



**ANNE SÜTÜNÜN SAKLANMASI: SICAKLIK VE
SAKLAMA KOŞULLARININ MİKROBİYOTA
ÜZERİNE ETKİSİ**

Betül ULUKAYA

**2022
YÜKSEK LİSANS TEZİ
EBELİK**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Meryem ÇOLAK**

**ANNE SÜTÜNÜN SAKLANMASI: SICAKLIK VE SAKLAMA
KOŞULLARININ MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ**

Betül ULUKAYA

T.C.

Karabük Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ebelik Anabilim Dalında

Yüksek Lisans Tezi

Olarak Hazırlanmıştır

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Meryem ÇOLAK

KARABÜK

Nisan 2022

Betül ULUKAYA tarafından hazırlanan “ANNE SÜTÜNÜN SAKLANMASI: SICAKLIK VE SAKLAMA KOŞULLARININ MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Meryem ÇOLAK

Tez Danışmanı, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından Oy Birliği ile Ebelik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 22/04/2022

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Reyhan AYDIN DOĞAN (KBÜ)

Üye : Doç. Dr. Meryem ÇOLAK (KBÜ)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Nurahir BALTAÇI (AFSÜ)

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Hasan SOLMAZ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Betül ULUKAYA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANNE SÜTÜNÜN SAKLANMASI: SICAKLIK VE SAKLAMA KOŞULLARININ MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ

Betül ULUKAYA

**Karabük Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Ebelik Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Meryem ÇOLAK
Nisan 2022, 66 sayfa**

Anne sütü bebek beslenmesinde en önemli besin kaynağıdır. Anne sütündeki mikroorganizmalar bebek bağırsağı için sürekli bir mikrobiyota kaynağıdır ve sağlıklı bir anne sütü farklı bakteri türlerinden yaklaşık 10^9 koloni/ml bakteri içermektedir. Anne sütü ile beslenmenin kesintiye uğradığı durumlarda anne sütünün saklanması alternatifini ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada Sağlık Bakanlığı tarafından da önerilen farklı saklama koşullarının (oda sıcaklığında (25°C) 3 saat; buz dolabında (4°C) 3 gün; dondurucuda (-18°C) 3 ay) anne sütü mikrobiyotası üzerine etkisini değerlendirmek amaçlandı. Çalışma 1 Ekim 2021-01 Ocak 2022 tarihleri arasında Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi (KEAH) ve Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmaya 18-49 yaş aralığında, 22 emziren anne dahil edildi. Anne ve bebeklerin sosyodemografik özelliklerine ait veriler anket formu kullanılarak yüz yüze görüşme yöntemi ile toplandı. Anne sütleri

elle sağım yöntemiyle alındı. Anne sütlerinin bakteri sayısını belirlemek üzere ilk mikrobiyolojik analiz 15 dakika içerisinde yapıldı. Her bir anne sütü rneği üç ayrı tüpe bölündü ve oda sıcaklığında (25°C) 3 saat, buzdolabında (+4°C) 72 saat ve derin dondurucuda (-20°C) 3 ay bekletildikten sonra tekrar mikrobiyolojik analizleri yapıldı. Verilerin dağılımları Kolmogorov Smirnov Testi ile değerlendirildi. Bağımlı gruplar arasında farklı zamanlardaki ölçümler arası farklılık tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ile incelendi. İekli gruplar ile bakteri miktarı arasındaki ilişki Mann Whitney U testi, üç ve üzeri gruplar ile bakteri miktarı arasındaki ilişki Kruskal Wallis H testi ile incelendi. Oda sıcaklığında bekletilen anne sütlerinin toplam bakteri ve *Lactobacillus sp.* sayımında anlamlı derecede düşüş (p<0,01), koliform grubu bakteri ve küf maya sayımında anlamlı derecede artış saptandı (p<0,01). Buzdolabında bekletilen numunelerin toplam bakteri ve koliform grubu bakteri sayımlarında anlamlı derecede artış (p<0,01), *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.* ve küf maya grubu sayımlarında ise istatistiksel olarak anlamlı düşüşler görüldü (p<0,01). Dondurucuda bekletilen numunelerin toplam bakteri, koliform grubu bakteri ve küf maya sayımında anlamlı derecede artış, *Lactobacillus sp.* sayımlarında ise anlamlı derecede azalma olmuştur (p<0,01). Çalışmada anne ve bebeğe ait bazı faktörlerin anne sütü bakteriyel florası ile ilişkisi de incelendi ve sigara kullanan annelerin sütlerindeki *Lactobacillus sp.* sayısının içmeyen annelere göre anlamlı derecede daha az olduğu saptandı (p<0,05). Çalışma sonuçlarımıza göre anne sütünün oda sıcaklığında, buzdolabında veya dondurucuda saklanması bakteriyel olarak güvenli olmadığını, sağım esnasında bulaşan patojen mikroorganizmaların saklama süresi boyunca saklama sıcaklığına bağlı olmaksızın artma eğiliminde olduğunu ve *Lactobacillus sp.* ve *Bifidobacterium sp.* gibi probiyotik olarak değerlendirilebilecek mikroorganizmaların ise sayıca azalma gösterdiğini tespit ettik. Zorunlu olmadıkça anne sütünün depolanmamasını ve bebeğe taze olarak verilmesi gerektiğini dşnmekteyiz.

Anahtar Szckler : Anne st, anne st mikrobiyotası, anne st saklama koşulları.

Bilim Kodu : 10114

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

STORAGE OF HUMAN MILK: EFFECT OF TEMPERATURE AND STORAGE CONDITIONS ON MICROBIOTA

Betül ULUKAYA

Karabük University

Institute of Graduate Programs

Department of Midwifery

Thesis Advisor:

Assoc. Prof. Dr. Meryem ÇOLAK

April 2022, 66 pages

Breast milk is the most important nutritional source in infant nutrition. Microorganisms in breast milk are a constant source of microbiota for the infant's gut and healthy breast milk contains approximately 10⁹ colonies/ml of bacteria from different bacterial species. In cases where breastfeeding is interrupted, alternative storing breast milk has emerged. This study, it was aimed to evaluate the effects of different storage conditions (at room temperature (25°C) for 3 hours; in the refrigerator (4°C) for 3 days; in the freezer (-18°C) for 3 months) on breast milk microbiota. This study was carried out between October 1, 2021, and January 01, 2022, at Karabuk University Training and Research Hospital (KEAH) and Microbiology Laboratory of Medical School. Twenty-two breastfeeding mothers aged 18-49 years were included in the study. Data on sociodemographic characteristics of mothers and babies were collected by face-to-face interview method using a questionnaire. Breast milk was

collected by hand milking method. The first microbiological analysis was performed within 15 minutes to determine the bacterial count of breast milk. Each breast milk sample was divided into three separate tubes and after 3 hours at room temperature (25°C), 72 hours in the refrigerator (+4°C), and 3 months in the deep freezer (-20°C), microbiological analyzes were performed again. The distribution of data was evaluated with the Kolmogorov Smirnov Test. Differences between measurements at different times between dependent groups were analyzed by analysis of variance in repeated measurements. The relationship between the binary groups and the number of bacteria was analyzed by Mann Whitney U test. The relationship between groups of three or more and the number of bacteria was examined with the Kruskal Wallis H test. There was a significant decrease in the total bacteria and *Lactobacillus sp.* counts ($p < 0,01$) and there was a significant increase in coliform group bacteria and mold yeast ($p < 0,01$) count of the samples kept at room temperature. A significant increase was observed in the total bacteria and coliform group bacteria counts ($p < 0,01$) and statistically significant decreases were observed in *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, and mold-yeast group counts of the samples kept in the refrigerator ($p < 0,01$). It was observed that there was a significant increase in the total bacteria, coliform group bacteria, and mold-yeast counts and there was a significant decrease in *Lactobacillus sp.* ($p < 0,01$) of the samples kept in the freezer. In this study, the relationship between some maternal and infant factors and breast milk microbiota was also examined and the number of *Lactobacillus sp.* in the milk of the mothers who smoked was lower than those of the mothers who did not smoke, and this was statistically significant. ($p < 0,05$). According to our study results, we detected that storage of breast milk at room temperature, in the refrigerator, or the freezer is not bacterially safe, and pathogenic microorganisms transmitted during milking tend to increase during the storage period regardless of the storage temperature. We have also determined that there was a significant decrease in the number of microorganisms that can be considered probiotics, such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species. We think that breast milk should not be stored unless it is necessary and should be given to the baby in fresh conditions.

Key Word : Human milk, microbiota of breast milk, storage conditions of milk.

Science Code : 10114

TEŞEKKÜR

Bu tez çalıŐmasının planlanmasında, araŐtırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalıŐmamı bilimsel temeller ışığında Őekillendiren sayın hocam Doç. Dr. Meryem ÇOLAK'a,

Tezimin son Őeklini almasında ve gerekli düzeltmelerin yapılmasında desteğini gördüğüm değerli hocalarım Dr. Öğretim Üyesi Reyhan AYDIN DOĞAN ve Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi'nden Dr. Öğretim Üyesi Nurnehir BOZKURT'a

Bütün süreç boyunca desteğini gördüğüm canım eşim Furkan ULUKAYA ve bu süreçte ilgimi esirgemek zorunda kaldığım biricik kızım Zeynep ULUKAYA'ya en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu alıŐma Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiŐtir (KBÜBAP-21-YL-050).

