAK MİKROBİYAL
FLORASININ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI VE BU
BEBEKLERDE PROBİYOTİK TEDAVİSİNİN SARILIK SEYRİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Onur Bağcı

YANDAL UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2015



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEONATOLOJİ BİLİM DALI**

**ANNE SÜTÜ SARILIĞININ GELİŞİMİNDE, ANNE SÜTÜ
MİKROBİYAL İÇERİĞİ VE BEBEK BARSAK MİKROBİYAL
FLORASININ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI VE BU
BEBEKLERDE PROBİYOTİK TEDAVİSİNİN SARILIK SEYRİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Onur BAĞCI

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Nilgün Köksal

BURSA – 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	iii
GİRİŞ	1
Yenidoğanda Bilirubin Metabolizması	2
Uzamış Sarılığın Patolojik Nedenleri	3
Anne Sütü Sarılığı	5
Normal Bağırsak Mikrobiyota Gelişimi	6
Normal Bağırsak Flora Gelişimine Etki Eden Faktörler	8
Anne Sütü Mikrobiyal İçeriği	10
Probiyotikler	15
GEREÇ ve YÖNTEM	23
Anne Sütü Sarılığı Tanısı ve Hasta Seçimi	23
Örnek Toplanması	24
DNA Eldesi	24
PCR Analizi	25
İstatistiksel Analiz	26
BULGULAR	27
TARTIŞMA ve SONUÇ	36
KAYNAKLAR	44
EKLER	53
TEŞEKKÜR	54
ÖZGEÇMİŞ	55

ÖZET

Anne sütü sarılığı, uzamış sarılığın en sık nedenidir ve tüm yenidoğanların %2-15'inde görülmektedir. Anne sütü sarılığı patogenezine ilişkin bir çok teori ortaya atılmış olmasına karşın oluşum mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Günümüzde herhangi bir tedavi seçeneği olmayan anne sütü sarılığı, ailelerde ve pediatristlerde kaygı uyandırıcı bir durum olmaya devam etmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda anne sütü mikrobiyal içeriği ve bebek bağırsak florasının sarılık gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı, anne sütüne bağlı uzamış sarılığın anne sütündeki ve barsak florasındaki mikroorganizmalarla ilişkisini ve probiyotik desteğininin anne sütü sarılığı seyrine olan etkisini araştırmaktır.

Çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Polikliniği'ne uzamış sarılık nedeniyle başvuran ve yapılan tetkikleri sonucunda anne sütü sarılığı tanısı alan term ve term yakın bebeklerle prospektif ve randomize olarak düzenlendi. Çalışmaya 77 anne sütü sarılığı tanısı alan ve 35 sağlıklı olmak üzere toplam 112 bebek alındı. Sarılıklı hastaların 37'sine bir haftalık probiyotik tedavisi uygulandı. Tüm hastalardan başvuruda anne sütü ve gaytada, sarılıklı hastalardan bir hafta sonra alınan ikinci gayta örneğinde real time-PCR yöntemiyle *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantorum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium adolescentis* türlerine ait kantitatif DNA eldesi yapıldı. Gruplar arasında anne sütü ve gayta mikrobiyal içeriği, probiyotik tedavisinin bilirubin düzeyleri, kilo alımı ve gayta mikrobiyal içeriği üzerine etkisi araştırıldı.

Anne sütü sarılığı olan hastaların anne sütü mikrobiyal içeriğinde *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. plantorum*, *B. longum* ve *B. bifidum* miktarları, gayta içeriklerinde ise *L. gasseri*, *L. plantorum* ve *B. bifidum* miktarları kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Probiyotik tedavisi sonrası gayta mikrobiyal içeriğinde istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Tedavi almayan gruba karşılaştırıldığında probiyotik tedavisi alan grupta ortalama bilirubin düzeyi daha düşük ve bilirubin düzeyindeki

azalma daha yüksekti ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Probiyotik tedavisi alan grupta bilirubin düzeyinin normale gelme süresi ise tedavi almayan gruba oranla anlamlı derecede daha kısaydı ($p<0.05$).

Anne sütü ve gayta probiyotik bakteri içeriğinin anne sütü sarılığı gelişiminde rol oynayabileceğine dair kanıtlar artmaktadır. Sarılıklı hastalarda anne sütü ve gayta içeriğinin sağlıklı hastalara göre daha düşük miktarda olması, probiyotiklerin anne sütü sarılığında bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir. Anne sütü sarılığı tedavisi için ideal probiyotik türlerinin, tedavi süresi ve dozunun belirlenmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: anne sütü sarılığı, anne sütü mikrobiyal içeriği, neonatal bağırsak florası, probiyotik tedavisi

SUMMARY

EFFECT of BREAST MILK and INTESTINAL MICROBIAL CONTENT on DEVELOPMENT of BREAST MILK JAUNDICE, and EVALUATION of PROBIOTIC IMPACT on COURSE of HYPERBILIRUBINEMIA

Breast milk jaundice (BMJ) is the most common cause of prolonged jaundice and affects 2-15% of all newborns. Various theories have been contributed to etiology of BMJ but its mechanism has not been completely elucidated. Currently there are no treatment options for BMJ which is a cause of anxiety for parents and pediatricians. Recent studies suggest that microbial content breast milk and composition of intestinal flora can play a role in development of BMJ. Aim of this study is to investigate the association between BMJ and microbial content of breast milk; and the impact of probiotics on the course of jaundice.

Study was designed as prospective randomized at term infants who were prognosed as BMJ in Uludağ University Neonatology outpatient clinic. A total of 112 patients (77 BMJ patients and 35 healthy controls) were enrolled. Breast milk and fecal samples were collected in all patients. Probiotic supplement was applied to 37 of BMJ patients for a week. Fecal samples were collected from all BMJ patients after a week. Quantitative DNA was measured for *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantorum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* and *Bifidobacterium adolescentis*. Cases were compared for breast milk and fecal microbial content, bilirubin levels, decline in bilirubin levels and weight gain.

Breast milk amounts of *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. plantorum*, *B. longum*, *B. bifidum* and fecal amounts of *L. gasseri*, *L. plantorum* and *B. bifidum* were significantly lower in BMJ patients compared to healthy controls ($p < 0.05$). After probiotic treatment, fecal microbial contents between groups were not significantly different. However, although not statistically significant, mean bilirubin levels were lower and decline rate in

bilirubin levels were higher in the treatment group ($p>0.05$). Also probiotic treatment group had significantly higher weight gain and shorter duration of jaundice compared to BMJ patients who did not receive probiotics ($p<0.05$)

Evidence for impact of breast milk and fecal microbial content on development of jaundice is increasing. Lower amounts of probiotic bacteria in breast milk and feces of BMJ patients suggests that probiotics may be a treatment option for BMJ. Further investigation is required to determine the optimal dose, content and duration of probiotic treatment for BMJ.

Key Words: breast milk jaundice, breast milk microbial content, neonatal intestinal flora, probiotic treatment

GİRİŞ

Sarılık, yenidoğan döneminde oldukça sık görülen ve olası komplikasyonları nedeniyle endişe verici bir klinik sorundur. Hayatın ilk haftasında zamanında doğan bebeklerin %60'ında sarılık görülmektedir. Fizyolojik yenidoğan sarılığı zamanında doğan bebeklerde iki, prematüre bebeklerde üç hafta kadar sürebilir. Sonrasında sarılığın devam etmesi durumuna uzamış sarılık denmektedir (1). Tüm yenidoğanlarda %2-15, anne sütü ile beslenenlerde %40'a varan oranlarda uzamış sarılık görülmektedir. Uzamış sarılığın en sık sebebi anne sütü sarılığı olmakla birlikte, anne sütü sarılığı tanısının konulabilmesi için direkt hiperbilirubinemi, hipotiroidi, idrar yolu enfeksiyonu, konjenital hemolitik hastalıklar, doğumsal metabolik hastalıklar (örn. galaktozemi) gibi hastalıklar dışlanmalıdır (1,2).

Anne sütüne bağlı uzamış sarılık, diğer açılardan sağlıklı yenidoğanlarda sıkça görülen selim bir indirekt hiperbilirubinemidir. Hayatın ilk iki haftasında ortaya çıkar ve kendiliğinden gerilemesi 12. haftaya kadar uzayabilir (3). Anne sütüne bağlı uzamış sarılığın nedenine yönelik birçok teori ortaya atılmıştır. En bilinen mekanizmalar anne sütünde hepatik glukronil transferaz inhibitörü varlığı, bilirubin konjugasyon ve metabolizmasını engelleyen serbest yağ asitleri, yüksek bilirubin glukronidaz içeriği ve bilirubin içeren enterohepatik siklusun artmasıdır (3,4).

İntestinal bilirubin emilimini etkileyen bir başka önemli etken ise intestinal bakteri içeriğidir. İntestinal bakteriler bilirubin glukuronidleri çeşitli ürobilinoidlere çevirerek intestinal emilimi azaltırlar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda anne sütünün bebek gastrointestinal sistemi için yoğun bir bakteri kaynağı olduğu gösterilmiştir. İnsan sütünde *Staphylococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* türlerine ait çok çeşitli bakteriler mevcuttur (5).

Probiyotiklerin antienflamatuar, antimikrobiyal ve bağışıklık sistemini destekleyici etkileri bulunmaktadır (6). Yenidoğanlarda *Lactobacillus reuteri* desteğinin beslenme toleransını ve barsak

fonksiyonlarını arttırdığı görülmüştür (7). Probiyotik desteğinin ishal süresi ve şiddetini azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (8-10). Anne sütünden izole edilen bakterilerin türleri ve sıklığı arasında bireysel farklılıklar mevcuttur. Bunların bebeğin gastrointestinal florasına ve uzamış sarılıkta önemli bir mekanizma olan enterohepatik sıklusa olan etkileri bilinmemektedir (5). Bu çalışmanın amacı, anne sütüne bağlı uzamış sarılığın anne sütündeki ve barsak florasındaki mikroorganizmalarla ilişkisini ve probiyotik desteğininin anne sütü sarılığı seyrine olan etkisini araştırmaktır.

1. Yenidoğanda Bilirubin Metabolizması

Yenidoğanda konjuge olmamış bilirubinün büyük kısmı hemoglobün yıkımıyla oluşmaktadır. Konjuge olmamış bilirubin suda çözünmez ve bu nedenle dışkıyla atılması için önce karaciğerde konjugasyona uğramalıdır. Bilirubin hepatositlerde üridin difosfat glukronozil transferaz 1A1 (UGT 1A1) enzimi yoluyla konjuge edilir. Konjuge bilirubin safra yoluyla bağırsaklara geçer, bağırsak florası tarafından sterkobiline dönüştürülerek dışkı ile atılır. Bununla birlikte konjuge bilirubinün bir kısmı ince bağırsakta β -glukronidaz enzimi ile dekonjuge edilir, konjuge olmamış bilirubin bağırsak mukozası tarafından emilerek karaciğere döner; bu süreç enterohepatik dolaşım olarak adlandırılır (4).

Anne sütü ya da mama ile beslenen bebeklerde hayatın ilk haftasında görülen ve normal bilirubin metabolizması sonucu ortaya çıkan sarılık yenidoğanın fizyolojik sarılığı olarak tanımlanır. Normal yenidoğanda, yüksek hemoglobün düzeyi ve eritrositlerin yaşam süresinin daha kısa olması nedeniyle bilirubin üretimi artmıştır. Bununla birlikte, UGT 1A1 aktivitesi erişkinlere göre daha düşüktür, β -glukronidaz aktivitesi artmıştır ve bilirubini sterkobiline dönüştüren *Clostridial* flora tam oluşmamıştır. Tüm bu faktörlerden dolayı yenidoğanlarda hayatın ilk haftasında dolaşımdaki indirekt bilirubin düzeyi beslenme biçiminden bağımsız olarak yüksektir (2,3,11,12). Fizyolojik sarılıkta bilirubin düzeyleri term bebeklerde iki hafta içerisinde normal değerlere döner. Bu süreden sonra bilirubin düzeylerinin normalin üstünde seyretmesi uzamış sarılık olarak tanımlanır (4).

2. Uzamış Sarılığın Patolojik Nedenleri

II.A. Yetersiz Beslenme

Bilirubin metabolizmasında fizyolojik kısıtlamalar olan yenidoğanda, yetersiz beslenme sarılığın şiddetini ve süresini arttırabilir (2). Yetersiz beslenme gayta çıkışını azaltarak bilirubinün bağırsaklardan emilimini artmasına neden olur. Artmış bilirubin düzeyleri letarji ve emmede azalmaya yol açarak beslenme yetersizliğinin daha da şiddetlenmesine neden olabilir. Yetersiz beslenen yenidoğanda sarılık; dehidratasyon, malnutrisyon ve kernikterusla sonuçlanabilen yüksek bilirubin düzeylerini önlemek için erken tanınması ve tedavi edilmesi gereken ciddi bir durumdur (4).

II.B. Hemoliz

Yenidoğanlarda erişkinlere göre kırmızı kan hücresi ve bunların öncüllerinin yıkımı artmıştır. Ek olarak polisitemi, sefal hematoma ya da doğum travmasına bağlı yaygın ekimozlar hemolizi arttırabilir. Rh ya da ABO uyumsuzluğu gibi maternal antijenlere maruz kalma hemoliz için risk faktörleridir (4). Piruvat kinaz eksikliği gibi eritrosit glukoz metabolizmasında rol alan birçok enzimin herhangi birinin eksikliği eritrosit ömrünü kısaltarak hemolizi arttırabilir (13). Kalıtsal eritrosit membran defektleri (örn. herediter sferositoz) ve hemoglobinopatiler gibi hastalıklar için kullanılan tanı testlerinin yenidoğanda kullanımı oldukça güçtür. Bu hastalıklar uzamış sarılık ile kendilerini gösterebilir (14).

II.C. Glukoz 6-fosfat Dehidrogenaz Eksikliği:

Uzamış indirekt hiperbilirubinemi ile başvuran hastalarda glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliği mutlaka dışlanması gereken önemli bir durumdur. G6PD eksikliği dünya nüfusunun yaklaşık %4.9'unu etkilemekte ve Afrika, Asya, Akdeniz bölgesi ve Güney Amerika gibi yaygın coğrafi dağılım göstermektedir (15). X'e bağlı kalıtılmasına rağmen X kromozomunun değişken inaktivasyonuna bağlı olarak erkekler kadar kadınları da etkilemektedir. G6PD eksikliği olan bireylerde hastalık, stres, bazı ilaçlar (örn. sulfanomidler) ve bazı maddeler (bakla, naftalin v.b)

hemolitik krizi tetikleyebilir; bu nedenle hastalığın erken tanısı önemlidir (16,17).

Amerika Birleşik Devletleri'nde kernikterus izlemine alınan 125 bebeğin %20'sinde G6PD eksikliği saptandığı bildirilmiştir (18). Bu nedenle uzamış sarılıklı hastada G6PD eksikliği araştırması mutlaka yapılmalıdır. G6PD eksikliği olan hastalarda hiperbilirubinemi süreci heterojen olabilir. Hemolitik krizle gelen hastalarda hemoliz bulguları ile birlikte erken başlangıçlı ve ciddi bir hiperbilirubinemi görülebileceği gibi, hemoliz bulguları olmaksızın daha ılımlı bilirubin düzeyleriyle de hastalık kendini gösterebilir. Ancak G6PD eksikliğinde hemoliz bulguları olmadan da bilirubin düzeylerinin tehlikeli derecede yükselebileceği unutulmamalıdır (19-21).

II.D. Uridin Difosfat Glukronozil Transferaz 1A1 Muatsyonları:

Bilirubin konjugasyonundan sorumlu olan UGT 1A1 enzimini kodlayan gendeki mutasyonlar enzim aktivitesini düşürebilir. Birçok UGT 1A1 mutasyonu tanımlanmıştır. Bunların en ciddi şekli olan Crigler-Najjar Tip I Sendromu'nda enzim aktivitesi hiç yoktur ve bilirubin düzeyleri kernikterus ve ölüme neden olacak şekilde yüksektir. Crigler-Najjar Tip II'de ise bir kısım UGT 1A1 aktivitesi korunmuştur, bu hastalıkta bilirubin düzeyleri yüksek seyretse de nadiren fototerapi sınırını geçer (22).

II.E. Diğer Nedenler:

Normal bilirubin metabolizması olan ve hemoliz bulguları olmayan bebeklerde birçok başka durum uzamış sarılığa neden olabilir. Galaktoz-1-fosfat üridil transferaz eksikliğine bağlı oluşan galaktozemi uzamış sarılık ile kendini gösterebilir (23). Tam olarak mekanizması bilinmese de hipotirodizmin uzamış sarılıkla ilişkili olduğu bilinmektedir (24).

Pilor stenozu, anüler pankreas, duodonal ya da jejunal atrezi hastalarında da uzamış sarılık tanımlanmıştır (25,26).

Ek olarak, sepsis ya da üriner sistem enfeksiyonu olan bebeklerde uzamış konjuge olmayan bilirubinemi görülebilmektedir. Ancak sarılık bu hastalıklar için duyarlı ya da özgül değildir. Tam olarak kanıtlanmış olmasa da; seftriakson, diklosisilin ve sulfanomidler gibi bazı ilaçların bilirubini

albüminden ayırarak bilirubin konjugasyonunu bozduğu ve uzamış sarılığa neden olabileceği bildirilmektedir (27,28).

3. Anne Sütü Sarılığı

Anne sütü sarılığı, anne sütü ile beslenen ve diğer açıdan sağlıklı olan bebeklerde görülen uzamış bir indirekt hiperbilirubinemi tablosudur. Geç yenidoğan döneminden dört aya kadar devam edebilmektedir. Anne sütü sarılığı ailelerde ve pediatristlerde endişe yaratmaktadır. Çoğunlukla tedavi gerektirmeyen ve kendi kendine düzelen bir durum olmasına karşın, ciddi anne sütü sarılığında nadir de olsa bilirubin ensefalopatisi ve kernikterus görülebilmektedir. Anne sütünün içindeki birçok madde (pregnane-3 α , 20 β -diol, serbest yağ asitleri, β -glukronidaz v.b) sarılık gelişimi açısından suçlanmış, buna karşın anne sütü sarılığı etiyojisi halen tam olarak aydınlatılmamıştır (4,29).

Anne sütü sarılığı gelişimi mekanizmasını açıklayabilmek için birçok görüş ortaya atılmıştır. Hayvan modelleri anne sütünün enterohepatik dolaşımı arttırarak bilirubin emilimini hızlandırdığını ve bilirubin düzeylerinde yükselmeye neden olduğunu öne sürmektedir (30,31). Bir çalışmada anne sütü sarılığı olan bebeklerin serumunda ve anne sütlerinde sarılık olmayan bebeklere göre daha yüksek düzeylerde epidermal büyüme faktörü (EGF) saptanmış, EGF'nin bilirubin bağırsaklardan emilimini hızlandırdığı öne sürülmüştür (32). Bir başka çalışmada anne sütü sarılığı ile anne sütündeki interlökin düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmış, anne sütü sarılığı olan bebeklerin annelerinin sütlerinde IL-1 β düzeyleri daha yüksek saptanmıştır (33). Bir başka çalışmada anne sütü sarılığı olan hastalarda homozigot UGT 1A1*6 mutasyonu yüksek oranda saptanmış ve bu mutasyonun anne sütü sarılığının önemli bir nedeni olabileceği bildirilmiştir (29).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada anne sütü sarılığı olan bebeklerde gaytada *Bifidobacterium* içeriğinin daha az olduğu görülmüş, anne sütü ve fekal *Bifidobacterium* içeriğinin bilirubin düzeyleri ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir (5).

4. Normal Bağırsak Mikrobiyota Gelişimi

İnsan mikrobiyası 'insan vücudu içinde ya da üzerinde yaşayan bütün mikrobiyal yaşam formlarının toplamı' olarak tanımlanan mikrobiyal topluluktur. Mikrobiyotanın konak üzerinde birçok metabolik, nutrisyonel ve immünolojik etkileri bulunmaktadır. Sağlıklı konakla birlikte mikrobiyota da doğumdan ölüme kadar birçok değişim geçirerek konağın immün sistemi ile homeostatik bir denge içinde işlevini sürdürür. İnsan mikrobiyotasının doğumdan sonraki evrimi konağın immün sistemi gibi iç etkenlerle birlikte diyet, ilaç kullanımı, toksinler ve hastalıklar gibi dış etkenlere bağlıdır (34,35). İnsan mikrobiyotası içinde bağırsak mikrobiyotasının gelişimi ve sağlık üzerine etkileri önemli bir yer tutmaktadır (36).

Yenidoğanda mikrobiyota oluşumunun ilk ve en önemli basamağı maternal mikrobiyotanın vertikal geçişidir. Sindirim, solunum, ürogenital sistem mukozaları ve derinin kolonizasyonu doğumda ve hatta belki doğumdan önce bebeğin anne mikrobiyotası ile karşılaşması sonucu başlar. Daha önce fetüsün in utero ortamda steril olduğu ve doğuma kadar bakteri kolonizasyonu olmadığı düşünülse de, son yıllarda yapılan çalışmalarda mekonyum ve amniotik sıvının steril olmadığı, plasentanın patolojik olmayan kommensal bakterilerden oluşan bir mikrobiyota kaynağı olduğu öne sürülmektedir (36-39).

Doğumla birlikte başlayan kolonizasyonun kaynağı ise doğum sırasında yutulan annenin vajinal-fekal florası ve bebeğin çevresinde temas ettiği kişilerde olan mikroorganizmalardır. Florayı oluşturan bakterilerin türü ve miktarı annenin ve bebeğin beslenmesi, gebelik yaşı ve antibiyotik kullanımından da etkilenmektedir (40).

İnsan mikrobiyotası içinde gastrointestinal mikrobiota en fazla miktarda ve çeşitlilikte bakteri içeren sistemdir. Bağırsakların antenatal dönemde kolonize olmaya başladığına dair kanıtlar giderek artmaktadır. Bağırsak mikrobiyal florası esas olarak kolon ve distal ileumda bulunur (36). Bu sistem, konak ile simbiyotik ilişkiden oluşan kompleks bir ekosistemdir (41). Bağırsak florasını oluşturan bakteri sayısı insan vücudundaki toplam hücre sayısının on katı – yaklaşık 100 trilyon – kadardır. Bağırsak mikrobiyotasının %99'undan fazlasını anaerob

bakteriler oluşturur (42,43). Bu bakteriyel topluluk esas olan yaşamın ilk yılında kazanılan ve intestinal lümeninde kalıcı olan doğal türlerden, çevresel kaynaklardan alınan ve geçici olarak gastrointestinal sistemde kolonize olan mikroorganizmalardan oluşur (44). Gastrointestinal mikrobiyotada 1000'den fazla bakteri tanımlanmış olmasına karşın, ilginç olarak her bir birey bu tanımlanmış türlerin yalnızca %15'i ile kolonize olmaktadır. Bu da bireyler arasında bağırsak mikrobiyotasının önemli ölçüde değişken olmasına yol açar (35,45).

Yenidoğan döneminde bağırsakta ilk saptanan bakteriler fakültatif anaerob özelliktedir. Bu bakteriler zamanla bağırsaktaki oksijeni tüketirler ve bu nedenle anaerob bakteriler bağırsakta çoğalmaya başlar (46). Fakültatif anaerob bakterilerin (*Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*) varlığı emzirme ve memeden ayırma süreci boyunca devam etmektedir. Yaşamın 18-24 ayından itibaren bağırsak mikrobiyotası erişkine benzer şekilde oldukça yoğun, karmaşık ve anaerob bakteri hakimiyeti olan mikrobiyotaya dönüşmektedir (47). Term yenidoğanların yaşamının ilk haftasında bağırsaklar çoğunlukla *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* sınıfı bakterilerle kolonizedir (Tablo 1) (37,42). Bu bakterilerin bir kısmının kaynağının gebeliğin son dönemlerinde plasenta olduğu düşünülmektedir (37). Bağırsaklardaki bakteri kolonizasyonun gelişiminde bir çok faktör rol oynamaktadır.

Tablo-1: Yenidoğanlarda bağırsak florasını oluşturan türler (36)

SINIF	ANAEROBLAR	AEROBLAR	FAKÜLTATİF ANAEROBLAR
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Corynebacterium</i>	<i>Streptomyces</i>	
Proteobacteria		<i>Aceinetobacter</i>	<i>Ruminococcus</i> <i>Enterobacter</i> <i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Desulfovibrio</i>
Firmicutes	<i>Clostridium</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Eubacterium</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Veillonella</i>		<i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Enterococcus</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteriodes</i> <i>Prevotella</i>		

5. Normal Barsak Flora Gelişimine Etki Eden Faktörler

5.A. Gestasyon Yaşı

Preterm bebeklerde bağırsak kolonizasyonu, sezeryan doğum, anne ya da bebeğe verilen antibiyotikler, uzun süreli erken membran rüptürü, parenteral beslenme, enteral beslenmenin gecikmesi, GIS pasajının yavaşlaması, yoğun bakımda yüksek patojen bakteri yükü, meme ve anne sütü mikrobiyotasına maruz kalamamak gibi birçok faktör nedeniyle gecikmekte ve bozulmaktadır. Preterm bebeklerde term bebeklerinden farklı olarak bağırsak mikrobiyotalarında bakteriyel çeşitliliğin azaldığı, patojen bakterilerin daha fazla kolonize olduğu, ökaryot ve virüslerin de artığı görülmektedir (47).

5.B. Doğum Şekli

Vajinal yolla doğan bebeklerin bağırsak florası *Lactobacillus* ve *Prevotella* türü bakterilerden zengin olup annenin vajinal florasını yansıtmaktadır. Sezaryen ile doğan bebekler ise *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Propionobacterium* ve *Corynebacterium* gibi vajinal değil epidermal türlerle kolonize olmaktadır. Ayrıca bu bebeklerde vajinal yolla doğan bebeklere göre *Bacteroides* ve *Bifidobacterium* gibi anaeroblar daha az bulunmaktadır (36). Bu nedenle doğum şekli bebeğin mikrobiyotasının çeşitliliği ve fonksiyonu üzerinde önemli bir role sahip gibi görünmektedir. Bu etki doğumdan sonra aylarca hatta daha uzun sürebilmektedir. Bir çalışmada sezaryen ile doğan bebeklerde *Bacteroidetes* sınıfı bakterilerin kolonizasyonun bir yaşa kadar gecikebildiği ve bu bebeklerde mikrobiyal çeşitlilikte total bir azalma olduğu gösterilmiştir (48). Başka çalışmalarda ise sezaryen ve vajinal yolla doğan bebeklerin mikrobiyal kolonizasyonunda yedi yaşa kadar sürebilen süregen farklılıklar olduğu görülmüştür (49).

5.C. Beslenme Şekli

Beslenme şeklinin yenidoğan bebeklerin erken kolonizasyon şekli üzerine önemli etkisi mevcuttur. Sağlıklı ve anne sütü ile beslenen bebekler anne sütü ile birlikte *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türü bakterileri de alırlar (50). Anne sütünün içerdiği oligosakkaritler, glukoz konjugatları ve diğer bazı doğal antimikrobiyal maddeler enteropatojen bakterilerin çoğalmasını engelleyip *Bifidobacterium* ağırlıklı bir flora oluşmasına zemin hazırlar (35,51,52). Formül mama ile beslenen bebekler ise *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Lactobacillus* türü bakterileri içeren daha çeşitli bir mikrobiyota geliştirmektedir. İlginç olarak, anne sütü ile beslenen bebeklerde, az miktarda bile mama desteği mikrobiyotada formül mama ile beslenen bebeklerin florasına benzer değişiklikler oluşturmaktadır (53,54).

5.D. Çevresel Faktörler

Yenidoğan yoğun bakım ünitesine alınan bebeklerin çevresel faktörlerle bakteriyel floralarının değiştiği bilinmektedir. Hasta term veya preterm yenidoğan bebek yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırıldığında

bağırsak florasının *Coliform*, *Bacteriodes* ve *Clostridium* gibi patojenik mikroorganizmalarla kolonize olduğu bildirilmektedir (55).

5.E. Antibiyotik Kullanımı

Antibiyotik tedavisi *Enterobacteria* ve *Enterococcus* türlerinin artması ve *Bifidobacterium* miktarının azalması ile ilişkilidir. Bu değişiklikler tedavinin tamamlanmasından bir ay sonraya kadar devam edebilmektedir. Antibiyotik tedavisi normal bağırsak florasını bozar ve tür çeşitliliğini azaltır (56). Antibiyotik tedavisi alan yenidoğanlarda bağırsaklarda *Klebsiella spp.* türlerinde artış ve *Staphylococcus'* larla hızlı kolonizasyon olduğu görülmektedir (57).

V.F. Probiyotik ve Prebiyotik Kullanımı

Probiyotikler, uygun miktarda alındıklarında konak sağlığı üzerine olumlu etki sağlayan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik olarak en çok kullanılan bakteriler *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* türü bakterilerdir. Probiyotikler müsin üretimini arttırarak, bağırsak geçirgenliğini azaltarak, antimikrobiyal maddeler salgılayarak ya da immünmodülasyon yaparak patojen bakterilerin yerleşmesini önleyebilirler (58).

Prebiyotikler *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türü bakterilerin gelişimini selektif olarak uyaran, bağırsakta sindirilmeyen besin içerikleridir (59). Prebiyotik uygulanması fekal pH'ı düşürür, kısa zincirli yağ asidi miktarını arttırarak mineral emilimini arttırır (59,60). Prebiyotik katkısının bağırsakta *Bifidobacterium* miktarını arttırdığı gösterilmiştir.

6. Anne Sütü Mikrobiyal İçeriği

Anne sütü yenidoğan bebeklerin sağlıklı büyüme ve gelişmesi için en iyi beslenme seçeneğidir. Karbonhidrat, nükleotidler, yağ asitleri, immünglobulinler, sitokinler, lizozim, laktoferrin, poliaminler, canlı immün hücreler ve diğer immün düzenleyici maddeleri içermesinin yanı sıra bebek bağırsağı için sürekli bir bakteri kaynağıdır (58,61). Sağlıklı bir annenin sütü birçok farklı bakteri grubundan yaklaşık 10^9 /L bakteri içermektedir (62,63). Anne sütünden izole edilen çok çeşitli bakterilerin içinde potansiyel probiyotik özelliği olan *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus*

gasseri, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* gibi bakterilerin yanında bazı *Bifidobacterium* türleri de (*Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum vb*) bulunmaktadır (64,65).

6.A. Anne Sütünün Bakteriyel Çeşitliliği

Birçok çalışmada anne sütünün kommensal, mutualistik ve potansiyel olarak probiyotik özellik gösteren bakterilerin kaynağı olduğu gösterilmiştir (Tablo 2). Anne sütüyle beslenen bir bebek sürekli olarak canlı bakteri almaktadır. Bu nedenle, anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak mikrobiyotası kendi annelerinin süt florasını yansıtmakta, erişkinlere benzer çok çeşitli mikrobiyota süttten kesilme döneminde oluşmaya başlamaktadır (66).

Anne sütündeki bakteriyel çeşitliliğin ilk kanıtları kültür kullanılarak yapılan çalışmalardan oluşmaktadır. Bu çalışmalarda anne sütünde *Staphylococcus*, *Streptococcus*, laktik asit bakterileri ve *Propionibacterium* türlerinin dominant olduğu, bunlarla birlikte canlı *Bifidobacterium* türlerini içerdiği görülmüştür. Farklı ülke ve coğrafi bölgelerden annelerin sütlerinde aynı tür bakterilerin bulunması, bu bakterilerin insan meme bezinin doğal mikrobiyotası olduğunu, bakterilerin kontaminasyon olmadığını göstermektedir (61).

Birçok çalışmada *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacterium* ailelerine ait bakterilerin anneden bebeğe transfer edildiği saptanmıştır (61). Anne sütü bebek bağırsağı için çok çeşitli bakteri kaynağıdır. Anne sütü ile beslenen bebeklerin bu kadar zengin bir bakteriyel çeşitliliğe maruz kalmasının ishal ve solunumsal hastalıklar için koruyucu olduğu, uzun dönemde diyabet ve obezite gibi hastalıklar karşı koruyucu olabileceği ileri sürülmektedir (67,68).