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	2
GENEL BİLGİLER	2
2.1. ANNE SÜTÜ	2
2.2. ANNE SÜTÜNÜN ÖNEMİ VE YARARLARI.....	3
2.3. ANNE SÜTÜNÜN İÇERİĞİ	4
2.4. ANNE SÜTÜ MİKROBİYOTASI	4
2.4.1. Anne Sütü Mikrobiyal İçeriğin Kaynağı.....	4
2.4.2. Anne Sütü Mikrobiyotasını Etkileyen Faktörler.....	6
2.4.2.1. . Laktasyon Süreci.....	6
2.4.2.2. Doğum Şekli.....	7
2.4.2.3. Gestasyonel Yaş.....	7
2.4.2.4. Maternal Ağırlık Kazanımı.....	7
2.4.2.5. Maternal Beslenme.....	7
2.4.3. Anne Sütü ve Mikrobiyota İlişkisi.....	8
2.4.4. Anne Sütünün Bakteriyel Çeşitliliği.....	9

Sayfa

2.4.4.1. Anne Sütünden İzole Edilen Bakteriler.....	9
2.5. ANNE SÜTÜ BAKTERİLERİNİN İŞLEVİ.....	10
2.6. ANNE SÜTÜNÜN SAĞILMASI, SAKLANMASI.....	11
2.6.1. Anne Sütünün Sağılması	11
2.6.2. Anne Sütünün Saklanması.....	11
BÖLÜM 3.....	13
GEREÇ VE YÖNTEM.....	13
3.1. ARAŞTIRMANIN TİPİ.....	13
3.2. ARAŞTIRMANIN YERİ VE TARİHİ.....	13
3.3. ARAŞTIRMANIN EVREN VE ÖRNEKLEMİ.....	13
3.4. VERİ TOPLAMA ARAÇLARI.....	14
3.5. VERİLERİN TOPLANMASI.....	15
3.6. ANNE SÜTÜ ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI.....	15
3.7 MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER.....	15
3.7.1. Basiyerleri ve Seyreltme Çözeltilisinin Hazırlanışı.....	15
3.7.1.1. Milk Plate Count Agar (Merck Milliopore, Germany).....	16
3.7.1.2. M17 Agar (Merck Milliopore, Germany).....	16
3.7.1.3. MRS Agar (Merck Milliopore, Germany).....	16
3.7.1.4. VRB Agar (Merck Milliopore, Germany).....	17
3.7.1.5. Potato Dextrose Agar.....	17
3.7.1.6. Buffered Peptone Water.....	17
3.8. EKİMLER VE İNKÜBASYON.....	17
3.8.1 Toplam Canlı Bakteri Ekimi ve İnkübasyonu.....	19
3.8.2. <i>Lactobacillus sp.</i> Ekimi ve İnkübasyonu.....	19
3.8.3. <i>Bifidobacterium sp.</i> Ekimi ve İnkübasyonu.....	19
3.8.4. Koliform Grubu Bakterileri Ekimi ve İnkübasyonu.....	20
3.8.5. Küf-Maya Ekimi ve İnkübasyonu.....	20
3.8.6. İnkübasyonun Sonlandırılması ve Petrilerin Değerlendirilmesi.....	20
3.9. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	21
3.10. ARAŞTIRMANIN ETİK YÖNÜ.....	21

3.11. ARAŞTIRMANIN SINIRLILIKLARI VE KARŞILAŞILAN DURUMLAR.....	21
BÖLÜM 4.....	23
BULGULAR.....	23
BÖLÜM 5.....	39
TARTIŞMA.....	39
BÖLÜM 6.....	46
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
6.1. SONUÇ.....	46
6.2. ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR.....	48
EK AÇIKLAMALAR A. VERİ TOPLAMA FORMU.....	52
EK AÇIKLAMALAR B. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU.....	56
EK AÇIKLAMALAR C. ETİK KURUL KARARI.....	62
EK AÇIKLAMALAR D. KURUM İZİNİ.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Bağırsak meme aksı	5
Şekil 3.1. Besiyerlerinin hazırlanıp sıcak su banyosunda bekletilmesi.....	16
Şekil 3.2. Bakteri ekimleri.....	18
Şekil 3.3. Ekimlerin yapıldığı emniyet kabini.....	18
Şekil 3.4. Petri kutularında oluşan kolonilerin görüntüsü	20
Şekil 4.1. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin toplam bakteri sayısı grafiği.....	27
Şekil 4.2. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin <i>Bifidobacterium sp.</i> sayısı grafiği.....	29
Şekil 4.3. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin <i>Lactobacillus sp</i> sayısı grafiği.....	30
Şekil 4.4. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin koliform grubu bakteri sayısı grafiği	32
Şekil 4.5. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin küf maya grubu bakteri sayısı grafiği.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Anne sütü için önerilen uygun saklama koşulları.....	12
Çizelge 4.1. Annelerin sosyodemografik özellikleri.....	24
Çizelge 4.2. Annelerin bebeklerinin özellikleri.....	25
Çizelge 4.3. Annelerin beslenme özellikleri.....	26
Çizelge 4.4. Sıcaklık ve saklama sürelerine göre anne sütündeki toplam bakteri sayısı.....	26
Çizelge 4.5. Sıcaklık ve saklama sürelerine göre anne sütündeki <i>Bifidobacterium sp.</i> sayısı.....	28
Çizelge 4.6. Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre <i>Lactobacillus sp.</i> sayısı.....	29
Çizelge 4.7. Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre koliform grubu bakteri sayısı.....	31
Çizelge 4.8. Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre küf maya grubu bakteri sayısı.....	32
Çizelge 4.9. Anne sütü mikrobiyotası ile doğum şekli arasındaki ilişki.....	34
Çizelge 4.10. Anne sütü mikrobiyotasının annelerin sigara içme durumu ile ilişkisi.....	35
Çizelge 4.11. Anne sütü mikrobiyotasının laktasyon süresiyle ilişkisi.....	35
Çizelge 4.12. Anne sütü mikrobiyotasının beslenmede meyve/sebze tüketme durumuyla ilişkisi.....	36
Çizelge 4.13. Anne sütü mikrobiyotasının beslenmede süt ve süt ürünleri tüketme durumuyla ilişkisi.....	37
Çizelge 4.14. Anne sütü mikrobiyotasının su tüketme şekli ile ilişkisi.....	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KISALTMALAR

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

KEAH : Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Anne sütü, besleyiciliği ve immünolojik özellikleri ile yenidoğan için çok önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından bebeğin ilk altı ay sadece anne sütü alması, en az iki yıla kadar da emzirmeye devam edilmesi doğal beslenme olarak değerlendirilmekte ve önerilmektedir [1].

Anne sütü, büyüme ve gelişmenin sağlıklı ilerlemesi için beslenmede en iyi seçenektir. Karbonhidrat, nükleotid, yağ asiti, immünglobulin, sitokin, lizozim, laktoferrin, poliamin, immün hücre ve immün düzenleyici maddeleri içermesiyle birlikte içerdiği mikroorganizmalar ile bebek barsağı için sürekli bir mikrobiyota kaynağıdır. Sağlıklı anne sütü yaklaşık 10^9 cfu/ml mikroorganizma içermektedir. Anne sütünde potansiyel probiyotik özelliği olan *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* gibi bakterilerin yanında bazı *Bifidobacterium* türleri de bulunmaktadır. Anne sütünden izole edilen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri bebeklerde birçok metabolik olayın gerçekleşmesinde etkilidir ve yenidoğan barsağında özel ve sağlıklı mikrobiyota oluşmasına katkısı vardır [2].

Annelerin bebeğini emzirerek taze süt vermesi anne sütü ile beslenmede ideal olanıdır. Ancak anneden ya da bebekten kaynaklı sorunlardan dolayı emzirme bazen kesintiye uğrayabilmektedir [3]. Bu süreçte anne sütü alımının devamı için anne sütü saklama konusu üzerinde durulmuştur. Saklama koşulları ve süresi, patojen mikroorganizma gelişiminin önlenmesi, besinsel, immünolojik ve bakteriyel içeriğinin korunması bakımından anne sütü saklama konusu önemlidir.

Takci vd. 48 anneden toplanan sütler ile yaptıkları çalışmada sütleri 10 kısma ayırmış, ikisini bekletmeden, diğerlerini -20°C ve -80°C 'de 1 ay ve 3 ay dondurup

sonrasında değerlendirmiştir. Bekletilmeyen sütlerin *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı bakterisit olduğu saptanırken 1 ay dondurulan sütlerde bakterisit etki olmamış, 3 ay dondurulan sütlerde ise bakterisit etki azalmıştır [4]. Saklama ısı ve süresinin incelendiği bir diğer çalışmada 18 anneden 42 anne sütü örneği toplanmış, bekletilmeden ve -20°C'de 2 gün dondurulup sonra çözdürüldükten sonra tekrar analiz edilmiştir. Tüm işlemler sonrası yağ içeriğinde düşüş, protein ve karbonhidrat düzeyinde yükselme olduğu bildirilmiştir [5]. Ankrah vd. anne sütü saklama konusunda yaptıkları çalışmada sakladıkları anne sütündeki glutathione düzeyinin yeni sağılmış süte göre daha az olduğunu saptamışlardır [6]. Lawrence' in 14 anne sütü örneğiyle yaptığı bir çalışmada biyoaktif protein konsantrasyonları ve ısıtma sonrası proteinlerdeki değişim gözlemlenmiştir. Isıtma sonrası laktoferrin ve sekretuar IgA düzeyinin değişmediği, lizozom konsantrasyonunun artışa geçtiği, Leptin düzeyinde ise değişiklik olmadığı görülmüştür. Ayrıca çalışmada 72 saate kadar buzdolabında saklanan anne sütünde çok az değişiklik gözlendiğini ve sütü saklamada kullanılan cam kapların zararının diğerlerinde göre az olduğunu bildirmiştir [7]. Slutzah vd. anne sütünü 4°C'de 4 gün, -20°C ve -80°C'de 12 ay saklamış ve C vitamini miktarının saklanan sütlerde düştüğü, E vitamini ve yağ asidi seviyelerinin değişmediğini gözlemlenmişlerdir. 4°C'de 4 gün saklanan anne sütünde osmolarite, toplam bakteri ve gram (-) bakteri kolonileri, yağ konsantrasyonları ve laktoferrin düzeyinde kayda değer bir değişiklik görülmediğini bildirmişlerdir. [8].

Bu çalışmada; farklı sıcaklık ve sürelerde (oda sıcaklığında 25°C'de 3 saat; buzdolabında 4°C'de 3 gün, dondurucuda -20°C'de 3 ay) saklanan anne sütlerinin mikrobiyotasındaki değişimi değerlendirmek, saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotasına etkisi hakkında bilgi edinmek ve anne sütünün en verimli koşullarda saklanması konusunda literatüre katkı sağlamak için KEAH lohusa servisinde yatmakta olan veya bebeğine süt vermeye devam eden gönüllü 30 anneden alınan sütlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. ANNE SÜTÜ

Anne sütü doğum sonrasında yenidoğanın tüm beslenme ihtiyacını karşılayan fizyolojik besindir. Dünya Sağlık Örgütü bebeklerin beslenmesinde ilk 6 ay sadece anne sütü olmasını önermekte ve 6 aydan sonra anne sütüne ek olarak diğer gıdalara geçilmesi gerektiğini bildirmektedir [1].

2.2. ANNE SÜTÜNÜN ÖNEMİ ve YARARLARI

Anne sütünün içeriğindeki immüoglobulinler; antiviral, antibakteriyel ve antialerjik etki göstererek ilk 18 ay bebeği gastrointestinal sistem enfeksiyonlarından, solunum yolu enfeksiyonlarından, sepsisten, menenjitte ve astım gibi alerjik hastalıklardan korumaktadır. Anne sütünde bulunan minerallerden demir, kolay ve tam sindirilebildiği için ilk aylarda bebekte görülebilecek demir eksikliğinin önüne geçer. Fosfor ve kalsiyum içeriği de normal kemik mineralizasyonu için yeterlidir [3]. Anne sütünün içeriği emzirme dönemi boyunca değişmekte, bebeğin yaşına göre farklılık göstermektedir [9].

Yenidoğanın ve bebeğin yanı sıra emzirme ile salgılanan oksitosinin annenin uterusunun toparlanmasını hızlandırması, emzirme ile gebelikte alınan fazla kiloların kaybına yardımcı olması ve kanser riskini azaltması anneye yararlarındandır [9]. Dünya Sağlık Örgütü doğumdan sonra bebeklerin 6 ay tek başına anne sütü alması ve en az iki yıl kadar da emzirilmesi ile yılda 800.000 bebek ölümü ve 20.000 annenin de meme kanseri nedeniyle ölümünün önlenebileceğini belirtmektedir [1].

2.3. ANNE SÜTÜNÜN İÇERİĞİ

Anne sütü birçok kimyasal ve hücrenel bileşen içeriğine sahip, canlı yapıda bir sıvıdır. Anne sütündeki başlıca makrobesinler; laktoz, oligosakkaritler, süt lipitleri, trigliserit, kolesterol, fosfolipit, steroid hormonlar, kazein, alfa-laktalbumin, laktoferrin, sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, magnezyum, fosfat, sekretuvar IgA, lizozimdir. Anne sütündeki besinsel içeriğin çoğu multifonksiyoneldir. Anne sütündeki makrobesinlerin bakteriyostatik ve bakterisit etkilerinin yanında bağışıklığı düzenleme sindirime yardımcı olma gibi fonksiyonları vardır. Anne sütündeki hücrenel bileşenlere bakıldığında; başlıcaları makrofaj, lenfosit, nötrofil, epitelyal hücrelerdir [10].

2.4. ANNE SÜTÜ MİKROBİYOTASI

Anne sütünün içeriğinde protein, karbonhidrat, yağ, vitamin, mineral, su ve çeşitli biyoaktif bileşenleri içermektedir. Anne sütünün mikrobiyotası bu biyoaktif bileşenlerin en önemlisidir [11].

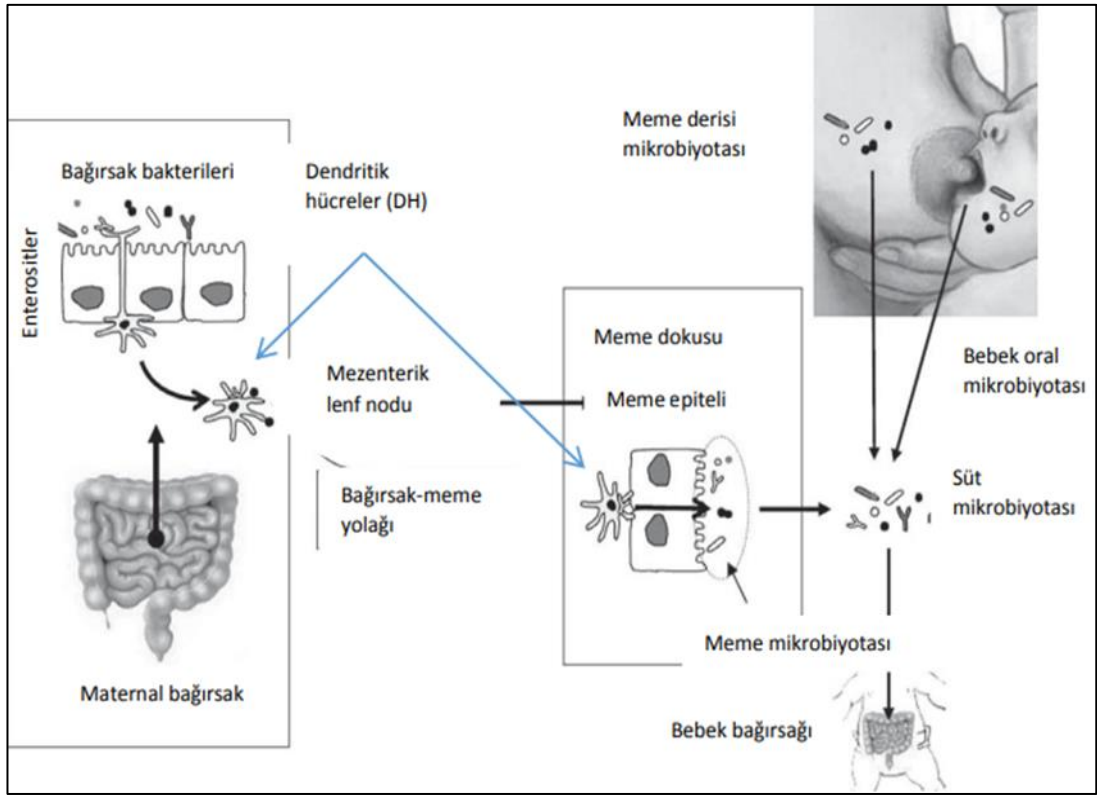
Anne sütünün mikrobiyotasının büyük bir kısmını “Temel mikrobiyota” olarak adlandırılan mikroorganizmalar oluşturur. Diğer kısmı ise anneye özgüdür ve anneden annede farklılık göstermektedir. Araştırmacılar; anne sütünde 200’den fazla bakteri türü bulunduğunu ve en çok karşılaşılan bakterilerin *Staphylococcus* ve *Streptococcus* türleri olduğunu bildirmişlerdir [12-15].

2.4.1. Anne Sütündeki Mikrobiyal İçeriğin Kaynağı

Anne sütü yakın geçmişe kadar steril kabul edilmekte ve anne sütünden izole edilen bakterilerin kontaminasyon kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Yapılan bazı çalışmalardan sonra anne sütünün bebek için yararlı bakteri kaynağı olduğu sonucuna varıldı [2,16]. Ancak anne sütündeki mikroorganizmaların kaynağı ile ilgili hala farklı görüşler olmakla birlikte henüz net ya da tek bir kaynağı olup olmadığı kesinleşmemiştir. Potansiyel üç tane kaynak üzerinde durulmuştur [17,18].

1. Geri akış; araştırmacılar bebeğin oral florasındaki bakterilerin emzirme sırasında geri akış ile süte geçtiğini, bebekteki bakterilerin ise doğum esnasında vajinal floradan kaynaklı olduğu ileri sürmüştür [16].

2. Bağırsak meme aksı; yapılan çalışmalarda anne sütü içeriğinde bağırsak florasında bulunan bakterilere veya DNA'larına rastlanması, bakterilerin entero-mammary pathway olarak adlandırılan "endojen" bir yolla anne bağırsağından meme dokusuna taşındığı görüşünün ortaya çıkmasına neden olmuştur [19].



Şekil 2.1. Bağırsak meme aksı [19].

3. Meme Dokusu Bakteriyomu: Bakterilerin emme sırasında anne cildinden süte geçtiği ileri sürülmüştür. Sekiz annenin cildinden, meme areolasından ve sütünden alınan örneklerle bebeklerinin oral ve fekal florasının incelendiği bir çalışmada tüm örneklerde laktik asit bakterisine rastlanmıştır. Ancak meme cildindeki bakteri profilinin, süt örneklerinden farklı olduğu görülmüştür. Sonuç olarak anne sütündeki laktik asit bakterilerinin meme cildinden kaynaklanmayabileceği, kendi içinde bir orjine sahip olabileceği fikri ortaya atılmıştır [16].

2.4.2. Anne Sütü Mikrobiyotasını Etkileyen Faktörler

Anne sütü mikrobiyotasını; doğrudan olmasa da bakteriyel analiz sonuçlarını etkileyeceğinden mikrobiyolojik analiz yöntemleri etkileyebilmektedir. Kültürden bağımsız yöntemlerin, DNA dizileme yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulamaya geçilmesi ile temelde 16S rRNA geni baz alınarak, anne sütünde mikrobiyal DNA tespiti doğrulanmıştır. Yeni yöntemlerin kullanılmasıyla anne sütünde çeşitli ve zengin bir mikrobiyal floranın varlığı tespit edilmiştir [20]. Anne sütünde *Staphylococcus* ve *Streptococcus sp.* bakterilerinin baskın olduğu, *Lactobacillus sp.* ve *Bifidobacterium sp.* varlığı ve diğer bakteri grupları da tespit edilmiştir [20]. Anne sütü bakteriyel profili genel olarak kompleks yapıdadır. Yüzlerce bakteri arasından yalnızca 9 türün her annenin sütünde bulunduğu bildirilmiştir. Moleküler tanı yöntemlerinin bazı kısıtlılıkları da mevcuttur. Anne sütü bakterilerinin yaşama kabiliyeti analiz edilememektedir. DNA ekstraksiyon yöntemleri, hücre duvarı bileşimi, ve mikrobiyal 16S rRNA gen kopya sayısı toplam bakteri sayımında değişimlere neden olabilmektedir.

Anne sütü bakteriyel florasını etkileyen diğer potansiyel faktörlere bakıldığında; numune alma yöntemleri (günün hangi saatinde alındığı, hijyen yöntemleri, emzirmeden önce-sonra örnek alınması, elle ya da pompa ile süt sağımı), DNA ekstraksiyon yöntemleri, dizileme platformları, hazırlık aşaması vb. de yer almaktadır [20]. Kalıtsal faktörler, doğum şekli, annenin beslenme özellikleri, sütün sağıldığı zaman, laktasyon aşaması, probiyotik kullanımı vb. faktörler anne sütü mikrobiyal kompozisyonunu etkilemektedir. Ayrıca annenin cilt florası, oral flora, vajinal flora, anne-yenidoğan bağırsak florasını etkileyen her şey, anne sütü florasını da etkileyebilmektedir.

2.4.2.1. Laktasyon Süreci

Emzirme sürecinde, kolostrum örneklerindeki bakteriyel çeşitlilik olgun süte göre daha fazladır. Laktasyonun evresi, anne sütündeki bakterileri etkileyen bir faktördür [20].

2.4.2.2. Doğum Şekli

Doğum şekli, anne sütünün mikrobiyotasının etkileyen faktörler arasındadır. Normal doğum yapan annelerin sütlerinde; sezaryen doğum yapan annelerinkine göre bakteriyel çeşitliliğin daha fazla olduğu, *Lactobacillus sp.* ve *Bifidobacterium sp.* bakterilerin baskın olduğu belirlenmiştir [21].

2.4.2.3. Gestasyonel Yaş

Anne sütü mikrobiyotası, gestasyonel yaştan etkilenmektedir. Zamanında ya da erken doğum yapanlar arasında önemli farklılıklar mevcuttur. Zamanında doğum yapan annelerin kolostrumlarında, daha az *Enterococcus sp.*, daha fazla *Bifidobacterium sp.* olduğu söylenmektedir [20].