Tablo-2. Anne sütünden izole edilen bakteri türleri (61).

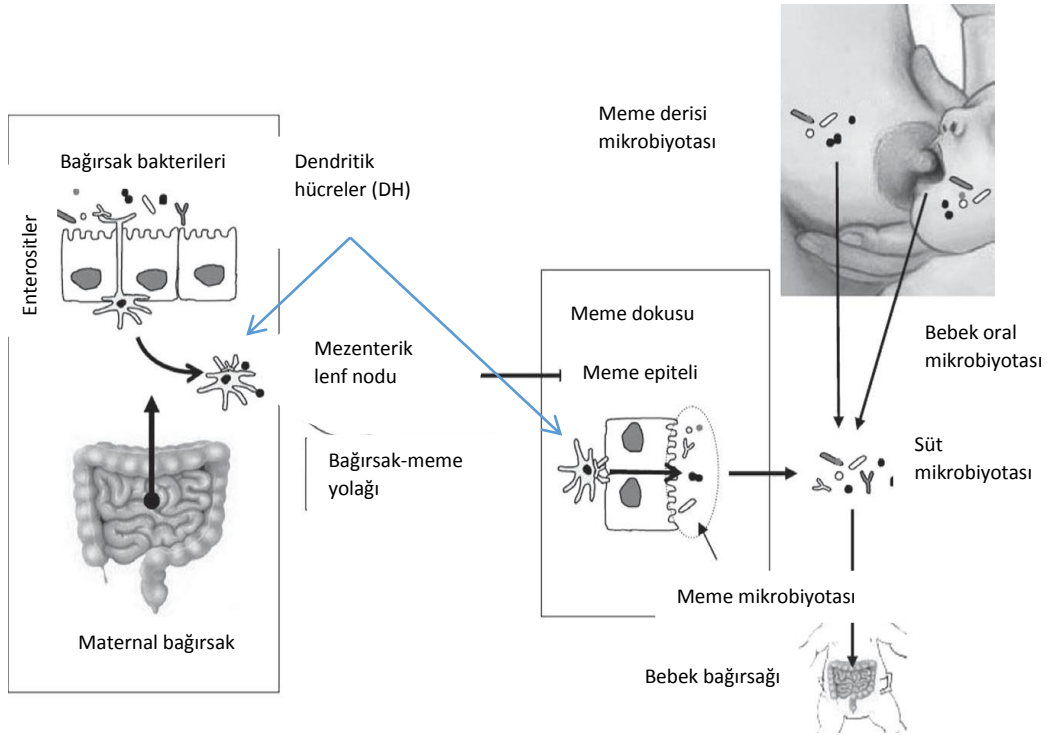
Metot	Türler
Bakteriyel İzolasyon	<i>L. acidophilus, L. fermentum, S. epidermidis, Str. mitis, Str. salivarius, L. plantarum, S. epidermidis, Streptococcus spp., E. faecium, L. gasseri, E. faecalis, L. crispatus, L. rhamnosus, Lc. lactis, Leuc. mesenteroides, R. mucilaginoso, S. aureus, S. capitis, S. hominis, Str. oris, Str. parasanguis, Corynebacterium spp., Enterococcus spp., Lactobacillus spp., Peptostreptococcus spp., L. reuteri, B. adolescentis, B. bifidum, B. breve, B. longum, K. rhizophila, L. casei, L. vaginalis, P. pentosaceus, R. mucilaginoso, E. durans, E. hirae, E. mundtii, L. animalis, L. brevis, L. helveticus, L. oris, P. pentosaceus, Str. australis, Str. gallolyticus, Str. vestibularis</i>
DNA saptanması	<i>E. faecalis, E. faecium, L. fermentum, L. gasseri, L. rhamnosus, Lc. lactis, Leuc. citreum, Leuc. fallax, Prop. acnes, S. epidermidis, S. hominis, Str. mitis, Str. parasanguis, Str. salivarius, W. cibaria, W. confusa</i> <i>B. longum, Clostridium spp., Lactobacillus spp., Staphylococcus spp., Streptococcus spp.</i> <i>B. adolescentis, B. animalis, B. bifidum, B. breve, B. catenolatum, B. longum</i> <i>Enterococcus spp., Lactobacillus spp., Staphylococcus spp., Streptococcus spp.</i> <i>Bradyrhizobiaceae, Corynebacterium spp., Propionibacterium spp., Pseudomonas, Staphylococcus spp., Streptococcus spp.</i>

6.B. Anne Sütü Mikrobiyotasının Kaynağı

Bakterilerin anne sütüne ulaşma mekanizmasına ait bilgilerimiz son yıllarda değişmiştir. Daha önceki yıllarda anne sütünün bebeğin ağızındaki

ve annenin cildindeki bakterilerle kontamine olduğu düşünülmekteydi; ancak araştırmalarda emzirme sırasındaki süt geri akışının çok az olduğu görüldü. Bir başka teori ise bebeklerin bağırsak florasının çok büyük bir kısmını vajinadan aldığı yönündedir. Bununla birlikte bebeklerin bağırsak mikrobiyotasının vajinal floradan çok anne sütü ile benzerlik gösterdiği görülmüştür (69).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda bağırsak lamina propriasındaki dendritik hücrelerin bağırsak lümeninden bakterileri alarak kan akımı yoluyla uzak organlara taşıyabildiği gösterilmiştir (70,71). Bu çalışmalar sonucu maternal bakterilerin bağırsak epitelini aşarak meme bezlerine göç ettiği bir endojen yol olarak bağırsak-meme yolağı (Şekil 1) hipotezi ortaya atılmıştır (69). Daha sonra yapılan çalışmalarda, anne sütü ve maternal periferik mononükleer hücreler arasında benzer bakteriyel DNA saptandı ve bakterilerin intraselüler olarak bağırsaktan meme bezine taşındığı gösterildi (72). Spesifik bakteri türlerinin izolasyonu ile yapılan kültür-bağımsız çalışmalarda maternal bağırsak ve bebek bağırsağı arasında *Bifidobacterium* transferi (73), anneye oral olarak verilen *Lactobacillus spp.* bakterilerin anne sütüne geçtiği (74) gösterildi.



Şekil-1. Bağırsak-meme yolağı (69).

6.C. Anne Sütündeki Bakterilerin Fonksiyonları

Anne sütündeki bakterilerin bebek bağırsağında birçok işlevi vardır. Bakteriler besinler için yarışma, antimikrobiyal madde üretimi, müsin üretimini arttırma ve bağırsak geçirgenliğini azaltma gibi farklı mekanizmalarla enfeksiyon sıklığı ve şiddetini azaltmaktadır (61,69). Anne sütündeki kommensal *koagülaz-negatif Staphylococcus* ve viridans streptokokların *Stafilococcus aureus* ve metisilin dirençli *S.aureus* kolonizasyonunu engellediği gösterilmiştir (61).

Anne sütündeki *Lactobacillus* türleri gibi bazı türlerin doğal ve kazanılmış bağışıklık yanıtlarını düzenleme etkisi olduğu saptanmış ve anne sütünün bebeğin bağışıklık sisteminin doğru gelişimini olumlu yönde etkilediği görülmüştür (75). Bu etki bağırsaktaki mikro çevrenin durumuna göre esneklik de gösterebilmektedir. İnflamatuar uyarı olmadığında *Lactobacillus salivarius* CECT 5713 ve *Lactobacillus fermentum* CECT 5716' nın IL-2, IL-12 ve TNF- α gibi Th1 sitokinlerinin yapımını uyardığı; buna karşın lipopolisakkarit varlığında Th1 sitokinlerinin yapımında azalmaya neden oldukları görülmüştür (75). Bu bakteriler NK hücrelerini, CD4+ ve CD8+ T hücrelerini ve düzenleyici T hücrelerini aktive ederek hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık üzerine etki etmektedir. Bu suşlar aynı türün anne sütü dışı bir kaynaktan izole edilen diğer suşları ile karşılaştırıldığında, anne sütünde bulunan suşların IL-10 ve IL-1 üretimini daha fazla etkilediği görülmüştür (61).

Anne sütünde bulunan *L gasserii*'nin inek sütü allerjisinde alerjik yanıtı azalttığı, atopik bebeklerde bağırsaktaki viridans streptokokların sağlıklı bebeklerinkinden daha az olduğu görülmüştür (76,77).

Anne sütü bakterilerinin bebeklerde birçok metabolik etkisi de saptanmıştır. Anne sütünden izole edilen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri bebek bağırsağında spesifik ve sağlıklı bir mikrobiyota oluşmasına katkıda bulunur . Bu mikroorganizmalar şeker ve protein yıkımına yardımcı olarak bebeğin sindirimine katkıda bulunur. Anne sütündeki *Lactobacillus* türleri kolonositler için enerji kaynağı olan bütirat gibi fonksiyonel metabolitlerin yapımını arttırarak ve bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesine katkıda bulunur. Fekal su içeriğini, dışkı sıklığı ve volümünü arttırarak bağırsak alışkanlıklarını düzenlerler (61).

7. Probiyotikler

7.A. Tanım

Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre probiyotikler, uygun miktarda alındıklarında konağın sağlığı üzerinde olumlu etki sağlayan canlı mikroorganizmalardır (36). Yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde probiyotikler nekrotizan enterokolitin (NEK) önlenmesi, viral gastroenterit, atopik hastalıklar, infantil kolik ve kritik hasta yenidoğanlarda bağışıklık aktivitesini arttırmak için kullanılmaktadır (78-80). NEK, bu alanda en fazla araştırılmış hastalıktır. Probiyotik desteğinin prematüre bebeklerde NEK sıklığını ve şiddetini azalttığı gösterilmiştir (81,82). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* yenidoğan döneminde en sık kullanılan probiyotik türleridir. *Streptococcus thermophilus* ve *Saccharomyces boulardii* de diğer sıklıkla kullanılan mikroorganizmalardır (36).

Erken bebeklik döneminde bağırsak mikrobiyotasının içeriğini etkileyen birçok değişken vardır. Sezaryen ile doğan bebeklerde normal doğan bebeklere göre daha düşük *Bifidobacteria* ve *Bacteriodes* saptanır ve *Clostridium difficile* kolonizasyonu artar. Prematürite, hastanede yatış öyküsü ve formül mama ile beslenme de *E.coli* ve *C.difficile* kolonizasyonunu arttırır. Sindirim sistemi tüm patojenler için en önemli kolonizasyon rezervuarıdır. Probiyotikler, gastrointestinal kolonizasyon ve bağırsak florasının doğal bir modifikasyonu yoluyla işlev gösterirler (6). Sıkça kullanılan probiyotik türleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo-3: Probiyotik türleri

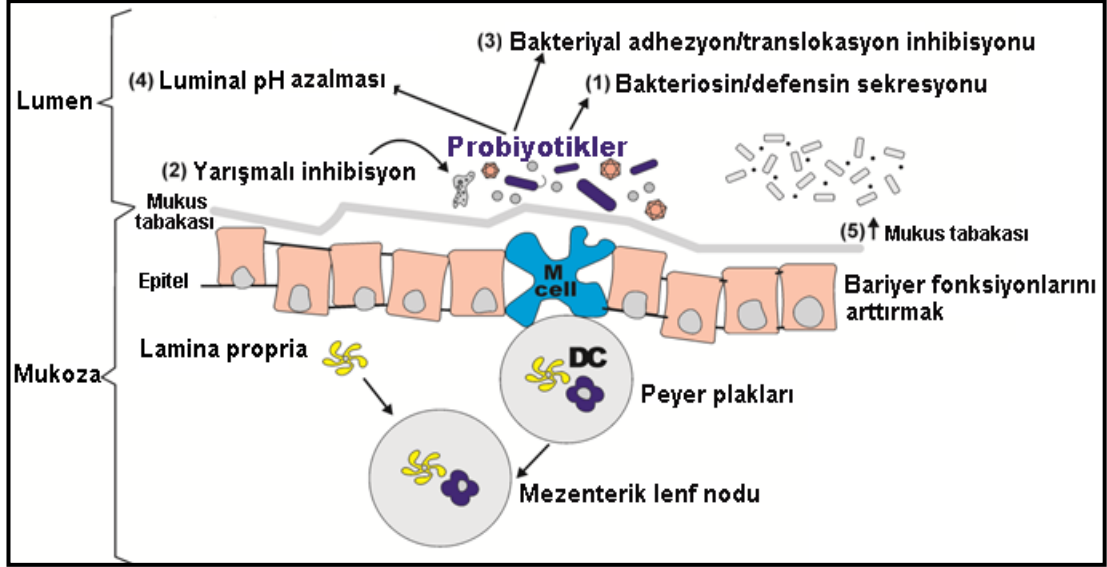
<p>Laktobasilli</p> <p><i>L. asidophilus</i></p> <p><i>L. casei, subsp. rhamnosus</i></p> <p><i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i></p> <p><i>L. reuteri</i></p> <p><i>L. brevis</i></p> <p><i>L. cellobiosus</i></p> <p><i>L. curvatus</i></p> <p><i>L. fermentum</i></p> <p><i>L. plantarum</i></p> <p><i>L. gasseri</i></p> <p><i>L. paracasei</i></p>	<p>Bifidobacteriumia</p> <p><i>Bifidobacterium lactis</i></p> <p><i>B. bifidum</i></p> <p><i>B. infantis</i></p> <p><i>B. adolescentis</i></p> <p><i>B. longum</i></p> <p><i>B. animalis</i></p> <p><i>B. thermophilum</i></p>
<p>Mayalar</p> <p><i>Saccharomyces boulardii</i></p> <p><i>S. cerevisiae</i></p>	<p>Gram pozitif koklar</p> <p><i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i></p> <p><i>Streptococcus subsp. thermophilus</i></p> <p><i>Enterococcus faecium</i></p> <p><i>S. diacetyllactis</i></p> <p><i>S. intermedius</i></p> <p><i>S. salivarius</i></p>

7.B. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Probiyotik bakterilerin konak üzerinde çok sayıda ve değişken etkisi vardır (Tablo 4). Bu mikroorganizmalar bağırsak lümeni koşullarını, mukozal bariyer işlevini ve mukozal bağışıklık sistemini etkilemektedir. Etkilerini epitelyal hücreler, dendritik hücreler, monosit/makrofajlar, B hücreleri, T hücreleri ve NK hücreleri gibi çok farklı hücreleri etkileyerek gösterirler (83). Probiyotik etki mekanizmasının basit bir özeti Şekil 2’de görülmektedir.

Tablo-4: Probiyotik etki mekanizması (83)

<p>Patojen mikroorganizmaların üremesine engel olur</p> <ul style="list-style-type: none">• Bağırsak pH'ını düşürür• Bakterisidal patojenler salgılar• Paneth hücreleri ve epitel hücrelerinde defensin yapımını uyarır• Kolonizasyona direnç gösterir (ekolojik nişleri kaplayarak)• Nitrik oksit yapımını artırır
<p>Patojenlerin epitele tutunma ve epiteli istila etmesine engel olur</p> <ul style="list-style-type: none">• MUC2'yi uyararak tutunmalarına engel olur• Mukus yapımını uyarır• Rho'ya bağımlı ya da bağımsız yollarla epitelin istilasını önler
<p>Epitel ve mukozanın engel oluşturma işlevini güçlendirir</p> <ul style="list-style-type: none">• Bütirat da dahil kısa zincirli yağ asitleri oluşturur• Mukus yapımını artırır• Engel oluşturan kısımların bütünlüğünü artırır
<p>Konakçının immun yanıtını değiştirir</p> <ul style="list-style-type: none">• IL-10, TGF-beta ve Cox2 (PGE₂) ekspresyon ve salınımını artırır• Salgısal IgA yapımını artırır• TNF ve IFN-gama ekspresyonunu azaltır• Regülatuar T hücrelerini aktive eder• Natural killer hücre aktivitesini artırır• Dendritik hücre fenotip ve işlevlerini düzenler• PPAR-gama'yı uyarır• Apoptozu düzenler
<p>Genetik mühendislik</p> <ul style="list-style-type: none">• IL-10 ekspresyon ve salgılanmasını sağlar



Şekil-2: Probiyotiklerin etki mekanizması (84)

7.B.a. Bağırsak Mikrobiyotasının Modifikasyonu

Probiyotik bakteriler bağırsak pH'sını düşürerek, bakteriyel yapışma ve translokasyonu engelleyerek ve antibakteriyel maddeler üreterek patojen bakterileri antagonize ederler. Patojenik bakterilerin kolonizasyonunu önleme mekanizmalarından biri düşük pH, redoks potansiyeli ve hidrojen sülfid üreterek fizyolojik olarak elverişsiz bir ortam yaratmaktır. Shiga-toksini üreten bir *E.coli* türü ile enfekte edilmiş hayvan modelinde, probiyotik *B. breve* yüksek konsantrasyonda asetik asit üreterek pH'ı düşürmüştür (84).