2.4.2.4. Maternal Ağırlık Kazanımı

Anne sütü mikrobiyota bileşimi maternal fizyolojik durumlara göre de değişmektedir. Maternal obezite, anne sütünde bulunan *Staphylococcus* türü bakterilerin, leptin ve proinflamatuvar yağ asidi düzeyinin artmasına neden olurken diğer yandan da mikrobiyal çeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır [20].

2.4.2.5. Maternal Beslenme

Annenin beslenme özelliklerinin anne sütündeki bakterilere etkisine dair çalışmalar kısıtlıdır. Anne ve yenidoğan bağırsak florası ve anne sütü makrobesinlerini etkileyen beslenme özelliklerinin anne sütü mikrobiyal içeriğini de değiştirebileceği öngörülmüştür [20]. Annenin beslenme özellikleri çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek, anne sütünün lipit içeriğini değiştirmektedir. Anne sütündeki bu yağ asitleri bebeklerde bağışıklığı düzenleyici etkiye sahiptir ve hayvan deneylerinde sütteki yağ asitlerinin erken dönemde bağırsak florasını değiştirebildiği görülmüştür. Gebelik ve emzirme döneminde probiyotik ve prebiyotik kullanımının, anne sütü bakterilerini etkileyebildiği öngörülmüş ancak bağırsaktaki bakterilerin meme

florasına potansiyel transferini ve bazı bakteri suşlarının etkisini görebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır [20].

2.4.3. Anne Sütü ve Mikrobiyota İlişkisi

Anne sütünde gelişimsel ve bağışıklık artırıcı özelliği olan oligosakkaritler, immünoglobulinler vb. faktörler bulunmaktadır. Anne sütü ve bebek mikrobiyotası için önemli bir belirleyici, oligosakkarit içeriğidir [28]. Anne sütü oligosakkaritleri, *Bifidobacterium sp* dahil olmak üzere spesifik bakterilerin çoğalmasını teşvik eden prebiyotikler olarak işlev görmektedir [22]. Çalışmalarda anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsak florasında *Bifidobakterilerin* çoğunlukta olduğu gösterilmiştir

Son zamanlara kadar anne sütü steril kabul edilmekteydi. Anne sütünden izole edilen bakterilerin kontaminasyon veya enfeksiyon kaynaklı olduğu öngörülmüyordu. 2003 yılında ‘‘Anne sütü sterildir’’ dogmasını sarsan iki önemli çalışma yayınlandı [2,16]. Anne sütünün bebeğin bağırsağı için devamlı ve mükemmel bir kommensal ve probiyotik bakteri kaynağı olduğunu gösterdiler. Anne sütünde bulunan kommensal bakteriler; yenidoğanlarda bağırsak epitelinin farklılaşması, bağırsakla ilişkili lenfoid doku gelişimi ve bağışıklık sisteminin olgunlaşmasında etkin rol oynamaktadır [23].

Vajinal doğum ve anne sütüyle beslenme bebekler için erken dönemde sağlıklı mikrobiyota geliştirmek için ideal koşul olarak kabul edilmektedir. Yaşamın erken dönemlerinde şekillenen mikrobiyota kısa ve uzun vadeli bebek sağlığı durumuna katkıda bulunan ana faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir [23]. Anne sütü ile beslenen bebekler başta enfeksiyonel hastalıklar, akut ishal ve alerjik hastalıklar olmak üzere birçok hastalıktan korunmaktadır [23]. Güncel çalışmalarda anne sütünün obezite, diyabet, lösemi gibi kronik ve ciddi hastalıklardan da koruduğuna dair kanıtlar vardır. Anne sütünün hastalıklardan koruyucu etkisinde, bebeğin bağırsak mikrobiyotası üzerine ve dolayısıyla immün sistem üzerine etkileri ile olduğu düşünülmektedir. Ancak anne sütünün bu yararlı etkilerinin görülebilmesi için annenin de sağlıklı bir mikrobiyotaya sahip olması gereklidir [24].

2.4.4. Anne Sütünün Bakteriyel Çeşitliliği

Araştırmacılar; anne sütünde yararlı ve potansiyel probiyotik flora içeriği olduğunu söylemektedirler. Günlük ortalama 800 ml anne sütü alan bir bebeğin anne sütü ile birlikte 10^7 - 10^8 adet bakteri aldığı belirtilmektedir [19]. Dolayısıyla anne sütü tüketen her bebeğin bağırsak florası kendi annesinin süt florasını yansıtmaktadır. Bebeklerde mikrobiyotanın yetişkinlere benzemesi bebeklerin süttten kesildiği dönemde başlamaktadır [19]. Kültür kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarla anne sütündeki bakteri çeşitliliğinin ilk kanıtları ortaya atılmıştır. Yapılan çalışmalarda anne sütünde *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* türlerinin baskın olduğu, ek olarak canlı *Bifidobacterium* türleri de görülmüştür. Farklı ülke ve coğrafi bölgelerdeki annelerin sütleri toplanarak gerçekleştirilen çalışmada; annelerin hepsinin sütündeki bakterilerin aynı türde olması, sütteki bakterilerin memenin doğal florasında bulunan bakterileri içermesi, bakterilerin bulaş kaynaklı olmadığını kanıtlamıştır [19]. Yapılan çalışmalarda *Lactobacillus sp*, *Bifidobacterium sp*, *Staphylococcus sp* ve *Enterococcus sp* bakterilerin anneden bebeğe geçtiği saptanmıştır [29]. Anne sütü bebek bağırsak florası için çok zengin bir bakteriyel kaynaktır. Anne sütü alan bebeklerde bakteri çeşitliliğinin bu denli fazla olmasının yakın ve uzak dönem sağlığında etkili olduğu ileri sürülmektedir [20].

2.4.4.1. Anne Sütünden İzole Edilen Bakteriler

Anne sütü bebek bağırsak florası için sürekli ve yararlı bir bakteriyel kaynaktır. Anne sütünde en sık karşılaşılan bakteriler; *Lactobacillus spp.* (*L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*), *Staphylococcus sp.* (*S. salivarius*, *S. mitis*, *S. peares*, *S. parasanguis*), *Enterococcus* (*E. Faecalis*, *E. faecium*) türlerine ait bakterilerdir [19]. Doğum sonrası hemen başlayan mikrobiyal kolonizasyonda *Streptococcus sp* ve *Escherichia coli* gibi fakültatif anaerobik suşlar daha fazla olsa bile; bebek anne sütü tükettikçe *Escherichia coli*, *Clostridia* ve *Streptococcus* bakterileri azalmakta, *Lactobacillus sp* artmaktadır. Bunlara ek olarak yapılan çalışmalarda anne sütünde; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus Salivarius*, *Lactobacillus crispatus*, *Leuconostoc Lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* *Rhodotorula mucilaginosa*,

Bifidobacterium bifidum, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, *Corynebacterium spp.* *Peptostreptococcus spp.*, *Bifidobacterium Adolescentis*, , *Bifidobacterium breve*, *Kocuria rhizophila*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus vaginalis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus mundtii*, *Lactobacillus Oris*, *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus Helveticus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus australis*, *Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus vestibularis* bakterilerine de rastlanmıştır [19].

2.5. ANNE SÜTÜ BAKTERİLERİNİN İŞLEVİ

Anne sütündeki mikroorganizmalar bebek bağırsağı için birçok fonksiyona sahiptir. Anne sütünde bulunan bakteriler; besin yarıışı, antimikrobiyal madde üretme, müsin üretiminde artış ve bağırsak geçirgenliğinde azalmaya neden olma gibi mekanizmalarla bebeklerde enfeksiyon sıklığı ve şiddetini azaltmaktadır [19,29]. Anne sütü bakterilerinin *S. aureus* ve metisilin dirençli *S. aureus* kolonizasyonunu engellediği gösterilmiştir [29]. Anne sütündeki *Lactobacillus sp.* gibi bazı türler bebekte doğal ve kazanılmış immün sistem yanıtlarını düzenlemekte ve bebeğin bağışıklık sistemi gelişiminde etkin rol oynamaktadır [19]. Bu olumlu etki bebek bağırsağındaki mikro çevreye göre esneyebilmektedir. Vücutta enflamatuar uyarı olmadığında; sütteki *Lactobacillus fermentum* ve *Lactobacillus salivarius*'un TNF- α , IL-2, IL-12 gibi Th1 sitokin üretimini uyardığı görülmüştür. Buna ters olarak vücutta lipopolisakkarit bulunduğunda ise Th1 sitokin üretimini azaltmaya yönelik fonksiyon göstermektedirler. Anne sütündeki bu bakteriler; CD4+, CD8+, NK ve T hücrelerini ayrıca düzenleyici T hücrelerini aktifleştirerek doğal ve kazanılmış immün sistem üzerine olumlu etki etmektedir. Anne sütündeki bakteri suşları, aynı türün anne sütü dışındaki bir kaynaktan elde edilen diğer suşlar ile karşılaştırıldığında, anne sütündeki bakteri suşlarının IL-1 ve IL-10 üretiminde daha fazla rol oynadığı görülmüştür [29]. Anne sütündeki *Lactobacillus gasseri*'nin bebekte inek sütü alerjisi varlığında semptomları azalttığı görülmüştür. Atopik bebeklerin bağırsağındaki viridans *Streptokokların* sağlıklı bebek bağırsak florasındakilere göre daha az olduğu saptanmıştır [19]. Anne sütü bakterileri bebek vücut sisteminde birçok metabolik

fonksiyona da sahiptir. Anne sütünden izole edilen *Bifidobacterium sp* ve *Lactobacillus sp.* bakterilerin bebeğin bağırsağında kendine özgü ve sağlıklı flora oluşumuna katkısı oldukça fazladır. Anne sütündeki bakteriler bunlara ek olarak; şeker ve protein yıkımına yardımcı olup bebeğin sindiriminde etkili rol oynar. Anne sütünde bulunan *Lactobacillus* türü bakteriler kolonositlere enerji kaynağı olarak görev yapan fonksiyonel metabolitlerin üretimini artırır ve bağırsakların fonksiyonunun düzenlenmesinde etkilidir. Dışkı su içeriğini, dışkılama sıklığı ve hacmini artırarak bağırsak alışkanlıklarını düzenlemeye yardımcı olur [29].

2.6. ANNE SÜTÜNÜN SAĞILMASI, SAKLANMASI

Yenidoğan beslenmesinin en önemli unsuru olan anne sütünün bebeğe en sağlıklı ulaştırma şekli emzirmedir. Ancak anne veya bebeğin yoğun bakımda kalması, bebeğin memeyi almaması, annenin çalışma hayatına erken dönmesi vb. nedenlerle emzirme süreci sekteye uğrayabilir [3]. Bu tür durumlarda bebeğin anne sütü almasının ve emzirmenin devamlılığının sağlanması için anne sütünün sağılması ve uygun yöntemlerle saklanması gerekmektedir.