Bakteriosin olarak adlandırılan antimikrobiyal maddelerin üretimi probiyotik bakterilerin yararlı etkilerinden biridir. *Lactobacillus* sınıfı bakterilerin ürettiği birçok bakteriosin tanımlanmıştır (85). Bu bakteriosinlerin antimikrobiyal etkisi değişkendir; bazıları diğer *Lactobacillus* türlerini ve taksonomik olarak yakın gram pozitif bakterileri inhibe ederken, diğerleri *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Listeria* ve *Salmonella* gibi çok çeşitli bakterilerle birlikte maya hücrelerini de öldüren geniş spektrumlu bir etkinliğe sahiptir. *Lactobacillus* sınıfı bakterilerin ürettiği bazı bakteriosinlerin *C.difficile* ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonlarını engellediği de gösterilmiştir (84,86).

Probiyotikler *E.coli* O157:H7 ve *E.coli* O127:H6 maruziyeti sonrası gelişen epitel hasarını azaltmaktadır. Bağırsaktaki T84 hücrelerinin laktik

asit üreten probiyotiklerle karşılaştırılması, patojen *E.coli*'nin hücre içine virulans faktörlerini sokması ve intraselüler tight-junctionları geçmesini azaltmaktadır (87). Birçok çalışmada probiyotiklerin patojen bakterilerin epitele tutunmasını azalttığı gösterilmiştir (88,89).

7.B.b. Bariyer Fonksiyonunun Arttırılması

Patojen organizmaların üremesini engellemeye ek olarak probiyotik bakteriler, hücre iskeletindeki ve tight-junction proteinlerinin fosforilasyonu yoluyla mukozal hücre etkileşimlerini ve hücresel dayanıklılığı da etkiler. Bağırsak bariyer fonksiyonu mukus salgılanması, su ve klor salgılanması ve epitel hücrelerinin bazı proteinlerle birbirine bağlanması gibi birçok birbiri ile ilişkili sistem ile sağlanır. Epitelyal bariyer fonksiyonu bağırsak enfeksiyonları, inflamatuvar bağırsak hastalığı, çölyak hastalığı ve bazı otoimmün hastalıklarda bozulmaktadır (84).

Probiyotik bakteriler tarafından bariyer fonksiyonlarının iyileştirilmesi hayvan modellerinde in vitro ve in vivo olarak gösterilmiştir. Fare bağırsak dokusunda ölçülen transepitelyal potansiyeller, kısa devre akımlar ve mannitol fluxları probiyotiklerin bariyer sağlamlığını arttırdığını; T84 hücre kültürlerinde ise probiyotik bakterilerin tek-katman geçirgenliği azalttığı saptanmıştır (90-91). Probiyotiklerin mukozal bariyer fonksiyonunu arttırma mekanizması tam olarak açıklanamamıştır, epitel hücrelerinin mukus ve klor sekresyonunu düzenleyerek ya da tight-junction proteinlerinin ekspresyonunu arttırarak olduğu düşünülmektedir (84).

Bazı probiyotik bakteriler MUC geni ekspresyonunu ve mukus salgılanmasını etkiler. Örneğin *L. plantarum* 299v'nin HT-29 epitel hücreleri ile inkube edildiğinde MUC2 ve MUC3 genlerinin mRNA ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (92). *VSL#3* ve *E.coli Nissle suşu* MUC2, MUC3 ve MUC5AC gen ve protein ekspresyonunu arttırır (93). *S. thermophilus* ve *L.acidophilus*' un *E.coli* ile indüklenmiş epitel dokusunda klor ve su sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir (94).

Tight-junction (TJ) proteinleri fonksiyonel durumlarına göre yapısal değişikliğe uğrayabilen dinamik yapılardır. Epitel hücrelerinde TJ proteinlerinden zonula occludens-1 (ZO-1) *S. dublin* gibi patojenik bakterilerin varlığında yapısal değişikliğe uğrar. *VSL#3* probiyotiklerinin bu

epitel hücrelerinde ZO-1 dağılımını engellediği ve bariyer fonksiyonunu devam ettirdiği görülmüştür (93). Probiyotik bakterilerin hücre iskelet yapısının korunmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Hücre iskeleti üzerinde başka probiyotik bakterilerin farklı etkileri vardır. Örneğin, *L.acidophilus* patojen bir *E.coli* suşunun neden olduğu F-actin bozulmasını engeller (95). *S. thermophilus* ve *L.acidophilus* epitel hücrelerinde aktinin ve okludin proteinlerinin yapımını artırır (94). *E.coli* Nissle 1917 suşu T84 epitelyal hücre katmanlarında enteropatik *E.coli*'nin neden olduğu parçalayıcı etkiyi önlemektedir. Bu etki, protein C kinaz yolunun değiştirilmesi ve epitelyal TJ fonksiyonunda önemli yer tutan zonula occludens-2'nin ekspresyonunun artırılması yoluyla olmaktadır (96).

7.B.c. İmmünmodulasyon

Bağırsaklar önemli bir bağışıklık organıdır. Bağışıklık sisteminde görev alan B hücrelerinin yaklaşık %80'ini ve T hücrelerinin %60'dan fazlasını bağırsaklar barındırır. Bağırsak ile ilişkili immün sistem organize (Peyer plakları ve lenf nodları) ve diffüz lenfoid doku olarak ikiye ayrılır. Peyer plakları antijenlere bağırsak mukozasının diğer kesimlerinden daha geçirgendir. Bununla birlikte, yüzeye yakın olan özelleşmiş transport hücreleri, M hücreleri ve dendritik hücreler bağırsak lümenindeki mikroorganizmaların ve çözülmüş antijenlerin aktif olarak alınmasından sorumludur. Bu hücrelerin lenfoid foliküllere yakın olması optimal antijen örneklenmesini ve uygun bir immün yanıtın oluşmasını (proinflamatuvar yanıt ya da tolerans) mümkün kılar. Bağırsak lamina propriasındaki diffüz lenfoid doku aktive olmuş CD4+ ve CD8+ T hücrelerini, bazı düzenleyici T hücrelerini, bellek B hücrelerini ve IgA üreten plazma hücrelerini içerir. İntraepitelyal lenfositler çoğunlukla CD8+ tipindedir (97).

Dendritik hücreler (DH) bakterileri tanıyan ve sonrasındaki T-hücre yanıtını şekillendiren antijen sunucu hücrelerdir. Bağırsaktaki DH, IL-10 ve TGF β gibi sitokinler salgılayarak düzenleyici T-hücreleri ve IgA üreten B hücreleri yoluyla oral toleransın gelişmesine katkıda bulunur (84). DH ile yapılan birçok hayvan ve insan çalışmasında probiyotik bakterilerin IL-10 düzeylerini arttırdığı; IL-12, IL-1 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerini ise azalttığı gösterilmiştir (98-103). Bu çalışmalar

probiyotiklerin antijen sunan hücreleri etkileyerek anti-inflamatuar bir yanıt oluşmasını sağladıklarını düşündürmektedir.

Probiyotik bakteriler B lenfositlerin potansiyel olarak zararlı antijenlere karşı olan yanıtını düzenleyerek yararlı etkiler gösterebilir (84). Örneğin, akut gastroenteritli çocuklarda *L. rhamnosus* verilmesinin dolaşımdaki lenfositlerden IgG, IgA ve IgM salgılanmasını artırarak non-spesifik bir hümmoral bağışıklık yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir (104). Hayvanlarda yapılan deneylerde *B.bifidum*' un ovalbumine karşı, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *B. bifidum* ve *B. infantis*' in kolera toksinine karşı IgA yanıtını arttırdığı saptanmıştır (105).

Bakterilere karşı gelişen T hücre yanıtı DH'ler ve T hücreleri arasındaki ilişkiye göre düzenlenir. İnsanlarda bazı probiyotik bakterilerin DH tarafından IL-10 yapımını uyararak Th1 hücrelerinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (98). Bir çalışmada monosit türevi DH'ler *L. rhamnosus* ile kültür edildiğinde T hücre proliferasyonunda azalma ve IL-2, IL-4 gibi T hücre sitokinlerinin yapımında düşme saptanmıştır (106).

Epitelyal hücrelerin kommensal ya da probiyotik bakterilerle patolojik bakterileri birbirinden ayırt etmesinde, sinyal transdüksiyonu ve sitokin üretimi düzeyinde farklılıklar vardır. Patojenik bakteriler NF- κ B gibi transkripsiyon faktörleri yoluyla proinflamatuar bir yanıt oluştururken, patojen olmayan türlerin farklı transkripsiyon faktörleri üzerinden inflammatuar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (84). Probiyotik bakteriler aynı zamanda apoptozu engelleyerek epitelyal iyileşmeyi hızlandırabilir. Bir çalışmada *L. rhamnosus* GG varlığında sitokin ile indüklenmiş apoptozun engellendiği gösterilmiştir (107). Fare ya da insan kolon hücrelerinin probiyotik bakteriler ile kültür edilmesi, anti-apoptotik Akt/protein kinaz B'yi etkinleştirmekte ve pro-apoptotik p38/mitojen protein kinazı inhibe etmektedir. Apoptozun engellenmesi bağırsak epitelinin yaşam süresini uzatmakta ve iyileşme sırasında proliferasyonu uyarmaktadır (84).

7.C. Uygulama Alanları

Probiyotikler başlıca gastrointestinal sistemin sağlığını koruma ve geliştirmede, bazı gastrointestinal hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun yanında literatürde probiyotiklerin birçok sistem üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir.

Probiyotikler prematüre yenidoğanlarda nekrotizan enterokolitin (NEK) önlenmesinde kullanılmaktadır.. Birçok çalışmada probiyotik kullanımının gastrointestinal sistemde kolonizasyonu ile preterm yenidoğan bebekleri NEK ve sepsisten koruduğu bildirilmiştir (81,82). NEK'ten korumanın yanı sıra prematüre bebeklerde probiyotik desteğinin beslenmeyi iyileştirdiği, kilo alımını arttırdığı ve hastanede kalış süresini kısalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (108,109).

Probiyotiklerin bir çok sistem üzerine de olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir. Probiyotiklerin kullanıldığı durum ve hastalıklar arasında viral gastroenteritler, antibiyotik ilişkili ishal, infantil kolik, inflamatuvar barsak hastalıkları, besin allerjileri, kontakt dermatit, diş çürükleri, vajinal kandidiyazis, üriner sistem enfeksiyonları, operasyonlardan sonra enfeksiyon profilaksisi, toksik karaciğer zedelenmeleri bulunmaktadır (40,110,111).

Rutin olarak kullanıma girmemiş olsa da probiyotiklerin yenidoğan sarılığında da etkin olabileceğine dair çalışmalar vardır. Bir çalışmada 1500 gram veya 32 haftanın altındaki bebeklere *S. boulardii* oral olarak verilmiş ve probiyotik verilen grupta hem beslenme intoleransının daha az olduğu hem de fototerapi süresinin daha kısa olduğu görülmüştür (112). Term bebeklerde yapılan başka bir çalışmada ise anne sütü sarılığı olan ve olmayan bebeklerin anne sütü ve gaita içerikleri karşılaştırılmış, anne sütündeki *B. bifidum* ve fekal *B. bifidum*, *B. adolescentis* ve *B. longum* konsantrasyonları ile bilirubin seviyeleri arasında ters korelasyon bulunmuştur (5). Bu çalışmalar probiyotik desteğinin sarılık süre ve şiddetini azaltmak için kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Biz çalışmamızda, anne sütü mikrobiyal içeriğinin anne sütü sarılığı gelişiminde etkili olabileceği hipotezinden yola çıkarak, anne sütü ve bebek intestinal probiyotik bakteri içeriğinin anne sütü sarılığı gelişimi ve anne sütü sarılığı gelişen hastalarda probiyotik tedavisinin sarılık seyri üzerine olan etkisini araştırmayı planladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi yenidoğan polikliniğine uzamış sarılık nedeniyle başvuran, miad ve miada yakın doğmuş, ağırlıklı olarak anne sütü ile beslenen ve yaşamın 14. gününden sonra gözle görülür sarılığı devam eden bebekler ile kontrol grubu olarak aynı demografik özelliklere sahip sklera ve ciltte gözle görülen sarılığı olmayan bebekler alındı.

Bu çalışma için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Etik Kurulundan onay alındı (Etik Kurul Karar No: 2013-16/10). Bebeklerin ebeveynlerine bilgi verilerek Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formunu okuyarak imzalayan ailelerin bebekleri çalışmaya alındı.

1. Anne Sütü Sarılığı Tanısı ve Olguların Seçimi

Postnatal 15. gün ve üzerinde olup klinik olarak sarılığı devam eden hastalarda öncelikle uzamış sarılık etiyolojisinde rol oynayabilecek anne sütü sarılığı dışındaki nedenler dışlandı. Bu amaçla aşağıdaki tetkikler uygulandı:

- a. Serum total, direkt ve indirekt bilirubin düzeyleri
- b. Tam kan ve retikülosit sayımı
- c. Kan grubu tayini ve direkt coombs testi
- d. Tam idrar analizi, idrar kültürü
- e. Tiroid fonksiyon testleri (Serbest T4 ve TSH)
- f. G6PD enzimi
- g. İdrarda redüktan madde

Uzamış sarılığa yönelik tetkikleri normal saptanan ve anne sütü sarılığı tanısı alan hastalar çalışmaya alındı. Hipotiroidi, immün ve non-

immün hemoliz, idrar yolu enfeksiyonu tanısı alanlar, maternal ya da neonatal antibiyotik kullanım öyküsü olanlar ve tartı alımı yetersiz bebekler çalışma dışı bırakılarak toplam 77 anne sütü sarılığı tanısı alan hasta çalışmaya dahil edildi. Klinik olarak sarılığı olmayan, antibiyotik kullanım öyküsü olmayan ve ağırlıklı olarak anne sütü ile beslenen 35 bebek ise kontrol grubu olarak alındı. Sarılığı olan ve olmayan tüm bebeklerden gayta ve annelerinden anne sütü örneği alındı. Sarılığı olan bebeklerin 37'sine randomize olarak bir hafta boyunca günde bir kez kullanılmak üzere *Lactobacillus rhamnosus* (4.1×10^8 CFU) + *Lactobacillus casei* (8.2×10^8 CFU) + *Lactobacillus plantarum* (4.1×10^8 CFU) + *Bifidobacterium animalis* (4.1×10^8 CFU) (NBL probiyotik®) içeren probiyotik preparatı başlandı. Tüm bebekler bir hafta sonra kontrolde görüldü. Sarılık grubunda olan tüm bebeklerin kontrolde bilirubin düzeyleri tekrar çalışıldı ve ikinci gayta örneği alındı. Tüm anne sütü ve gayta materyalleri -20 derecede saklandı. Çalışmaya alınan tüm bebeklerin anne yaşı, annedeki sağlık sorunları, doğum haftası, doğum ağırlığı, doğum şekli, beslenme şekli, anne sütü ve gayta örneklerinin alındığı tarihteki yaşı, ilk ve bir hafta sonraki bilirubin düzeyleri, bir hafta içindeki kilo alımları ve beslenme intoleransı varlığı kaydedildi.

Alınan anne sütü ve gayta örneklerinden real-time PCR yöntemi ile *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *B. longum*, *B. bifidum* ve *B. adolescentis* bakterilerine ait kantitatif DNA eldesi yapıldı. Sarılığı olan ve olmayan bebekler arasında başvurudaki anne sütü ve gayta bakteri içeriği karşılaştırıldı. Probiyotik desteği verilen ve verilmeyen hastalar arasında bilirubin düşüş hızı, kilo alımı ve gayta bakteri içeriğindeki değişim karşılaştırıldı.

2. Örnek Toplanması

Çalışma kriterlerini karşılayan hasta annelerinden her iki göğsünden sütün tamamı sağılarak içerisinden 5 cc steril tüp içine alındı. Bebeklerden steril kaba gaita numunesi alınarak örnekler DNA eldesi ve PCR analizi yapılmaya kadar -20 °C'de dondurularak saklandı.

3. DNA Eldesi

Çalışma öncesinde süt örnekleri hızla eritilerek, DNA eksresyonu Clement ve Kitts metoduna göre, Ultra Clean Soil DNA izolasyon kiti (Mo Bio Laboratories, CA, USA) kullanılarak yapıldı. Fekal örnekler (0.1 gr) ve anne sütü (5 ml) 5 ml'lik tamponda (10 mM Tris-HCL ve 50 mM EDTA, PH 7,5) tutularak aynı tamponda 4 kez yıkandı. Daha sonra fekal ve anne sütü örnekleri 0,5 mg/ml lizozim ve 0,08 mg/ml N-asetilmuramidaz içeren 5 ml'lik solüsyonda tutuldu. Hücre lizizi için 37°C'de 30 dakika inkübe edilerek DNA ekskresyonu ve purifikasyonu yapıldı.

4. PCR Analizi.

RNase-DNase free tüplere toplanan süt ve gaita örnekleri izolasyon yapıncaya kadar -80°C'de saklandı. Örneklerden mikrobakteriyal DNA izolasyonu süt için High Pure PCR Template Preparation Kit® (Roche, Germany), gaita için ZR Fecal DNA MiniPrep™ (Zymo, U.S.A.) kullanılarak yapıldı.

Gaitadan mikrobakteriyel DNA izolasyonu için kitin kullanma kılavuzunda belirtilen protokol kullanıldı. Sütten mikrobakteriyel DNA izolasyonu için ticari bir kit bulunmadığından High Pure PCR Template Preparation Kit'in liziz basamağı modifiye edildi. 200 µl süt örneği 3000 rpm'de RNase-DNase tüplerde santrifüj edildikten sonra süpernatantları atılıp dipte kalan pellet üzerine 5 µl Lysozyme (Roche, Germany) ve 200 µl RNase-DNase free su ilave edilip pipetaj ile homojenize hale getirildi ve 37°C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı. 15 dakika sonunda tüp içerisinde bulunan örneğin tamamı kullanılarak kitin kullanma kılavuzunda belirtilen protokol ile DNA izolasyonu yapıldı.

Mikroorganizmanın Real-Time PCR ile deteksiyonu için UPL (Roche, Germany) taqman problemleri ve bu problemlerin içine alan spesifik primerler (Genmar R&D, Turkey) kullanıldı. Real-Time PCR için kullanılan miks ve PCR koşulları tüm organizmalar için ortak dizayn edildi. Sonuçlar Real-Time PCR çalışmasının yapıldığı LightCycler 480 II (Roche, Germany) cihazının analiz programı kullanılarak "Abs Quant/2nd Derivative Max" metodu ile Crossing Point (Cp) değeri olarak hesaplandı. Elde edilen Cp değerleri konsantrasyonu bilinen DNA örnekleri

kullanılmadığı için kantitatif olarak değerlendirilemedi ve Real-Time PCR sonucu olarak elde edilen Cp değerlerinin DNA konsantrasyonu ile ters orantılı olmasından dolayı elde edilen Cp değerleri 100/Cp olarak istatistiksel analizde kullanılacak hale dönüştürüldü.

5. İstatistiksel Analiz

Verinin istatistiksel analizi SPSS 22.0 istatistik paket programında yapıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren veriler için iki grup karşılaştırmalarında t-testi, ikiden fazla grup karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi uygulandı. Normal dağılmayan veriler için iki grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi ve ikiden fazla grup karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kruskal Wallis testi sonrasında anlamlı bulunan sonuçlar için Dunn test uygulandı. Tek yönlü varyans analizi sonrasında anlamlı bulunan sonuçlar için çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey testi kullanıldı. Bağımlı grupların karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret sıra testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon katsayısı ile incelendi. Kategorik verinin incelenmesinde Pearson ki-kare testi, Fisher'in kesin ki-kare testi ve Fisher-Freeman-Halton testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 112 hasta alındı. Bu hastaların 77'si anne sütü sarılığı olan hastalardı. Sarılığı olan hastaların 37'sine probiyotik desteği verildi. Sonuç olarak tedavi almayan sarılık grubu (n=40), probiyotik tedavisi alan sarılık grubu (n=37) ve kontrol grubu (n=35) olmak üzere üç grup oluşturuldu.

Olguların %55.4'ü erkek (n=62), %44.6'sı (n=50) kızdı. Tüm olgular ele alındığında ortalama doğum ağırlığı 3186.2±447.8 gr, ortalama doğum haftaları 38.1±1.5 hafta ve ortalama başvuru yaşı 26.4±10.8 gün saptandı.

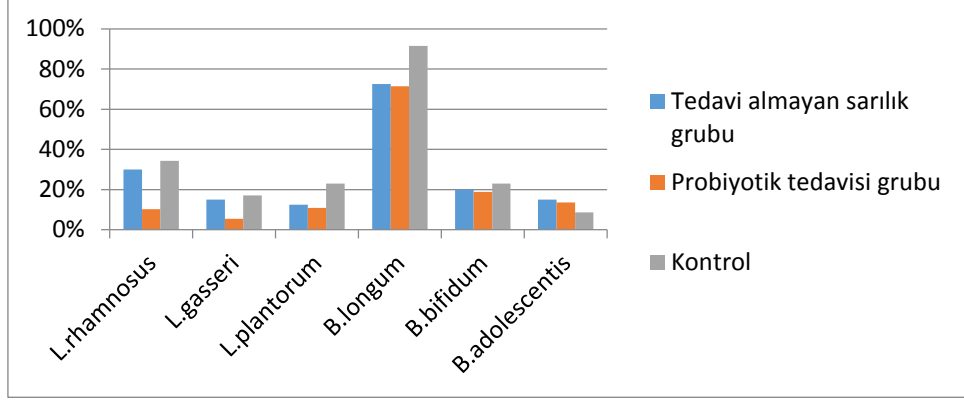
Her üç grup demografik özellikler açısından karşılaştırıldığında ortalama doğum ağırlıkları, gestasyon haftaları, cinsiyet, doğum şekli, anne yaşı, maternal hastalık varlığı, gayta ve sütlerin toplandığı başvuru yaşı ve beslenme şekli açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Sarılık ve probiyotik grupları arasında başvuruda bakılan bilirubin değerleri açısından istatistiksel fark yoktu (p>0.05) (Tablo 5).

Tablo-5. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

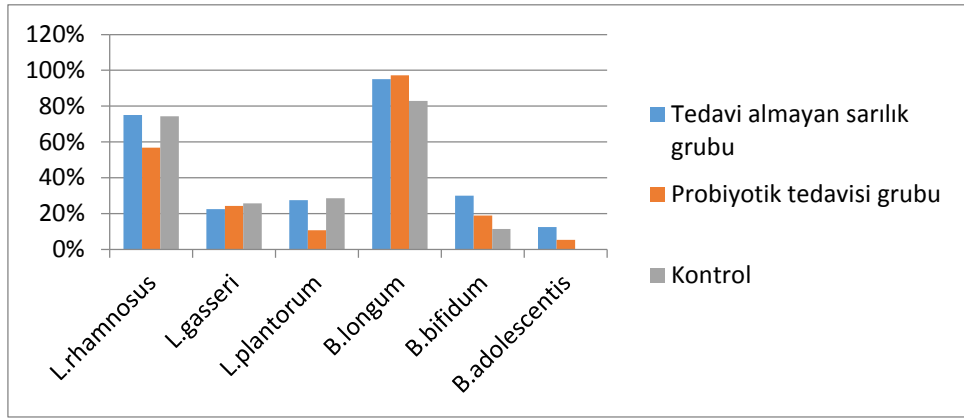
	Tedavi almayan sarılık grubu (n=40)	Probiyotik tedavisi alan grup (n=37)	Kontrol grubu (n=35)	p
Gestasyon haftası				
(hafta, ort±SS*)	38.6±1.4	37.9±1.7	37.9±1.5	0.132
Doğum ağırlığı				
(gr, ort±SS)	3146±489	3141±382	3279±459	0.333
Cinsiyet				
(n, kız/erkek)	15/25	16/21	19/16	0.338
Doğum şekli (n)				
(normal/sezeryan)	13/27	15/22	16/19	0.496
Anne yaşı (yıl, ort±SS)	29.7±5.3	29.0±5.1	30.2±4.8	0.638
Maternal hastalık				
Yok (n,%)	34 (85)	34 (91.9)	29 (82.9)	
Gestasyonel diyabet (n,%)	2 (5)	2 (5,4)	4 (11.4)	0.566
Hipotiroidi (n,%)	4 (10)	1 (2.7)	2 (5.7)	
Başvuru yaşı* (gün, ort±SS)	28.0±13.3	23.8±9.4	27.5±8.8	0.193
Beslenme şekli				
(n,AS**/AS+mama)	29/11	29/8	30/5	0.380
Başvuru bilirubin değerleri				
(mg/dl, ort±SS)	10.6±2.7	11.3±2.4		0.254

*ort±SS: ortalama ± standart sapma **AS: Anne sütü

Anne sütü ve gayta mikrobiyal içeriklerine bakıldığında, anne sütü ve gayta örneklerinde her üç grupta da *B.longum* en fazla saptanan bakteriydi. *B. longum* anne sütü örneklerinde olguların %80.4'ünde (n=90), ilk gayta örneklerinde olguların %92'sinde (n=103) saptandı. Anne sütü ve gayta örneklerinde ikinci sıklıkta saptanan bakteri *L.rhamnosus'* tu (Şekil 4-Şekil 5).



Şekil-4. Anne sütünde türlerine göre bakterilerin sıklığı



Şekil-5. Gayta örneklerinde türlerine göre bakterilerin sıklığı

Bebek mikrobiyal florasına etki ettiği bilinen doğum şekli açısından gayta mikrobiyal içerikleri karşılaştırıldı. Gaytadaki *B.longum* ve *B.bifidum* konsantrasyonları normal vajinal yol ile doğan bebeklerde sezaryen ile doğan bebeklere göre anlamlı ölçüde daha yüksek saptandı ($p=0.030$, $p=0.012$). Normal vajinal yol ile doğan bebeklerde *B.plantorum* miktarı da sezaryen ile doğanlara kıyasla daha yüksekti ancak istatistiksel fark yoktu (Tablo 6, $p>0.05$).

Tablo-6. Doğum şekli ve gayta bakteri içeriği arasındaki ilişki

Bakteri Türü	Normal doğum (n=44)	Sezaryen (n=68)	p
L.rhamnosus*	3.04(2.61-4.54)	3.05(2.0-4.25)	0.492
L.gasseri*	2.77(2.42-3.12)	2.75(2.08-3.22)	1,0
L.plantarum*	3.12(2.32-3.82)	2.84(2.24-3.60)	0.374
B.longum*	3.22(2.56-6.07)	3.07(2.60-4.09)	0.030
B.bifidum*	3.61(2.86-4.65)	2.92(2.50-4.23)	0.012
B.adolescentis*	2.69	2.63(2.46-2.86)	1

*100/CP, medyan (min.-max.)

Bebek mikrobiyal florasına etki ettiği bilinen beslenme şekli açısından gayta mikrobiyal içerikleri karşılaştırıldı. Sadece anne sütü ve anne sütü ile birlikte mama desteği ile beslenen bebekler arasında gayta mikrobiyal içeriği açısından fark saptanmadı (Tablo 7, p>0.05).

Tablo-7. Beslenme şekli ve gayta bakteri içeriği arasındaki ilişki

Bakteri Türü	Sadece anne sütü (n=88)	Anne sütü+mama (n=24)	p
<i>L.rhamnosus</i> *	3.06(2.00-4.54)	3.03(2.69-4.12)	0.626
<i>L.gasseri</i> *	2.78(2.42-3.12)	2.71(2.08-3.22)	0.893
<i>L.plantarum</i> *	2.89(2.24-3.82)	3.02(2.56-3.60)	0.767
<i>B.longum</i> *	3.12(2.60-6.07)	3.04(2.56-4.69)	0.65
<i>B.bifidum</i> *	3.47(2.67-4.65)	2.92(2.50-4.12)	0.118
<i>B.adolescentis</i> *	2.57(2.46-2.73)	2.77(2.69-2.86)	0.190

*100/CP, medyan (min.-max.)

Anne sütü sarılığı olan hastalar ve kontrol grubu arasında anne sütü ve gaytada *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L.plantarum*, *B. longum*, *B. bifidum* ve *B. adolescentis* bakteri miktarları karşılaştırıldı. Kontrol grubunda anne sütündeki *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *L.gasseri*, *B.longum* ve *B.bifidum* türlerinin konsantrasyonu anne sütü sarılığı grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Tablo 8, p=0.001, p=0.005, p=0.004, p<0.001, p=0.007). Anne sütü *B.adolescentis* içeriği açısından gruplar arasında fark saptanmadı (p>0.05).Gayta mikrobiyal içeriği karşılaştırıldığında ise kontrol grubunda *L.gasseri*, *L.plantarum* ve *B.bifidum* türleri sarılık grubuna göre göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu (Tablo 9, p=0.007, p<0.001, p=0.027). Gayta mikrobiyal içeriğinde *L.rhamnosus*, *B.longum* ve *B.adolescentis* miktarları açısından her iki grup arasında fark saptanmadı (p>0.05).

Tablo-8. Anne sütü mikrobiyal içeriğinin gruplar arasında karşılaştırılması

Bakteri Türü	Anne sütü sarılığı grubu (n=77)	Kontrol grubu (n=35)	p
L.rhamnosus*	2.65 (2.25-2.89)	2.80 (2.48-3.24)	0.001
L.gasseri*	2.52 (2.44-2.62)	2.66 (2.57-2.72)	0.005
L.plantorum*	2.61 (2.09-2.76)	2.74 (2.64-2.89)	0.004
B.longum*	2.64 (2.24-3.06)	2.96 (2.74-4.49)	<0.001
B.bifidum*	2.44 (2.09-2.67)	2.72(2.26-2.92)	0.007
B.adolescentis*	2.56 (2.39-2.64)	2.56 (2.56-2.64)	0.555

*100/CP, medyan (min.-max.)

Tablo-9. Gayta mikrobiyal içeriğinin gruplar arasında karşılaştırılması

Bakteri Türü	Anne sütü sarılığı grubu (n=77)	Kontrol grubu (n=35)	p
L.rhamnosus*	3.02(2.00-4.54)	3.05(2.64-4.02)	0.931
L.gasseri*	2.65(2.08-2.99)	2.84(2.58-3.22)	0.007
L.plantorum*	2.66(2.24-3.12)	3.38(2.88-3.82)	<0.001
B.longum*	3.11(2.56-4.69)	3.26(2.79-6.07)	0.266
B.bifidum*	3.02(2.50-4.65)	3.99(3.53-4.53)	0.027
B.adolescentis*	2.69(2.46-2.86)		N/A

*100/CP, medyan (min.-max.)

Anne sütü ve gayta bakteri miktarları açısından kontrol grubunda sarılıklı hastalara göre anlamlı derecede yüksek miktarda bulunan bakteri yoğunlukları ile bilirubin düzeyleri arasında korelasyon analizi yapıldı. Bakteri yoğunlukları ve bilirubin düzeyleri arasında korelasyon saptanmadı (Tablo 10).