2.6.1. Anne Sütünün Sağılması

Günümüzde anne sütünün sağılmasında elle veya pompalarla sağım gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Anne sütü sağımının manuel veya elektrikli pompa ile gerçekleştirilmesinin anne sütü üretimi bakımından fark taşımadığı belirtilmektedir [14]. Ancak pompa yardımı ile sağılmış anne sütünde kontaminasyonun önlenmesi için sağım pompasına ait parçaların sterilize edilmesi önemlidir.

2.6.2. Anne Sütünün Saklanması

Sütün besleyiciliğinin ve mikrobiyal içeriğinin korunması için anne sütünün saklanması hususu çok önemlidir. Sağlık Bakanlığı tarafından hijyenik şartlarda sağılan anne sütünün saklanması ile ilgili hazırlanan “Anne Sütü ve Emzirme Eğitim Rehberi”nde anne sütünün uygun kaplarda 25°C’de 3 saat, buzdolabında +4°C’de 3 gün ve derin dondurucuda -18°C’de 3 aya kadar saklanabileceği önerilmektedir [30].

Anne sütü için Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından önerilen uygun saklama koşulları izelge 2.1’de gösterilmiştir [30].

Çizelge 2.1. Anne sütü için önerilen uygun saklama koşulları [30].

Depolama Yeri	Depolama Isısı	Depolama Süresi
Oda Isısı	25°C	3 saat
Buzdolabı	+4°C	3 gün
Derin Dondurucu	>-18°C	3 ay

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMANIN TİPİ

Araştırma, anne sütünün saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotasındaki bakteri sayısı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılmış tanımlayıcı bir araştırmadır.

3.2. ARAŞTIRMANIN YERİ VE TARİHİ

Bu araştırma 1 Ekim 2021-01 Ocak 2022 tarihleri arasında KEAH ve Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.3. ARAŞTIRMANIN EVREN VE ÖRNEKLEMİ

Çalışmada annelerden alınan anne sütlerinin farklı saklama koşullarındaki bakteri düzeylerinin hesaplanması amacıyla farklı saklama koşullarında bekletilen sütlerde gelişen bakteri sayıları ve aralarındaki ilişki incelenmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 18-49 yaş döneminde postpartum dönemde, emziren anneler
- Araştırmaya katılmayı kabul eden kadınlar çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- 18 yaşından küçük olan
- 49 yaşından büyük olan
- Doğum öncesi enfeksiyonu olan
- Herhangi bir ilaç kullanan
- Araştırmaya katılmayı kabul etmeyen kadınlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Literatür incelendiğinde benzer bir çalışmaya rastlanmadığından ve Karabük ilinde benzer bir çalışma yapılmadığından $\rho_{H1}=0,3$ (orta düzey) $\rho_{H0}= 0,7$ (yüksek düzey) olarak alınmıştır. Bu çerçevede yapılan analizde 95 güven (1- α), %80 test gücü (1- β), $\rho_{H1}=0,30$ ve $\rho_{H0}= 0,70$ alındığında bivariate normal model çift yön power analizi sonucuna göre 30 anne sütü üzerinde inceleme yapılması planlanarak veri toplanmaya başlanmıştır. Veri toplama işlemine başlandığında COVID-19 pandemisinin olumsuz etkileri nedeniyle 25 anne çalışmaya katılmayı kabul etmiş, 3 anne örnek alımından sonra çalışmaya katılmaktan vazgeçtiğini bildirmiştir. Çalışma 22 anne sütü ile tamamlanmıştır. Verilerin toplanmasından sonra çalışmada örneklem büyüklüğünün yeterliliğini sınamak için yapılan post hoc analizinde; çift taraflı hipotez, 0,05 birinci tip hata ile 22 anne sütündeki bakteri miktarının zamana göre değişim değerleri ile hesaplanmış olduğumuz etki büyüklüğü baz alınarak (ölçüm sonrası bakteri sayıları), literatürde kabul edilen 0,80 gücün üzerinde olduğu (çalışmanın gücü 0,93), dolayısıyla araştırmamızdaki örneklem sayısının yeterli olduğu görülmüştür Post hoc G-Power protokolü aşağıda yer almaktadır.

Exact - Correlation: Bivariate normal model

Options: exact distribution

Analysis: Post hoc: Compute achieved power

Input:	Tail(s)	=	Two
	Correlation ρ_{H1}	=	0,3
	α err prob	=	0,05
	Total sample size	=	22
	Correlation ρ_{H0}	=	0,793
Output:	Lower critical r	=	0,5735223
	Upper critical r	=	0,9134176
	Power (1- β err prob)	=	0,9292857

3.4. VERİ TOPLAMA ARAÇLARI

Araştırmada veri toplama araçları olarak anne sütü numuneleri ve veri toplama/anket formu kullanılmıştır (EK-A1). Veri toplama formu araştırmacılar tarafından hazırlanmış olup, içeriğinde annelerin sosyodemografik özellikleri, sigara kullanma, beslenme alışkanlıkları vb. gibi yaptığımız literatür taramalarında anne sütünün içeriğini etkileyebileceği öngörülen etkenler yer almaktadır.

3.5. VERİLERİN TOPLANMASI

Araştırmada veriler toplanmaya başlanmadan önce, annelere araştırmanın amacı, önemi ve yapılacak işlemler anlatılarak gönüllü onam formu aracılığıyla yazılı onamları alınmıştır. Anket formu yüz yüze görüşme yöntemi ile uygulanmış olup, formun doldurulması ortalama 5 dk sürmüştür.

3.6 ANNE SÜTÜ ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

18-49 yaş arasında, doğum öncesi enfeksiyonu olmayan, herhangi bir ilaç kullanmayan, KEAH Lohusa servisinde yatmakta olan veya bebeğine süt vermeye devam eden ve çalışmaya gönüllü olan 22 anneye elle sağım yöntemi anlatılmıştır. Gerekli hijyenik önlemler alınmasına müteakip çalışmaya katılmayı kabul eden annelerin sütleri el ile sağılarak steril falkon tüplere 7-10 ml örnek alınmıştır. Örnekler vakit kaybetmeden buz çantası içerisinde laboratuvara ulaştırılarak mikrobiyolojik analize alınmıştır. Anne sütlerinin mikrobiyal florasını oluşturan bakteri sayısını belirlemek üzere ilk mikrobiyolojik analiz ilk 15 dk içerisinde yapılmıştır. Her bir anne sütü örneği üç ayrı tüpe bölünmüş ve Sağlık Bakanlığı tarafından anne sütünün saklanması için önerilen koşullar olan oda sıcaklığında (25°C) 3 saat, buzdolabında (+4°C) 72 saat, ve derin dondurucuda (-20°C) 3 ay bekletildikten sonra tekrar analiz edilmiştir.

3.7 MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER

3.7.1. Besiyerleri ve Seyreltme Çözeltilisinin Hazırlanışı

Kültür işlemlerinde ticari toz/granül besiyerleri kullanılmış ve steriliteye dikkat edilerek hazırlanmıştır. Toz/granül besiyerleri orijinal kapaklı ambalajında üreticinin talimatları doğrultusunda karanlıkta ortam sıcaklığında ve buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 3.1. Besiyerlerinin hazırlanışı ve sıcak su banyosunda bekletilmesi

3.7.1.1. Milk Plate Count Agar (Merck Milliopore, Germany)

20 gram besiyerine, 1 L distile su eklendi, manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilerek, kullanılabildiği kadar su banyosunda (47°C) bekletildi.

3.7.1.2. M17 Agar (Merck Milliopore, Germany)

55 gram besiyerine, 1 L distile su eklendi, manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilerek, kullanılabildiği kadar su banyosunda (47°C) bekletildi.

3.7.1.3. MRS Agar (Merck Milliopore, Germany)

68,2 gram besiyerine, 1 L distile su eklendi, manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Sonrasında otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilerek, kullanılabildiği kadar su banyosunda (47°C) bekletildi.

3.7.1.4. VRB Agar (Merck Milliopore, Germany)

39,5 gram besiyerine, 1 L distile su eklendi, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi, kullanım anına kadar 47°C'deki su banyosunda bekletildi.

3.7.1.5. Potato Dextrose Agar

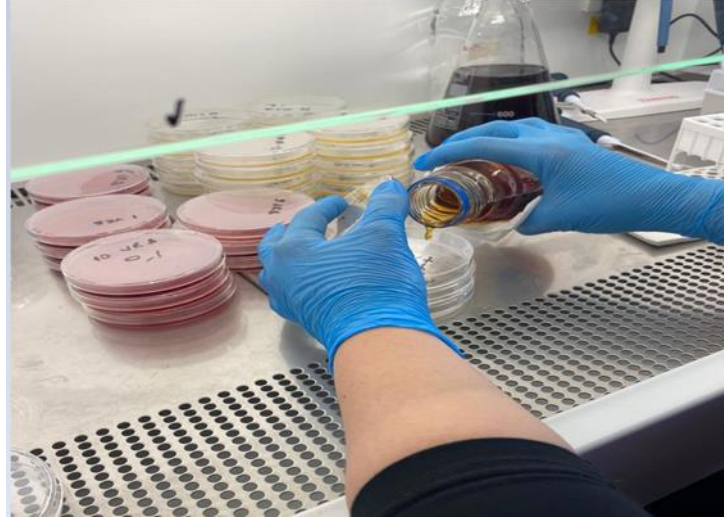
39 gram besiyerine, kutu üzerindeki talimata göre 1 L distile su eklendi, manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Sonrasında otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilerek, kullanım anına kadar 47°C'deki su banyosunda bekletildi.

3.7.1.6. Buffered Peptone Water

1 gram çözeltiyeye 1 L distile su eklendi, manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Her tüpe 9 ml olacak şekilde tüplere bölündü ve sterilize edildi. Ortam sıcaklığına getirildikten sonra kullanıldı.

3.8. EKİMLER ve İNKÜBASYON

Tüm anne sütü örnekleri sağımdan itibaren ilk 15 dakikada, oda sıcaklığında (25°C) 3 saat, buzdolabında (+4°C) 72 saat, ve derin dondurucuda (-20°C) 3 ay bekletildikten sonra olmak üzere toplamda dörder kez incelenmiştir. Her analiz için 1 ml anne sütü kullanılmış olup, mikrobiyolojik analizlerde konvansiyonel yöntemler kullanılmıştır. Bu amaçla toplam canlı bakteri sayısının tespiti için Milk Plate Count Agar (MCA) (Merck Milliopore, Germany), *Lactobacillus* türlerinin tespiti için M17 Agar (Merck Milliopore, Germany) ve *Bifidobacterium* türlerinin tespiti için MRS Agar (Merck Milliopore, Germany), kontamine bakterilerin tespiti için koliform grubu bakterilerin tespitinde VRB Agar (Merck Milliopore, Germany), küf-maya tespitinde Potato Dextrose Agar (Merck Milliopore, Germany) kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Bakteri ekimleri.