Tablo-10. Kontrol grubu anne sütü ve gayta örneklerinde daha yüksek saptanan bakteriler ile bilirubin düzeyleri arasındaki ilişki

Bakteri türü	Bilirubin düzeyi	
	r*	p
L. rhamnosus (anne sütü)	-0.211	0.432
L. gasseri (anne sütü)	-0.356	0.387
L.plantorum (anne sütü)	-0.333	0,381
B. longum (anne sütü)	-0.046	0.731
B. bifidum (anne sütü)	0.049	0.863
L. gasseri (gayta)	-0.195	0.556
L.plantorum (gayta)	0.257	0.356
B.bifidum (gayta)	0.836	0.734

*r: Korelasyon katsayısı

Sarılık ve probiyotik grubu, ikinci gayta örneklerindeki mikrobiyal içerik açısından karılatırıldı. Her iki grup arasında ikinci gayta örneğindeki mikrobiyal içerik açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 11, p>0.05).

Tablo-11. Hasta grupları arasında ikinci gayta örneklerinin mikrobiyal içeriğinin karşılaştırılması

Bakteri Türü	Tedavi almayan sarılık grubu (n=40)	Probiyotik tedavisi grubu (n=37)	p
L.rhamnosus*	3.33 (2.61-4.54)	2.94(2.59-4.29)	0.380
L.gasseri*	2.69(2.48-2.91)	2.91(2.12-3.27)	0.695
L.plantorum*	2.81(2.32-3.14)	2.81(2.24-2.54)	0.730
B.longum*	3.27(2.71-5.78)	3.44(2.77-6.07)	0.915
B.bifidum*	3.37(2.64-4.65)	3.03(2.34-4.05)	0.183
B.adolescentis*	2.61(2.27-2.70)	2.69(2.66-2.77)	0.061

*100/CP, medyan (min.-max.)

Probiyotik desteğinin etkinliğini saptamak için tedavi alan ve almayan sarılıklı hastalar birinci ve ikinci gayta örneklerindeki bakteri yoğunluğundaki değişim açısından karşılaştırıldı. Tedavi almayan grupta *L. rhamnosus* ve *L. gasseri* türlerinin azaldığı, tedavi alan grupta ise arttığı görüldü. Tüm bakteri türlerine bakıldığında her iki grup arasında bakteri yoğunluğu değişimi açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 12, $p>0.05$).

Tablo-12. İlk ve ikinci gayta örnekleri arasındaki mikrobiyal içerik değişiminin karşılaştırılması

Bakteri Türü	Tedavi almayan sarılık grubu (n=40)	Probiyotik tedavisi grubu (n=37)	p
L.rhamnosus*	-0.002(-0.26-0.38)**	0.16(-0.37-0.55)	0.670
L.gasseri*	-0.1(-0.04-0.15)	0.9(-0.8-0.24)	0.181
L.plantorum*	0.06(-0.23-0.31)	-0.11(-0.25-0.12)	0.225
B.longum*	0.07(-0.41-0.92)	0.05(-0.38-1.04)	0.436
B.bifidum*	0.06(-0.37-0.53)	-0.06(-0.38-0.26)	0.262
B.adolescentis*	-0.04(-0.12-0.27)		N/A

*100/CP, medyan (min.-max.)

** %, medyan (min.-max.)

Tedavi almayan ve probiyotik tedavisi alan sarılık grupları bir tedavi sonrası ortalama bilirubin düzeyleri, bilirubin düzeyindeki düşme hızı ve izlemde bilirubin düzeylerinin normale gelmesi için geçen zaman açısından karşılaştırıldı. Probiyotik grubunda ortalama bilirubin değeri sarılık grubuna göre daha düşük, bilirubin düzeyindeki düşme yüzdesi ise daha yüksek saptandı; ancak her iki parametre için de fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Probiyotik grubunda sarılığın geçme süresi tedavi almayan gruba oranla anlamlı derecede daha kısaydı (Tablo 13, $p=0.033$).

Tablo-13. Tedavi alan ve almayan sarılık grupları arasında ortalama bilirubin düzeyleri, bilirubin düzeylerindeki azalma oranı ve sarılığın geçme süresinin karşılaştırılması

	Tedavi almayan sarılık grubu (n=40)	Probiyotik tedavisi grubu (n=37)	p
Bilirubin düzeyi (mg/dl, ort±SS*)	8.47±3.36	8.05±2.94	0.562
Bilirubin azalma oranı (% ,ort±SS)	21.33±2.53	28.85±3.48	0.082
Sarılığın geçme süresi (gün, ort±SS)	27.4±10.6	21.4±7.3	0.033

* ort±SS: ortalama±standart sapma

Her üç grup haftalık kilo alımı açısından karşılaştırıldı. Probiyotik tedavisi verilen grupta haftalık kilo alımı tedavi almayan sarılıklı hastalar ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksekti (Tablo 14, p<0.001)

Tablo-14. Grupların haftalık kilo alımları açısından karşılaştırılması

	Tedavi almayan sarılık grubu (n=40)	Probiyotik tedavisi grubu (n=37)	Kontrol grubu (n=35)	p
Haftalık kilo alımı (gr, ort±SS*)	282.6±70.8	379.1±133.6	315.1±36.7	<0.001

* ort±SS: ortalama±standart sapma

TARTIŞMA

Günümüze kadar anne sütü sarılığının etiyolojisi ve oluşum mekanizmasına ilişkin bir çok teori ortaya atılmıştır. Anne sütündeki bazı maddelerin enterohepatik dolaşımı arttırması ve UGT A1A mutasyonları gibi genetik yatkınlık oluşturan durumlar en çok kabul gören görüşlerdir (1,3,4). Bununla birlikte, anne sütü ile beslenen her bebekte sarılık görülmemekte; anne sütü sarılığı gelişen bebeklerde de sarılık şiddeti ve süresi değişken seyir göstermektedir (5). Bu nedenle anne sütü sarılığı gelişiminin çok etkenli ve dinamik bir süreç olduğu düşünülebilir .

Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada anne sütü mikrobiyal içeriğinin çeşitliliği ve anne sütünde bulunan probiyotik bakterilerin bağırsak geçirgenliğini azaltıcı, patojen bakterilerle olan enfeksiyonlara karşı önleyici ve kısa ve uzun dönem bağışıklık düzenleyici etkileri gösterilmiştir (34,35,67,77,85,90,97). Anne sütü ve gaytadaki bakteri içeriğinin anne sütü sarılığı gelişimi ve bilirubin düzeylerine olan etkisini araştıran tek bir çalışma mevcuttur (5). Biz çalışmamızda anne sütü ve gayta bakteri içeriği ile anne sütü sarılığı arasındaki ilişki ile birlikte bu hastalarda probiyotik tedavisinin sarılık seyri üzerine etkisini araştırdık. Çalışmamız probiyotik desteğinin anne sütü sarılığı seyri üzerine etkisini araştıran ilk çalışmadır.

Anne sütü ile beslenen bebeklerde *Bifidobacterium* türleri yaşamın ilk haftasından itibaren bebek intestinal florasında en sık saptanan bakterilerdir (50). Çalışmamızda anne sütü ve gayta örneklerinin %96'ında *Bifidobacterium* türlerine ait en az bir bakteri saptanmıştır. Bağırsak florasındaki *Bifidobacterium* türlerinin anne sütü kaynaklı olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (50,113). Tüzün ve ark.'nın (5) anne sütü ve gayta mikrobiyal içeriğinin anne sütü sarılığı ile ilişkisini araştırdıkları çalışmada anne sütü ve gayta *Bifidobacterium* türlerinde pozitif korelasyon saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da benzer olarak anne sütü ve gaytadaki bakteri oranlarının pozitif korelasyon gösterdiği görülmüştür. Buna karşın Gronlund ve ark.'nın (114) çalışmasında bu tür bir korelasyon saptanmamış, bu da çevredeki

bakterilerin kontaminasyonu ya da anne sütü bifidojenik faktör içeriğinin kişiden kişiye değişmesi ile açıklanmıştır . Anne sütü mikrobiyal içeriğinin bireysel değişim gösterdiği bilinmektedir. Ege bölgesinden Tüzün ve ark.'nın (5) çalışmasında anne sütü ve gayta örneklerinde en sık rastlanan *Bifidobacterium* türleri *B.adolescentis* ve *B. bifidum* olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise en sık rastlanan *Bifidobacterium* türleri sırasıyla *B.longum*, *B.bifidum* ve *B. adolescentis*'tir. Bir çok farklı ülkeyi kapsayan geniş kapsamlı bir çalışmada anne sütü *Bifidobacterium* içeriklerinin %0-%100 arasında değişkenlik gösterdiği saptanmış ve anne sütü mikrobiyal içeriğinin toplumun bakteriyolojik durumuna bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (115). Slovenya'da yapılan bir çalışmada sağlıklı annelerin süt örneklerinin %53'ünde *Bifidobacterium* türleri saptanmış (116), buna karşın Afrika'da yapılan bir çalışmada *Bifidobacterium* türleri annelerin yalnızca %10.9'unda saptanmıştır (117). Aynı ülkede iki farklı bölgede yapılan çalışmalarda *Bifidobacterium* türlerinin farklı saptanması anne sütü mikrobiyal içeriğinin oluşumunda sadece coğrafi değil bölgesel farklılıkların da rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Vajinal yol ya da sezaryen ile doğan bebeklerin bağırsak florasında farklılıklar olduğu bilinmektedir. Vajinal yolla doğan bebeklerin florası *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri açısından daha zengin olup annenin vajinal florasını yansıtır (36). Normal vajinal yolla doğan bebeklerde bu bakterilerin vajinal kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak normal vajinal yolla doğan bebeklerde gayta *B.longum* ve *B.bifidum* içerikleri sezaryen ile doğan bebeklere kıyasla anlamlı oranda yüksektir.

Beslenme şekli bağırsak florasının oluşumu üzerine önemli derecede etkilidir. Anne sütü ile beslenen bebekler *Stafilococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türü bakterileri alırlar ve anne sütündeki oligosakkaritler ve glukoz konjugatları gibi bifidojenik faktörlerin yardımıyla *Bifidobacterium* ağırlıklı bir flora oluşturmaktadır. Formül mama ile beslenen bebeklerin *Escherichia*, *Clostridium* ve *Bacteriodes* gibi türleri de içeren daha çeşitli bir flora sahip oldukları görülmüştür (50-52). Çalışmamıza alınan hastaların hepsi ağırlıklı olarak

anne sütü ile beslenmekle birlikte bir kısmı anne sütünün yanında formül mama da almaktaydı. Yapılan çalışmalarda az miktarda formül mama desteğinin bile florayı olumsuz yönde etkilediğine dair bulgular saptanmasına karşın (53,54) bizim çalışmamızda sadece anne sütü ile beslenen bebeklerle anne sütüne ek olarak formül mama desteği alan bebekler arasında gayta probiyotik bakteri içeriği açısından fark saptanmadı.

Anne sütünün canlı, biyolojik bir karışım olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar anne sütü mikrobiyal içeriğinin bireyler arasında hem trce hem de sayıca belirgin değişkenlik gösterdiğini ileri sürmektedir (5,115). Anne sütü sarılığı gelişimi, şiddeti ve seyrinin de bireysel değişiklik gösterdiği göz önüne alındığında anne sütü mikrobiyal içeriğinin sarılık gelişiminde rolü olabileceği düşünülebilir.

Anne sütü mikrobiyal içeriği ve anne sütü sarılığı arasındaki ilişkiyi araştıran tek çalışma mevcuttur. Tüzün ve ark.'nın (5) bu çalışmasında sarılığı olmayan bebeklerin anne sütü ve gayta *Bifidobacterium* yoğunluğu sarılıklı hastalara oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Benzer olarak bizim çalışmamızda da kontrol grubunda anne sütü ve gayta *Bifidobacterium* içeriği sarılıklı hastalara oranla anlamlı derecede yüksektir. Bununla birlikte Tüzün ve ark.'nın (5) alışmasından farklı olarak bizim çalışmamızda kontrol grubunda hem anne sütü hem de gayta örneklerinde *Lactobacillus* türleri de anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.

Gayta mikrobiyal içeriği intestinal bilirubin döngüsü üzerine etkilidir. Bağırsak florasında bilirubin-ürobilinojen döngüsünü gerçekleştirebilen dört tür bulunmaktadır. Bunlar *Clostridium perfringens*, *C. difficile*, *Clostridium ramosum* ve *Bacteriodes fragilis*'tir (118). Bir hayvan çalışmasında antibiyotik kullanımı sonrası *Clostridium* türlerinin azaldığı ve buna bağlı olarak serum bilirubin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Ancak yenidoğanlarda *Clostridium* türlerinin miktarı zaten erişkinlere göre çok düşüktür (119). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinde bilirubini ürobilinojene dönüştürme özelliği bulunmamaktadır (120). *Bifidobacterium* türlerinin kısa ve uzun dönem sağlık üzerine çok çeşitli etkileri mevcuttur. *Bifidobacterium* türlerinin asetat ve laktat üretimi

yoluyla bağırsak pH'sını düşürerek ve kolonosit reseptörleri için yarışarak patojen bakterilerin üremesini engelledikleri gösterilmiştir. *Bifidobacteria* aynı zamanda interferon gamma üretimini baskılayarak kolonda inflamasyonu baskılamakta ve kolon epitel geçirgenliğini azaltmaktadır (121). *Lactobacillus* türlerinin ise fekal sıvı içeriğini, dışkılama sıklığını ve müsin üretimi yoluyla bağırsakta bariyer fonksiyonunu arttırdığı bilinmektedir (122). Bir çalışmada *L. plantarum*'un epitelyal tight junction fonksiyonlarını arttırdığı gösterilmiştir (123). *Lactobacillus* türlerinin gayta pasajını hızlandırıcı ve her iki türün intestinal bariyer fonksiyonunu düzenleyici bu etkileri enterohepatik dolaşımı azaltarak bilirubin düzeylerinin artmasını engelliyor olabilir.

Tüzün ve ark. (5) yaptıkları çalışmada sarılıklı hastalarda anne sütü probiyotik içeriğini daha yüksek bulmuşlar, anne sütü ve gayta probiyotik içeriğinin korele olduğu saptamışlar ve sonuç olarak probiyotik desteğinin uzamış sarılıklı hastalarda faydalı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Probiyotik desteğinin anne sütü sarılığına etkisini araştıran daha önce yapılmış bir çalışma yoktur. Biz çalışmamızda sarılıklı hastaların bir kısmına probiyotik tedavisi uyguladık ve tedavi sonrası gayta mikrobiyal içeriğindeki değişiklik, tartı alımı ve bilirubin düzeylerinde azalma oranını karşılaştırdık.