Şekil 3.3. Ekimlerin yapıldığı emniyet kabini.

3.8.1. Toplam Canlı Bakteri Ekimi ve İnkübasyonu

Anne sütü numunelerinden 1 ml alınarak içinde 9 ml % 0,1 Buffered Peptone Water bulunan deney tüplerine aktarıldı. Vortekste 5-7 sn karıştırıldı. 1/1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000 oranlarında seyreltilen tüplerden 1 ml ekimler yapıldı. Petri kutularına 10-12 ml Milk Plate Count Agar (MCA) (Merck Milliopore, Germany) besiyeri ilave edilerek katılaşması beklendi. Petri kutuları 37°C’de 72 saat aerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak 1 ml’deki toplam bakteri sayısı tespit edildi.

3.8.2. *Lactobacillus sp.* Ekimi ve İnkübasyonu

Anne sütü numunelerinden 1 ml alınarak içinde 9 ml % 0,1 Buffered Peptone Water bulunan deney tüplerine aktarıldı. Vortekste 5-7 sn karıştırıldı. 1/1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000 oranlarında seyreltilen tüplerden 1 ml ekimler yapıldı. Petri kutularına 20 ml M17 Agar (Merck Milliopore, Germany) besiyeri ilave edilerek katılaşması beklendi. Petri kutuları 37°C’de 72 saat aerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak 1 ml’deki *Lactobacillus sp.* bakteri sayısı tespit edildi.

3.8.3. *Bifidobacterium sp.* Ekimi ve İnkübasyonu

Anne sütü numunelerinden 1ml alınarak içinde 9 ml % 0,1 Buffered Peptone Water bulunan deney tüplerine aktarıldı. Vortekste 5-7 sn karıştırıldı. 1/1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000 oranlarında seyreltilen tüplerden 1 ml ekimler yapıldı. Petri kutularına 20 ml MRSA (Merck Milliopore, Germany) besiyeri ilave edilerek katılaşması beklendi. Besiyerine ekimi yapılmış petriker ise anaerobik jar içerisine yerleştirildikten ve anaerojen kit koyularak inkübatöre kaldırılıp 37°C’de 72 saat anaerobik inkübasyona alındı. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak 1 ml’deki *Bifidobacterium sp.* sayısı tespit edildi.

3.8.4. Koliform Grubu Bakterileri Ekimi ve İnkübasyonu

Anne sütü numunelerinden seyreltme işlemi uygulanmadan 1'er ml ekimler yapıldı. Petri kutularına 20 ml VRB Agar (Merck Milliopore, Germany) besiyeri ilave edilerek katılaşması beklendi. Mikroaerofilik ortam oluşması açısından petrilere dökülen besiyerinin ilk katı katılaştıktan sonra 5-6 ml tekrar besiyeri ilave edildi. Petri kutuları 37°C'de 72 saat aerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak 1 ml'deki koliform grubu bakteri sayısı tespit edildi.

3.8.5. Küf-Maya Ekimi ve İnkübasyonu

Anne sütü numunelerinden seyreltme işlemi uygulanmadan 1'er ml ekimler yapıldı. Petri kutularına 20 ml Potato Dextrose Agar (Merck Milliopore, Germany) besiyeri ilave edilerek katılaşması beklendi. Petri kutuları 25°C'de 72 saat aerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak 1 ml'deki küf-maya sayısı tespit edildi.

3.8.6. İnkübasyonun Sonlandırılması ve Petrilerin Değerlendirilmesi

İnkübasyonu tamamlanan petriyer inkübatörden alınarak oluşan koloni sayılarının tespiti için sınıflandırıldı ve oluşan koloniler sayılarak not edildi.



Şekil 3.4. Petri kutularında oluşan kolonilerin görüntüsü

3.9. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Araştırma kapsamında elde edilen veriler, SPSS for Windows (Version 20.0, Statistical Package for Social Sciences) programı ile değerlendirilmiştir. Araştırmadaki sürekli değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma değerleriyle, kategorik değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler frekans ve yüzde ile gösterilmiştir. Verilerin dağılımı Kolmogorov Smirnov Testi ile değerlendirilmiş ve normal dağılım göstermediği belirlenmiştir. Bağımlı gruplar arasında farklı zamanlardaki ölçümler arası farklılık tekrarlı ölçümlerde varyans analizi (Repeated Measures Friedman Testi) ile incelenmiştir. İkili gruplar ile bakteri miktarı arasındaki ilişki Mann Whitney U testi ile üç ve üzeri gruplar ile bakteri miktarı arasındaki ilişki Kruskal Wallis H testi ile incelenmiştir. Anne sütünün sıcaklık ve saklama koşullarındaki bakteri değişimleri arasındaki ilişki spearman korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizlerde p değeri 0,05'in altındaki ($p<0,05$) karşılaştırmalar, istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.10. ARAŞTIRMANIN ETİK YÖNÜ

Araştırmaya Karabük Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 09/06/2020 tarih 2020/259 sayılı karar ve KEAH'den 28/09/2021 tarih 34771223-774,99-7015 sayılı karar ile kurum izni alındıktan sonra başlanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce bebeğine süt vermeye devam annelere araştırmanın amacı, süresi ve araştırma süresince yapılacak işlemler ile ilgili bilgi verilerek "Aydınlatılmış Onam" ilkesi, annelerin istedikleri zaman araştırmadan çekilebilecekleri belirtilerek "Özerklik" ilkesi, bireysel bilgilerin araştırmacı ile paylaşıldıktan sonra korunacağı söylenerek "Gizlilik ve Gizliliğin Korunması" ilkesi yerine getirilmiş, bu doğrultuda yazılı olarak imza ile izinleri alınmıştır.

3.11. ARAŞTIRMANIN SINIRLILIKLARI VE KARŞILAŞILAN DURUMLAR

Çalışmada anne sütünde bulunan flora üyesi mikroorganizmaların saklama süre ve sıcaklıklarına göre değişimi total yük üzerinden incelenmiş olup florayı oluşturan her bir mikroorganizmanın ayrı ayrı değişiminin incelenemiyor oluşu çalışmamızın bir

kısıtlılığdır. Örnek sayısı 30 olarak belirlenmiş olup, çalımaya 25 anne katılmış, çalışmaya katılan annelerden 3'ü sonradan katılmaktan vazgeçmiş ve çalışma 22 anne sütü örneği ile tamamlanmıştır. Anne sütünün alımından itibaren ilk 15 dk içinde analize alınacak olması nedeniyle örnek alımı sonrası dondurucu vb. ortamlarda depolanmadan laboratuvara ulaştırılması zorunluluğu, çalışmada başlangıçta planlanan sayıda anne sütüne ulaşamamasına neden olmuştur. Bu durum çalışmamızın bir diğer kısıtlılığdır. Covid 19 pandemisinin olumsuz etkilerinin yanı sıra toplumumuzda yaygın olarak inanılan “süt kardeş” kavramı ve anne sütünün kutsal olarak kabul edilmesi nedeniyle “sütün boşa gideceği” endişesi pek çok annenin çalışmaya katılmayı kabul etmemesine neden olmuştur.

BÖLÜM 4

BULGULAR

Araştırma, anne sütünün saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotasındaki bakteri sayısı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya 18-49 yaş arasında, doğum öncesi enfeksiyonu olmayan, herhangi bir ilaç kullanmayan, KEAH Lohusa servisinde yatmakta olan veya bebeğine süt vermeye devam eden ve çalışmaya katılmayı kabul eden anneler dahil edilmiştir.

Çift yön power analizi sonucuna göre 30 anne sütü üzerinde inceleme yapılması planlanmış ancak COVID-19 pandemisinin olumsuz etkileri nedeniyle 25 anne çalışmaya katılmayı kabul etmiş, 3 anne örnek alınmadan sonra çalışmaya katılmaktan vazgeçtiğini bildirmiştir. Çalışma 22 anneden temin edilen anne sütleri ile tamamlanmıştır.

Anneler anket yoluyla temin edilen çeşitli sosyodemografik bilgilere göre değerlendirildiğinde, katılımcıların 21-36 yaş arasında olduğu, yaş ortalamasının $29,50 \pm 4,45$ olduğu saptanmıştır. Annelerin eğitim durumları incelendiğinde %9,1'inin (n=2) ilkokul, %9,1'inin (n=2) lise, %9,1'inin (n=2) ortakokul ve %72,7'sinin (n=16) üniversite mezunu olduğu görülmüştür. Annelerin %27,3'ünün (n=6) çalıştığı, %72,7'sinin (n=16) çalışmadığı saptanmıştır. Çalışan annelerin mesleklerinin %9,1'inin (n=2) hemşire, %4,5'inin (n=1) memur, %4,5'inin (n=1) muhasebeci, %4,5'inin (n=1) öğretmen ve %4,5'inin (n=1) tıbbi sekreter olduğu görülmüştür. Katılımcıların yaşadıkları yer incelendiğinde %63,6'sının (n=14) şehir merkezinde, %31,8'inin (n=7) ilçede ve %4,5'inin (n=1) köyde yaşadığı saptanmıştır. Annelerin ekonomik durumları sorgulandığında tamamının (n=22, %100) orta düzeyde ekonomik duruma sahip olduğunu bildirdikleri görülmüştür. Annelerin sigara içme durumları incelendiğinde %18,2'sinin (n=4) sigara içtiği saptanmıştır. Sigara içen annelerde sigara miktarlarına bakıldığında ise günde 2-10 adet arasında değişkenlik

gösterdiği görülmüştür. Annelerin hiçbirinin (n=22, %100) alkol kullanmadığı, %27,3'ünün (n=6) spor yaptığı görülmüştür. Annelerden ikisinin kronik hastalığı olmasına rağmen sürekli ilaç kullanan annenin olmadığı saptanmıştır. Çalışmadaki annelerin sosyodemografik özellikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Annelerin sosyodemografik özellikleri.

Özellikler		Ort±Ss	Min-Maks (Medyan)
Yaş		29,50±4,45	21-36 (29)
		n	%
Eğitim Durumu	İlkokul	2	9,1
	Lise	2	9,1
	Ortaokul	2	9,1
	Üniversite	16	72,7
Çalışma durumu	Çalışıyor	6	27,3
	Çalışmıyor	16	72,7
Mesleği	Çalışmıyor	16	72,7
	Hemşire	2	9,1
	Memur	1	4,5
	Muhasebeci	1	4,5
	Öğretmen	1	4,5
	Tıbbi Sekreter	1	4,5
Yaşadığı yer	İlçe	7	31,8
	Köy	1	4,5
	Şehir Merkezi	14	63,6
Ekonomik durum	Orta Düzey	22	100
Sigara içme durumu	Evet	4	18,2
	Hayır	18	81,8
Sigara içme miktarı	Hayır	18	81,8
	Günde 2 Adet	1	9
	Günde 2-3 Adet	1	4,5
	Günde 5-10 adet	1	4,5
	Günde 10	1	4,5
Alkol kullanma durumu	Hayır	22	100
Annelerin spor yapma durumları	Evet	6	27,3
	Hayır	16	72,7
Sürekli ilaç kullanma durumu	Hayır	22	100
Kronik bir hastalığa sahip olma durumu	Hayır	20	90,9
	Epilepsi	1	4,5
	İşitme Kaybı	1	4,5
Toplam		22	100

Annelerin bebeklerinin doğum haftasının ortalama $37,91 \pm 1,38$ olduğu, bebek doğum ağırlığı ortalamasının ise $3040 \pm 448,54$ gr. olduğu saptanmıştır. Annelerin doğum şekli incelendiğinde %68,2'sinin (n=15) sezaryen, %31,8'inin (n=7) normal vajinal doğum olduğu görülmüştür. Çalışmamızda annelerin laktasyon zamanlarının 1 gün ile 36 ay arasında değiştiği görülmüştür. Laktasyon zaman aralığı olarak annelerin %27,3 ile en çok 12-18 ay arasında olduğu görülmüştür. Annelerin hiçbirinde sağım esnasında mastit ve meme ucu enfeksiyonu olmadığı saptanmıştır. Bebeklerin sadece 1'inde (%4,5) sarılık, pamukçuk (moniliazis) vb. hastalık olduğu görülmüştür. Çalışmadaki annelerin bebeklerine ait özellikler Çizelge 4.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. Annelerin bebeklerinin özellikleri.

Özellikler		Ort±Ss	Min-Maks (Medyan)
Bebek doğum haftası		37,91±1,38	35-40 (38)
Bebek doğum ağırlığı		3040±448,54	1960-3960 (3095)
		n	%
Doğum şekli	Normal Doğum	7	31,8
	Sezaryen	15	68,2
Laktasyon zamanları	1-15.gün	3	13,6
	15-30 Gün	3	13,6
	1-6 Ay	1	4,5
	6-12 Ay	5	22,7
	12-18 Ay	6	27,3
	18-24 Ay	3	13,6
	24-36 Ay	1	4,5
Mastit ve meme ucu enfeksiyonu	Hayır	22	100
Bebekte sarılık, pamukçuk (moniliazis) vb. hastalık	Evet	1	4,5
	Hayır	21	95,5
Toplam		22	100

Annelerin %86,4'ünün (n=19) beslenmelerinin meyve, sebze tüketimi açısından zengin olduğunu, %54,5'inin (n=12) beslenmelerinin süt ve süt ürünleri tüketimi açısından zengin olduğunu ifade ettiği görülmüştür. Annelerin süt temin etme durumları incelediğinde %40,9'unun (n=9) sütü dışarıdan temin dip kaynatarak, %36,4'ünün (n=8) günlük pastörize süt ve %22,7'sinin (n=5) tüketmediği saptanmıştır. Annelerin içme suyunu temin etme şekilleri incelendiğinde %45,5'inin

(n=10) hazır paket su, %36,4'ünün (n=8) arıtma su ve %8,2'sinin (n=4) çeşme suyu olduğu görülmüştür. Annelerin beslenme özellikleri Çizelge 4.3'tedir.

Çizelge 4.3. Annelerin beslenme özellikleri.

Özellik		n	%
Beslenmenin meyve, sebze tüketimi açısından zengin olma durumu	Evet	19	86,4
	Hayır	3	13,6
Beslenmenin süt ve süt ürünleri tüketimi açısından zengin olma durumu	Evet	12	54,5
	Hayır	10	45,5
Süt Tüketimi tercihi	Dışarıdan temin edilip, kaynatılmış süt	9	40,9
	Günlük pastörize süt	8	36,4
	Tüketmiyorum	5	22,7
İçme suyunu temin etme şekli	Arıtma su	8	36,4
	Çeşme suyu	4	18,2
	Hazır paket su	10	45,5
Toplam		22	100

Sıcaklık ve saklama koşullarının anne sütündeki toplam bakteri florasına etkisi Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre toplam bakteri sayısı 0. saat ile kıyaslandığında 3. saat, 3. gün ve 3. ay arasında yüksek düzeyde anlamlı ilişki görülmüştür ($p<0,01$).

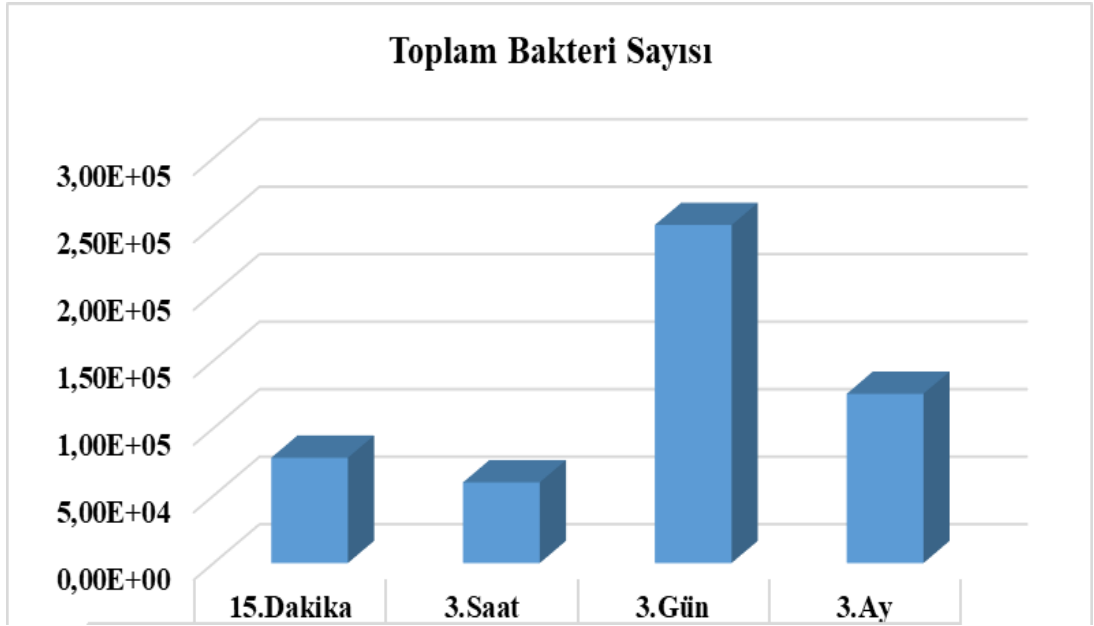
Çizelge 4.4. Sıcaklık ve saklama sürelerine göre anne sütündeki toplam bakteri sayısı.

Saklama süreleri

	0. saat	3. saat* 25°C	r	3. gün* 4°C	r	3. ay* -20°C	r
1	1.10 ⁶	1.10 ⁶	0,793	4.10 ³	0,704	1.10 ⁴	0,664
2	4.10 ²	4.10 ²		2.10 ³		6.10 ³	
3	3.10 ³	3.10 ³		3.10 ³		4.10 ³	
4	2.10 ²	1.10 ²		1.10 ³		3.10 ³	
5	5.10 ²	2.10 ⁵		7.10 ³		7.10 ³	
6	5.10 ³	3.10 ²		3.10 ³		2.10 ⁴	
7	6.10 ³	3.10 ³		3.10 ⁶		2.10 ⁶	
8	1.10 ⁵	4.10 ³		2.10 ⁶		2.10 ⁴	

9	3.10^3	6.10^3		2.10^5		1.10^5
10	1.10^2	4.10^1		3.10^2		1.10^3
11	3.10^4	2.10^4		5.10^2		2.10^4
12	1.10^5	1.10^4		2.10^4		3.10^4
13	3.10^4	4.10^4		3.10^3		2.10^4
14	2.10^5	1.10^4		2.10^5		3.10^5
15	3.10^3	2.10^3		1.10^4		2.10^5
16	2.10^2	1.10^2		2.10^2		2.10^2
17	2.10^2	1.10^2		2.10^2		1.10^2
18	1.10^2	3.10^1		1.10^1		1.10^1
19	3.10^3	2.10^3		1.10^3		1.10^3
20	2.10^5	1.10^4		5.10^4		3.10^4
21	2.10^3	1.10^3		3.10^2		2.10^2
22	3.10^4	3.10^3		3.10^3		4.10^3

r: spearman korelasyon analizi, *p<0,05



Şekil 4.1. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin toplam bakteri sayısı grafiği.

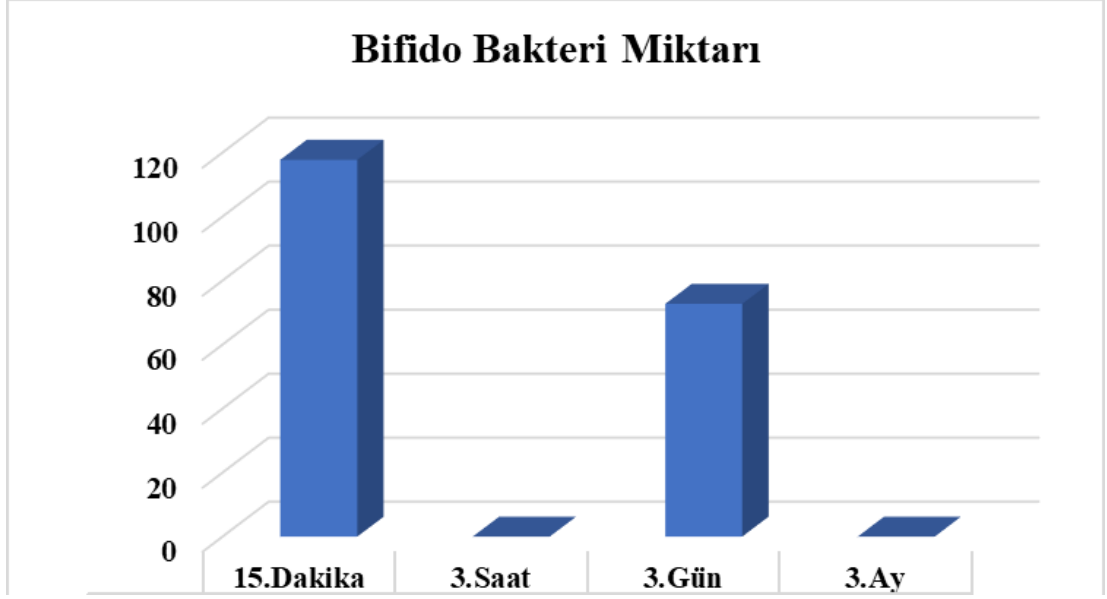
Analiz sonuçlarına göre *Bifidobacterium sp.* sayısı 0. saat ile kıyaslandığında 3. Gün sayımı ile arasında pozitif yönde yüksek düzeyde anlamlı ilişki görülmüştür (p<0,01). Üçüncü saat ile 3.aydaki *Bifidobacterium sp.* sayısı 0 olduğu için *Bifidobacterium sp*

0. saat analizi ile 3. saat ve 3. ay arasında ilişki saptanamamıştır. Sıcaklık ve saklama sürelerine göre değişen *Bifidobacterium sp.* sayısı Çizelge 4.5'tedir.