Probiyotik tedavisinin gayta mikrobiyal içeriği üzerine etkisini araştıran kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda antibiyotik ilişkili diyare hastalarında *S.boulardii*, *L. rhamnosus* ve probiyotik karışımları ile bozulmuş bağırsak florasının düzeldiği ve semptomların gerilediği görülmüştür (124). Ancak bu çalışmalara probiyotik öncesi ve sonrası gayta mikrobiyotası incelenmemiştir. Imase ve ark.'nın (125) çalışmasında *Helicobacter pylori* eradikasyonu uygulanan hastaların bir kısmına *Clostridium butyricum* içeren probiyotik desteği verilmiş, probiyotik almayan grupta *Lactobacilli*, *Bifidobacterium* ve diğer zorunlu anaerob bakterilerin miktarının belirgin ölçüde azaldığı ancak probiyotik desteği verilen grupta her üç grup bakterinin miktarının aynı kaldığı görülmüştür. Kong ve ark.'nın (126) yürüttükleri hayvan çalışmasında ise *C.butyricum* verilen farelerde gayta *Lactobacillus* ve *Bifidobacter* içeriğinin arttığı saptanmıştır. Yang ve

ark.'nın (127) çalışmasında ise *C.butyricum* verilen tavuklarda gayta *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* içeriğinin arttığı saptanmıştır. Ling ve ark.'nın (121) yürüttükleri hayvan çalışmasında ise antibiyotik ilişkili diyare oluşturulan sıçanların bir kısmına *C. butyricum* ve *B. infantis* içeren probiyotik preparatı verilmiş, 15 günlük tedavi sonrası probiyotik grubunun gayta mikrobiyal içeriğinde *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin belirgin ölçüde arttığı ve gayta florasının normal içeriğine döndüğü görülmüştür. Bu çalışmalarda görülmektedir ki tek tür içeren bir probiyotik preparatı normal floranın diğer üyelerinin çoğalmasını uyarılmaktadır. Benno ve ark.'nın (128) erişkin hastalarda yürüttükleri bir çalışmada ise *L. rhamnosus* verilen hastaların gayta içeriklerinde *Bifidobacterium* türlerinin arttığı görülmüştür. Bebeklerde ise probiyotik desteğinin gayta mikrobiyal içeriği üzerine etkisini araştıran çalışmalar kısıtlıdır. Rinne ve ark.'nın (129) çalışmasında doğum öncesi dönemdeki annelere plasebo ya da *L. rhamnosus* uygulanmış, sonrasında bebeklerin altıncı ve 24. ayda gayta mikrobiyal içeriği incelenmiş; probiyotik alan annelerin bebeklerinde plasebo grubuna göre daha fazla *L. rhamnosus* ve daha az *Clostridium* türleri saptanmış ancak *Bifidobacterium* türlerinin miktarında fark saptanmamıştır. Araştırmacılar *L. rhamnosus*'un erişkinlerde *Bifidobacterium* türlerini uyarıcı bu etkisinin bebeklerde görülmemesini bebeklerde intestinal florasında zaten *Bifidobacterium* türlerinin baskın olmasına bağlamışlardır. Buna karşın yine Rinne ve ark.'nın (130) yürüttüğü başka bir çalışmada ise bir grupta doğum öncesi annelere ve doğum sonrası bebeklere *L. rhamnosus* verilmiş ve bu gruptaki bebeklerde *Bifidobacterium* türlerinin arttığı görülmüştür. Bakker-Zierikzee ve ark.'nın (131) çalışmasında bebeklere *B. animalis* uygulanmış, seri olarak yapılan incelemelerde gayta *Bifidobacterium* içeriğinde probiyotik almayan bebeklere göre anlamlı fark saptanmamıştır. Bununla birlikte bu çalışmada *B. animalis* verilen grupta gayta pH'ının diğer gruplara göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Görüldüğü üzere uygulanan probiyotik bakteri suşlarının gayta florasındaki diğer türler üzerindeki etkisini araştıran çalışmaların sonuçları belirgin değişiklikler göstermektedir. Probiyotik katkısının gayta mikrobiyal içeriği üzerine olumlu yönde etkisinin olduğu çoğu çalışmada

görülmektedir; bununla birlikte bu etki olgunun yaşına, bağırsak florasının durumuna, uygulanan probiyotik suşuna ve probiyotik desteğin uygulanma süresine göre değişiyor gibi görünmektedir. Bizim çalışmamızda tedavi almayan sarılık grubu ile probiyotik tedavisi alan grup arasında gaytadaki ortalama probiyotik bakteri yoğunluğu arasında anlamlı fark saptanmadı. Bununla birlikte, bakteri yoğunluklarının yüzde değişimlerine bakıldığında istatistiksel fark olmasa da tedavi almayan grupta *L. rhamnosus* ve *L. gasseri* türlerinin azaldığı, tedavi alan grupta ise aynı türlerin miktarlarının arttığı görüldü. *Bifidobacterium* türlerinde anlamlı artış olmaması, çalışmamızdaki olguların gayta mikrobiyal içeriklerinde *Bifidobacterium* türlerinin zaten baskın olması ile açıklanabilir. Ek olarak hastalarımıza uyguladığımız bir haftalık tedavi diğer çalışmalara bakıldığında hem süre hem de doz yönünden düşük kalmaktadır. Daha yüksek doz ve daha uzun süre probiyotik uygulaması gayta mikrobiyal içeriğinde daha belirgin değişikliklere yol açabilir.

Çalışmamızda probiyotik tedavisi sonrası her iki grup arasındaki ortalama bilirubin düzeyi ve bilirubin düzeyindeki düşme hızını karşılaştırdık. Probiyotik tedavisi alan grupta tedavi almayan sarılık grubuna oranla ortalama bilirubin düzeyi daha düşük, bilirubin düşme hızı ise daha yüksek saptandı, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bununla birlikte probiyotik tedavisi alan grupta izlemde bilirubin düzeylerinin normale dönme süresi probiyotik almayan gruba göre anlamlı ölçüde daha kısa saptandı. Tedavi alan grupta *Lactobacillus* türlerinin artması ile bilirubin düzeylerindeki azalma ve sarılık süresinin kısalması, probiyotik tedavisinin uzamış sarılıkta etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Preterm bebeklerde yapılan birçok çalışmada probiyotik desteğinin kilo alımını arttırdığı gösterilmiştir (132,133). Tarafımızca yürütülen bir tez çalışmasında da prematüre bebeklerde probiyotik desteğinin tartı alımını pozitif yönde etkilediğini gösterilmiştir (134). Sağlıklı term bebeklere bakıldığında Vendt ve ark.'nın (122) yaptığı çalışmada *L. rhamnosus* katkılı formül mama ile beslenen bebeklerin standart formula ile beslenen bebeklere göre daha fazla kilo aldığı gösterilmiştir. Buna karşın Szajewska ve ark.'nın (135) sağlıklı term bebeklerde probiyotik

desteğinin araştırıldığı dokuz çalışmayı inceledikleri meta-analizde probiyotik desteğinin kilo alımı üzerine etkisi saptanamamıştır. Steenhout ve ark.'nın (136) derlediği başka bir meta-analizde ise *B. lactis* desteğinin HIV(+) annelerin bebeklerinde kilo alımı üzerine olumlu etkisi olduğu ancak sağlıklı term bebeklerde etkisi olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda probiyotik verilen bebeklerdeki haftalık kilo alımı diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek saptandı. Probiyotik desteğinin kilo alımı üzerine olan etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. *L. rhamnosus*'un villus hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bu etki besinlerin emilimini kolaylaştırıyor olabilir. Bir diğer potansiyel mekanizma ise *L.rhamnosus*'un mideden salgılanan bir büyüme hormonu uyarıcısı olan ghrelin salgılanmasını arttırmasıdır (122). Çalışmamızda tedavi grubuna uygulanan probiyotik preparatı *L. rhamnosus* içermektedir. Tedavi uygulanan grupta kilo alımının artması bu potansiyel mekanizmalarla açıklanabilir.

Probiyotikler, bağırsak bariyer fonksiyonunu arttırıcı, patojen bakterilerin kolonizasyonunu önleyici ve bağışıklık sistemini düzenleyici etkilerinden dolayı infantil kolik, alerjik hastalıklar ve NEK'ten korunmada; bununla birlikte antibiyotik ilişkili diyare, viral gastroenterit gibi hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (6,68,79). Anne sütü sarılığının patofizyolojisine dair bir çok teori ileri sürülmesine karşın anne sütü sarılığının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Anne sütü ile beslenen tüm bebeklerde sarılık gelişmemesi, sarılık gelişenlerde ise sarılık şiddet ve süresinin farklı olmasına ek olarak son yıllarda yapılan çalışmalarda anne sütü mikrobiyal içeriğinin bireysel farklılıklar gösterdiğinin saptanmasıyla birlikte anne sütü sarılığı gelişiminde anne sütü mikrobiyal içeriğinin rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Daha önce yapılan tek bir çalışmada anne sütü sarılığı gelişen bebeklerde anne sütü ve gayta *Bifidobacterium* içeriğinin bilirubin düzeyleri ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir (5). Bizim çalışmamızda da anne sütü sarılığı olan bebeklerde anne sütü *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* içerikleri ile gayta *Lactobacillus* içeriğinin sarılığı olmayan bebeklere göre daha düşük olduğunu saptadık. Bu bulgular anne sütü sarılığında probiyotik tedavisinin faydalı olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Sonuç olarak, anne sütü sarılığı her ne kadar selim ve kendi kendini sınırlayan bir durum olarak bilinse de, özellikle belirsiz seyrinden dolayı ailelerde ve pediatristlerde endişe uyandırmaktadır. Anne sütü sarılığının önlenmesi için günümüzde henüz bir tedavi seçeneği yoktur. Bebeğinin hasta olduğu düŐüncesi, anne sütü sarılığı nedeniyle suçluluk hissi, toplumsal ve aile içi negatif etkilerle birlikte izlem dıŐında herhangi bir tedavi seçeneğinin olmayıŐı halihazırda duygu durumu stabil olmayan yeni doğum yapmıŐ bir anne için ciddi derecede stres kaynağı olmaktadır. Bununla birlikte, nadiren de olsa anne sütü sarılığında bilirubin düzeyleri fototerapi hatta kan deđiŐimi sınırlarına ulaŐabilmektedir. Anne sütü ve gayta probiyotik içeriğinin sarılık gelişen hastalarda daha düşük saptanması üzerine biz çalışmamızda anne sütü sarılığı gelişen hastalarda probiyotik tedavisinin etkinliğini inceledik. Probiyotik verilen hastalarda her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da gayta *Lactobacillus* içeriğinin artması ile birlikte ortalama bilirubin düzeyinde azalma ve bilirubin azalma hızında artış saptadık. Ayrıca probiyotik verilen hastalarda bilirubin düzeylerinin normale dönme süresi tedavi almayan hastalara oranla anlamlı oranda daha kısaydı. Bu bulgular daha önce herhangi bir tedavi seçeneği olmayan anne sütü sarılığı hastalarında probiyotik tedavisinin etkin bir seçenek olabileceğini düşündürmektedir. Ancak gayta mikrobiyal içeriğindeki değişim ve bilirubin düzeylerinde anlamlı bir sonuç elde edilmemesi tedavi doz ve süremizin diğer çalışmalara oranla düşük olmasıyla açıklanabilir. Çok merkezli ve geniş hasta serileriyle yapılacak olan çalıŐmalarla anne sütü sarılığında probiyotik tedavisi için ideal bakteri içeriği, dozu ve uygulama süresinin belirlenmesi mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Hannam S, McDonnell M, Rennie JM. Investigation of prolonged neonatal jaundice. *Acta Paediatr.* 2000;89:694-7.
2. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics.* 2004 ;114:297-316.
3. Gartner LM. Breast feeding and jaundice. *J Perinatol.* 2001;21 Suppl 1:S25-9.
4. Preer GL, Philipp BL. Understanding and managing breast milk jaundice. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2011 ;96:461-6.
5. Tüzün F, Kumral A, Duman N, Özkan H. Breast milk jaundice: effect of bacteria present in breast milk and infant feces. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013 ;56:328-32.
6. Manzoni P, Gallo E, Farina D. Probiotics for the neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22 Suppl 3:27-30.
7. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F et al. Effects of probiotic and prebiotic on gastrointestinal motility in newborns. *J Physiol Pharmacol.* 2009 ;60 Suppl 6:27-31.
8. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995 ;20:333-8.
9. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W. Efficacy of *Lactobacillus GG* in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *J Pediatr.* 2001;138:361-5.
10. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P et al. A placebo-controlled trial of *Lactobacillus GG* to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr.* 1999;134:15-20.
11. Gartner LM. Neonatal jaundice. *Pediatr Rev.* 1994 ;15:422-32.
12. Onishi S, Kawade N, Itoh S, Isobe K, Sugiyama S. Postnatal development of uridine diphosphate glucuronyltransferase activity toward bilirubin and 2-aminophenol in human liver. *Biochem J.* 1979;184:705-7.
13. Beutler E. Disorders of red cells resulting from enzyme abnormalities. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal J, eds. *Williams hematology.* 7th edn. New York: The McGraw-Hill Companies Incorporated, 2006:603–31.
14. Gallagher PG. Disorders of the red blood cell membrane: hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and related disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal J, eds. *Williams hematology.* 7th edn. New York: McGraw-Hill, 2006:571–601.
15. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, et al. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis.* 2009;42:267–78.
16. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008;371:64–74.

17. Zinkham WH, Oski FA. Henna: a potential cause of oxidative hemolysis and neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 1996;97:707–9.
18. Johnson L, Bhutani VK, Karp K, et al. Clinical report from the pilot USA Kernicterus Registry (1992 to 2004). *J Perinatol*. 2009;29(suppl 1):25–45.
19. Beutler E. G6PD deficiency. *Blood*. 1994;84:3613–36.
20. Kaplan M, Hammerman C. The need for neonatal glucose-6-phosphate dehydrogenase screening: a global perspective. *J Perinatol*. 2009;29(Suppl 1):46–52.
21. Meloni T, Cagnazzo G, Dore A, et al. Phenobarbital for prevention of hyperbilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient newborn infants. *J Pediatr*. 1973;82:1048–51.
22. Bosma PJ. Inherited disorders of bilirubin metabolism. *J Hepatol* 2003;38:107–17.
23. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis*. 2006;29:516–25.
24. Weldon AP, Danks DM. Congenital hypothyroidism and neonatal jaundice. *Arch Dis Child*. 1972;47:469–71.
25. Hua L, Shi D, Bishop PR, et al. The role of UGT1A1*28 mutation in jaundiced infants with hypertrophic pyloric stenosis. *Pediatr Res*. 2005;58:881–4.
26. Boggs TR Jr, Bishop H. Neonatal hyperbilirubinemia associated with high obstruction of the small bowel. *J Pediatr*. 1965;66:349–56.
27. Fink S, Karp W, Robertson A. Ceftriaxone effect on bilirubin-albumin binding. *Pediatrics*. 1987;80:873–5.
28. Wadsworth SJ, Suh B. In vitro displacement of bilirubin by antibiotics and 2-hydroxybenzoylglycine in newborns. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988;32:1571–5.
29. Maruo Y, Morioka Y, Fujito H et al. Bilirubin uridine diphosphate-glucuronyltransferase variation is a genetic basis of breast milk jaundice. *J Pediatr*. 2014 ;165:36-41.
30. Alonso EM, Whittington PF, Whittington SH, et al. Enterohepatic circulation of nonconjugated bilirubin in rats fed with human milk. *J Pediatr*. 1991;118:425–30.
31. Gartner LM, Lee KS, Moscioni AD. Effect of milk feeding on intestinal bilirubin absorption in the rat. *J Pediatr*. 1983;103:464–71.
32. Kumral A, Ozkan H, Duman N, et al. Breast milk jaundice correlates with high levels of epidermal growth factor. *Pediatr Res*. 2009;66:218–21.
33. Apaydin K, Ermiş B, Araslı M, Tekin I, Ankaralı H. Cytokines in human milk and late-onset breast milk jaundice. *Pediatr Int*. 2012 ;54:801-5.
34. Berrington JE, Stewart CJ, Cummings SP, Embleton ND. The neonatal bowel microbiome in health and infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27:236–43.
35. Putignani L, Del Chierico F, Petrucca A, Vernocchi P, Dallapiccola B. The human gut microbiota: a dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood. *Pediatr Res*. 2014;76:2–10.

36. Gritz EC, Bhandari V. The human neonatal gut microbiome: a brief review. *Front Pediatr.* 2015;3:17.
37. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med.* 2014;6:237-65.
38. Madan JC, Salari RC, Saxena D et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2012; 97:456–62.
39. Ardisson AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PLoS One.* 2014 10;9:e90784
40. Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2006;49:128-48.
41. Hooper LV, Gordon JL. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001;292:1115-8.
42. Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr* 2009;98:229–38.
43. Chassard C, de Wouters T, Lacroix C. Probiotics tailored to the infant: a window of opportunity. *Curr Opin Biotechnol.*2014; 26:141–7.
44. Guarner F. Enteric flora in health and disease. *Digestion* 2006; 73(Suppl.1):5-12.
45. Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature.*2012;489:231–41.
46. Penders J, Thijs J, Vink C, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118:511-6.
47. Unger S, Stintzi A, Shah P, Mack D, O'Connor DL. Gut microbiota of the very-low-birth-weight infant. *Pediatr Res.* 2015 ;77:205-13.
48. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut.*2014;63:559–66.
49. Salminen S, Gibson GR, McCartney AL, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut.* 2004; 53:1388–9.
50. Solís G, de los Reyes-Gavilan CG, Fernández N, Margolles A, Gueimonde M. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe.*2010; 16:307–10.
51. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr.*1999;46:353–82.
52. Oozeer R, van Limpt K, Ludwig T, et al. Intestinal microbiology in early life: specific prebiotics can have similar functionalities as human-milk oligosaccharides. *Am J Clin Nutr.*2013;98:561–71.
53. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol.*2012; 2:94.

54. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:1035–45.
55. Martin CR, Walker WA. Innate and mucosal immunity in the developing gastrointestinal tract: Relationship to early and later disease. In: Gleason CA, Devaskar SU eds. *Avery's Diseases of Newborn*. 9th ed. Elsevier Saunders; Philadelphia, 2012;994-1006.
56. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol.* 2013 ;21:167-73.
57. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-7.
58. Marques TM, Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Ryan CA, Stanton C. Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors. *Curr Opin Biotechnol.* 2010 ;21:149-56.
59. Saulnier DMA, Spinler JK, Gibson GR, Versalovic J: Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. *Curr Opin Biotechnol.* 2009; 20:135-41.
60. Boehm G, Moro G. Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. *J Nutr.* 2008;138:1818-28.
61. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69:1-10.
62. Reinhardt C, Reigstad CS, Backhed F. Intestinal microbiota during infancy and its implications for obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48:249-56.
63. Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nutr.* 2008;138:1791-5.
64. Martin R, Jimenez E, Heilig H, Fernandez L, et al. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-DGGE and qRTi-PCR. *Appl Environ Microbiol* 2008;75:965-9.
65. Martin R, Heilig GHJ, Zoetendal EG, Smidt H, Rodriguez JM: Diversity of the *Lactobacillus* group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *J Appl Microbiol* 2007;103:2638-44.
66. Favier CF, Vaughan EE, de Vos WM, Akkermans ADL. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Applied and Environment Microbiology.* 2002;68:219–26.
67. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS ONE.* 2011;6:e21313.
68. Sanz Y. Gut microbiota and probiotics in maternal and infant health. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2011;94(Suppl 6):2000–5.
69. Bergmann H, Rodríguez JM, Salminen S, Szajewska H. Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. *Br J Nutr.* 2014 ;112:1119-28.

70. Rescigno M, Rotta G, Valzasina B, et al. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology*. 2001; 204:572–81.
71. Bell SJ, Rigby R, English N, et al. Migration and maturation of human colonic dendritic cells. *J Immunol*. 2001;166:4958–67.
72. Perez PF, Dore J, Leclerc M, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*. 2007;119: 724–32.
73. Makino H, Kushi A, Ishikawa E, et al. Transmission of intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:6788–93.
74. Jimenez E, Fernandez L, Maldonado A, et al. Oral administration of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74:4650–5.
75. Diaz-Ropero MP, Martin R, Sierra S, et al. Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *Journal of Applied Microbiology*. 2006;102: 337–43.
76. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Lara-Villoslada F, Rodriguez JM, Xaus J. Effectiveness of probiotics in allergy: child's game or adult affair? *Nutrafoods*. 2005;4:59–64.
77. Kirjavainen PV, Apostolou E, Arvola T, et al. Characterizing the composition of intestinal microflora as a prospective treatment target in infant allergic disease. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2001;32:1–7.
78. Chau K, Lau E, Greenberg S. Probiotics for infantile colic: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial investigating *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *J Pediatr*. 2015 Jan;166(1):74-8.
79. Rangarajan S. Probiotics in neonates: what do we know? *Nutrition*. 2014;30:955-6.
80. Wang Y, Gao L, Zhang YH, Shi CS, Ren CM. Efficacy of probiotic therapy in full-term infants with critical illness. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2014;23:575-80.
81. Bernardo WM, Aires FT, Carneiro RM, Sa FP, Rullo VE, Burns DA. Effectiveness of probiotics in the prophylaxis of necrotizing enterocolitis in preterm neonates: a systematic review and meta-analysis. *J Pediatr* 2013;89:18–24.
82. Wang Q, Dong J, Zhu Y. Probiotic supplement reduces risk of necrotizing enterocolitis and mortality in preterm very low-birth-weight infants: an updated meta-analysis of 20 randomized, controlled trials. *J Pediatr Surg* 2012;47:241–8.
83. Kılıç İ, Şahin Ö. Gastrointestinal sistem florasının özelliği ve önemi. 1. Baskı. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi; 2011.
84. Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC. Mechanisms of Action of Probiotics: Recent Advances. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2009;2:300-10.
85. Klaenhammer TR. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*. 1988;70:337–49.

86. Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23:1077–86.
87. Sherman PM, Johnson-Henry KC, Yeung HP, et al. Probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7- and enteropathogenic *E. coli* O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. *Infect Immun.* 2005;73:5183–8.
88. Malchow HA. Crohn's disease and *Escherichia coli*. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease? *J Clin Gastroenterol.* 1997;25:653–8.
89. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, et al. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet.* 1999;354:635–9.
90. Madsen K, Cornish A, Soper P, et al. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology.* 2001;121:580–91.
91. Garcia-Lafuente A, Antolin M, Guarner F, et al. Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat. *Gut.* 2001;48:503–7.
92. Mack DR, Michail S, Wei S, et al. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol.* 1999;276:941–50.
93. Otte JM, Podolsky DK. Functional modulation of enterocytes by Gram-positive and Gram-negative microorganisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004;286:613–26.
94. Resta-Lenert S, Barrett KE. Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). *Gut.* 2003;52:988–97.
95. Lievin-Le Moal V, Amsellem R, Servin AL, et al. *Lactobacillus acidophilus* (strain LB) from the resident adult human gastrointestinal microflora exerts activity against brush border damage promoted by a diarrhoeagenic *Escherichia coli* in human enterocyte-like cells. *Gut.* 2002;50:803–11.
96. Zyrek AA, Cichon C, Helms S, et al. Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKCzeta redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair. *Cell Microbiol.* 2007;9:804–16.
97. Ruemmele FM, Bier D, Marteau P, et al. Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009 ;48:126-41.
98. Hart AL, Lammers K, Brigidi P, et al. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut.* 2004;53:1602–9.
99. Ng SC, Plamondon S, Al-Hassi HO, et al. Effective probiotic treatment (VSL#3), but not placebo, in acute ulcerative colitis is associated with downregulation of inflammatory intestinal dendritic cells. *Gut.* 2008; 57(suppl 1):96.
100. Bell SJ, Rigby R, English N, et al. Migration and maturation of human colonic dendritic cells. *J Immunol.* 2001;166:4958–67.

101. Robinson SP, Patterson S, English N, et al. Human peripheral blood contains two distinct lineages of dendritic cells. *Eur J Immunol.* 1999;29:2769–78.
102. Ulisse S, Gionchetti P, D'Alo S, et al. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2691–9.
103. Drakes M, Blanchard T, Czinn S. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infect Immun.* 2004;72:3299–309.
104. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, et al. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res.* 1992;32:141–4.
105. Tejada-Simon MV, Lee JH, Ustunol Z, et al. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* to potentiate immunoglobulin A responses to cholera toxin in mice. *J Dairy Sci.* 1999;82:649–60.
106. Braat H, van den BJ, van Tol E, et al. *Lactobacillus rhamnosus* induces peripheral hyporesponsiveness in stimulated CD4 T cells via modulation of dendritic cell function. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1618–25.
107. Yan F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem.* 2002;277:50959-65.
108. Samanhta M, Sarkar M, Ghosh P, Ghosh J, Sinha M, Chatterjee S. Prophylactic probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in very low birth weight newborns. *J Trop Pediatr* 2009;55:128–31.
109. Lee SJ, Cho SJ, Park EA. Effects of probiotics on enteric flora and feeding tolerance in preterm infants. *Neonatology* 2007;91:174-9.
110. Gill HS. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17:755-73.
111. Deshpande G, Rao S, Patole S. Progress in the field of probiotics: year 2011. *Curr Opin Gastroenterol* 2011;27:13-8.
112. Demirel G, Celik IH, Erdeve O, Dilmen U. Impact of probiotics on the course of indirect hyperbilirubinemia and phototherapy duration in very low birth weight infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013;26:215-8.
113. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology.* 2007;92:64-6.
114. Grönlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy.* 2007 ;37:1764-72.
115. Sinkiewicz G NoE. Occurrence of *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in human breast milk. *Pediatr Res.* 2005;58:415.

116. Obermajer T, Lipoglavšek L, Tompa G, et al. Colostrum of healthy Slovenian mothers: microbiota composition and bacteriocin gene prevalence. *PLoS One*. 2015;10:e0123324.
117. Gonzalez R, Mandomando I, Fumado V, et al. Breast milk and gut microbiota in African mothers and infants from an area of high HIV prevalence. *PLoS One*. 2013 ;8:e80299.
118. Vitek L, Kotal P, Jirsa M, et al. Intestinal colonization leading to fecal urobilinoid excretion may play a role in the pathogenesis of neonatal jaundice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000;30:294-8.
119. Vitek L, Zelenka J, Zadinova M, Malina J. The impact of intestinal microflora on serum bilirubin levels. *J Hepatol*. 2005;42:238-43.
120. Norin KE, Persson AK, Saxerholt H, Midtvedt T. Establishment of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in germfree mice and their influence on some microflora-associated characteristics. *Appl Environ Microbiol*. 1991;57:1850-2.
121. Ling Z, Liu X, Cheng Y, et al. *Clostridium butyricum* combined with *Bifidobacterium infantis* probiotic mixture restores fecal microbiota and attenuates systemic inflammation in mice with antibiotic-associated diarrhea. *Biomed Res Int*. 2015;2015:582048.
122. Vendt N, Grunberg H, Tuure T, et al. Growth during the first 6 months of life in infants using formula enriched with *Lactobacillus rhamnosus* GG: double-blind, randomized trial. *J Hum Nutr Diet*. 2006;19:51-8.
123. Karczewski J, Troost FJ, Konings I, et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010;298:851-9.
124. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol*. 2007;102:201-2.
125. Imase K, Takahashi M, Tanaka A, et al. Efficacy of *Clostridium butyricum* preparation concomitantly with *Helicobacter pylori* eradication therapy in relation to changes in the intestinal microbiota. *Microbiol Immunol*. 2008 ;52:156-61.
126. Kong Q, He GQ, Jia JL, Zhu QL, Ruan H. Oral administration of *Clostridium butyricum* for modulating gastrointestinal microflora in mice. *Curr Microbiol*. 2011 ;62:512-7.
127. Yang CM, Cao GT, Ferket PR, et al. Effects of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune function, and cecal microflora in broiler chickens. *Poult Sci*. 2012 ;91:2121-9.
128. Benno Y, He F, Hosoda M, et al. Effects of *Lactobacillus* GG yogurt on human intestinal microecology in Japanese subjects. *Nutrition Today*. 1996;31:9-11.
129. Rinne M, Kalliomäki M, Salminen S, Isolauri E. Probiotic intervention in the first months of life: short-term effects on gastrointestinal symptoms and long-term effects on gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006 ;43:200-5.
130. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Effect of probiotics and breastfeeding on the *Bifidobacterium* and

- Lactobacillus/Enterococcus microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr.* 2005 ;147:186-91.
131. Bakker-Zierikzee AM, Alles MS, Knol J. Effects of infant formula containing a mixture of galacto- and fructo-oligosaccharides or viable *Bifidobacterium animalis* on the intestinal microflora during the first 4 months of life. *Br J Nutr.* 2005 ;94:783-90.
 132. Hu XY, Zhou YX, Xu SZ, Lin YY. Effects of probiotics on feeding intolerance in low birth weight premature infants. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2010;12:693-5.
 133. Al-Hosni M, Duenas M, Hawk M, et al. Probiotics-supplemented feeding in extremely low-birth-weight infants. *Journal of Perinatology* 2012;32:253-9.
 134. Güney Varal İ. Prematüre Bebeklerde Probiyotik Desteğinin Beslenme İntoleransı ve Mortalite Üzerine Etkisi (Yandal Uzmanlık Tezi). Bursa: Uludağ Üniversitesi,2014.
 135. Szajewska H, Chmielewska A. Growth of infants fed formula supplemented with *Bifidobacterium lactis* Bb12 or *Lactobacillus GG*: a systematic review of randomised controlled trials. *BMC Pediatr.* 2013 ;13:185.
 136. Steenhout PG, Rochat F, Hager C. The effect of *Bifidobacterium lactis* on the growth of infants: a pooled analysis of randomised controlled studies. *Ann Nutr Metab.* 2009;55:334-40.

EKLER

Tablo 1: Yenidoğan bağırsak florasını oluşturan türler

Tablo 2: Anne sütünden izole edilen bakteri türleri

Tablo 3: Probiyotik türleri

Tablo 4: Probiyotik etki mekanizmaları

Tablo 5: Çalışma gruplarının demografik özellikleri

Tablo 6: Doğum şekli ve gayta bakteri içeriği arasındaki ilişki

Tablo 7: Beslenme şekli ve gayta bakteri içeriği arasındaki ilişki

Tablo 8: Anne sütü mikrobiyal içeriğinin gruplar arasında karşılaştırılması

Tablo 9: Tedavi öncesi gayta mikrobiyal içeriğinin gruplar arasında karşılaştırılması

Tablo 10: Kontrol grubu anne sütü ve gayta örneklerinde daha yüksek miktarda saptanan bakteriler ile bilirubin düzeyleri arasındaki ilişki

Tablo 11: Hasta grupları arasında ikinci gayta örneklerinin mikrobiyal içeriğinin karşılaştırılması

Tablo 12: İlk ve ikinci gayta örnekleri arasındaki mikrobiyal içerik değişiminin karşılaştırılması

Tablo 13: Tedavi alan ve almayan sarılık grupları arasında ortalama bilirubin düzeyleri, bilirubin düzeylerindeki azalma oranı ve sarılığın geçme süresinin karşılaştırılması

Tablo 14: Grupların haftalık kilo alımları açısından karşılaştırılması

Şekil 1: Bağırsak-meme yolağı

Şekil 2: Probiyotiklerin etki mekanizmaları

Şekil 3: Anne sütü örneklerinde türlerine göre bakterilerin sıklığı

Şekil 4: Gayta örneklerinde türlerine göre bakterilerin sıklığı

TEŞEKKÜR

Neonatoloji yan dal eđitimim boyunca bana her tűrlű desteđi veren, yardımlarını, deneyimlerini esirgemeyen, yetiŐmemde bűyűk emeđi olan, kendisinden her konuda çok Őey űđrendiđim deđerli hocam ve tez danıŐmanım Prof. Dr. Nilgűn Kűksal'a, eđitimimde bilgi ve tecrűbelerini paylaŐan, her daim desteđiyle yanımda olduđunu hissettiren Doç. Dr. Hilal Őzkan'a çok teŐekkűr ederim. Ayrıca yenidođan yan dal uzmanlıđı sırasında eđitimime katkı sađlayan baŐta Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Betűl Sevinir olmak űzere ocuk Sađlıđı ve Hastalıđı Anabilim Dalında gűrev yapan tűm hocalarıma da teŐekkűr ederim.

Yan dal eđitimim boyunca beraber bűyűk bir uyum içinde çalıŐtıđımız, sorunların űstesinden gelerek sorumlulukları paylaŐtıđımız, Neonatoloji Bilim Dalı'ndan sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. İpek Gűney Varal, Uzm. Dr. Pelin Dođan ve Uzm.Dr. Bayram Ali Dorum'a çok teŐekkűr ederim.

Yan dal ihtisasım boyunca beraber çalıŐtıđımız asistan arkadaşlarıma ve yenidođan űnitesi hemŐire ekibine teŐekkűr ederim.

Dođduđum gűnden bu gűnlere gelmemde bűyűk emeđi olan anneme, babama ve biricik kardeŐime sonsuz teŐekkűrler.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İzmir’de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi sırası ile Agah Efendi İlkokulu ve Bornova Anadolu Lisesi’nde tamamladım. 1998-2004 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İngilizce Bölümü’nde tıp eğitimimi tamamladıktan sonra, 2005-2010 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda ihtisasımı tamamladım. 2011 yılında Celal Bayar Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dalı’nda Neonatoloji ihtisasına başladım. 2012 yılından itibaren Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda Neonatoloji bölümünde yan dal ihtisasına devam etmekteyim.