Çizelge 4.5. Sıcaklık ve saklama sürelerine göre anne sütünde *Bifidobacterium sp.* sayısı.

Anne sütü	Saklama süreleri						
	0. saat	3. saat 25°C	r	3. gün* 4°C	r	3. ay -20°C	r
1	0	0		0		0	
2	1.10 ¹	0		0		0	
3	0	0		2.10 ²		0	
4	0	0		0		0	
5	0	0		5.10 ²		0	
6	0	0		2.10 ¹		0	
7	5.10 ¹	0		1.10 ³		0	
8	1.10 ¹	0		1.10 ²		0	
9	5.10 ²	0		1.10 ²		0	
10	2.10 ²	0		0		0	
11	1.10 ²	0	-	0	0,613*	0	-
12	1.10 ²	0		1.10 ²		0	
13	0	0		0		0	
14	0	0		0		0	
15	1.10 ²	0		7.10 ²		0	
16		0		0		0	
17	0	0		0		0	
18	0	0		0		0	
19	0	0		0		0	
20	1.10 ²	0		0		0	
21	0	0		0		0	
22	1.10 ²	0		0		0	

r: spearman korelasyon analizi, *p<0,01



Şekil 4.2. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin *Bifidobacterium sp.* sayısı grafiği.

Analiz sonuçlarına göre *Lactobacillus* bakteri sayısının 0. saat ile 3. Saat, 3. Gün ve 3. Ay sayısı arasında yüksek düzeyde anlamlı ilişki görülmüştür ($p < 0,05$). Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre *Lactobacillus sp.* sayısı değişimi Çizelge 4.6'dadır.

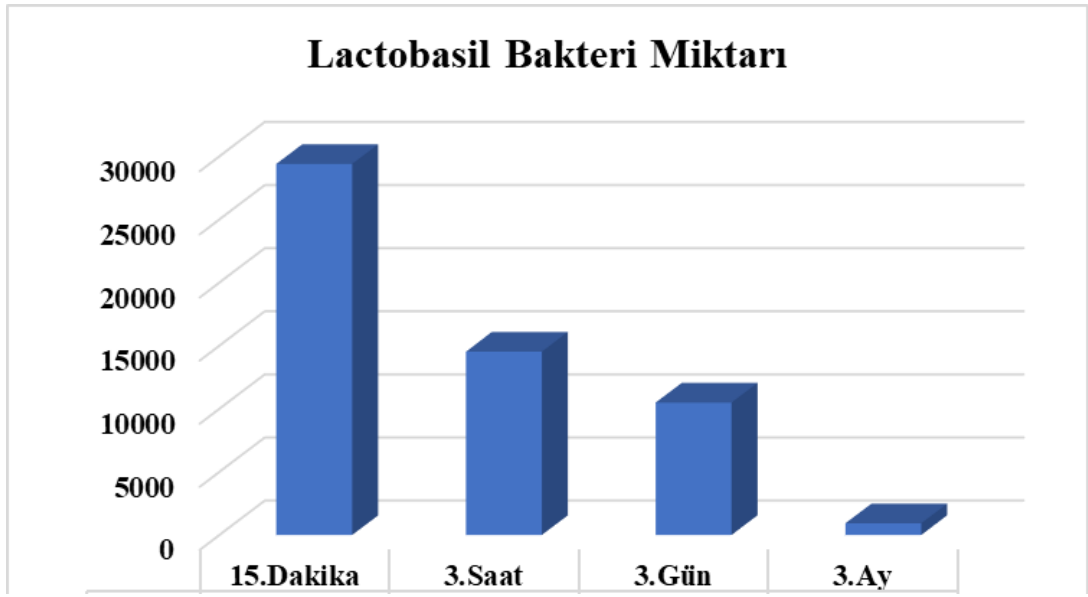
Çizelge 4.6. Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre *Lactobacillus sp.* sayısı

Saklama süreleri

Anne sütü	0. saat	3. saat* 25°C	r	3. gün* 4°C	r	3. ay* -20°C	r
1	$5 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	0,943	$2 \cdot 10^1$	0,882	$5 \cdot 10^1$	0,813
2	$3 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$		$8 \cdot 10^1$		$2 \cdot 10^1$	
3	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$		$1 \cdot 10^1$		$1 \cdot 10^1$	
4	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$		$1 \cdot 10^3$		$2 \cdot 10^2$	
5	$1 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$		$7 \cdot 10^3$		$1 \cdot 10^1$	
6	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$		$1 \cdot 10^3$		$1 \cdot 10^2$	
7	$4 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$		$5 \cdot 10^4$		$2 \cdot 10^3$	
8	$4 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$		$5 \cdot 10^4$		$2 \cdot 10^3$	
9	$4 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$		$1 \cdot 10^4$		$2 \cdot 10^3$	
10	$3 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$		$1 \cdot 10^1$		$3 \cdot 10^1$	
11	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$		$6 \cdot 10^3$		$6 \cdot 10^2$	

12	1.10 ⁴	1.10 ⁴		3.10 ³		3.10 ³
13	4.10 ⁴	4.10 ⁴		2.10 ³		2.10 ³
14	3.10 ⁵	5.10 ⁴		9.10 ⁴		2.10 ³
15	6.10 ³	4.10 ³		3.10 ¹		8.10 ¹
16	1.10 ¹	1.10 ¹		1.10 ¹		1.10 ¹
17	1.10 ¹	1.10 ¹		1.10 ¹		1.10 ¹
18	1.10 ²	1.10 ²		1.10 ¹		2.10 ¹
19	2.10 ³	1.10 ³		1.10 ²		1.10 ²
20	6.10 ⁴	3.10 ⁴		1.10 ⁴		6.10 ³
21	2.10 ²	1.10 ²		3.10 ²		1.10 ¹
22	5.10 ³	3.10 ³		2.10 ²		1.10 ²

r: spearman korelasyon analizi, *p<0,01



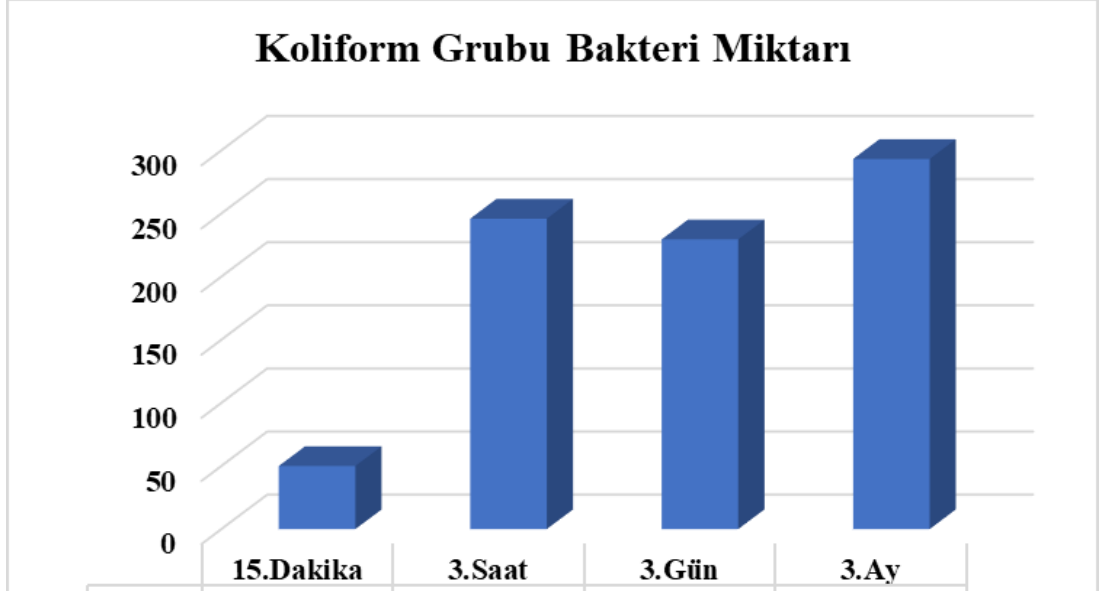
Şekil 4.3. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin *Lactobacillus sp.* sayısı grafiği.

Analiz sonuçlarına göre koliform grubu bakteri sayısının 0. saat ile 3. saat, 3. gün ve 3. ay sayısı arasında pozitif yönde yüksek düzeyde anlamlı ilişki görülmüştür (p<0,01). Anne sütü depolandıktan sonra sütteki koliform grubu bakteri sayısı değişimi Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre koliform grubu bakteri sayısı.

Anne sütü	Saklama süreleri						
	0. saat	3. saat* 25°C	r	3. gün* 4°C	r	3. ay* -20°C	r
1	0	0	0,942	0	0,693	4.10 ¹	0,648
2	0	0		3.10 ¹		3.10 ²	
3	0	0		0		0	
2	0	0		0		1.10 ¹	
5	0	0		1.10 ¹		1.10 ¹	
6	0	0		0		8.10 ¹	
7	0	0		1.10 ²		2.10 ²	
8	0	0		1.10 ¹		2.10 ²	
9	0	0		3.10 ²		4.10 ²	
10	0	0		0		0	
11	5.10 ¹	1.10 ²		2.10 ²		2.10 ²	
12	2.10 ²	2.10 ²		1.10 ³		1.10 ³	
13	6.10 ²	2.10 ³		2.10 ³		1.10 ³	
14	1.10 ²	2.10 ³		1.10 ³		1.10 ³	
15	5.10 ¹	1.10 ²		0		8.10 ¹	
16	0	0		0		0	
17	0	0		0		0	
18	0	0		0		3.10 ¹	
19	0	1.10 ¹		0		8.10 ²	
20	1.10 ²	1.10 ³		4.10 ²		1.10 ³	
21	0	0		0		1.10 ²	
22	0	0		0		0	

r: spearman korelasyon analizi, *p<0,01



Şekil 4.4. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin koliform grubu bakteri sayısı grafiği.

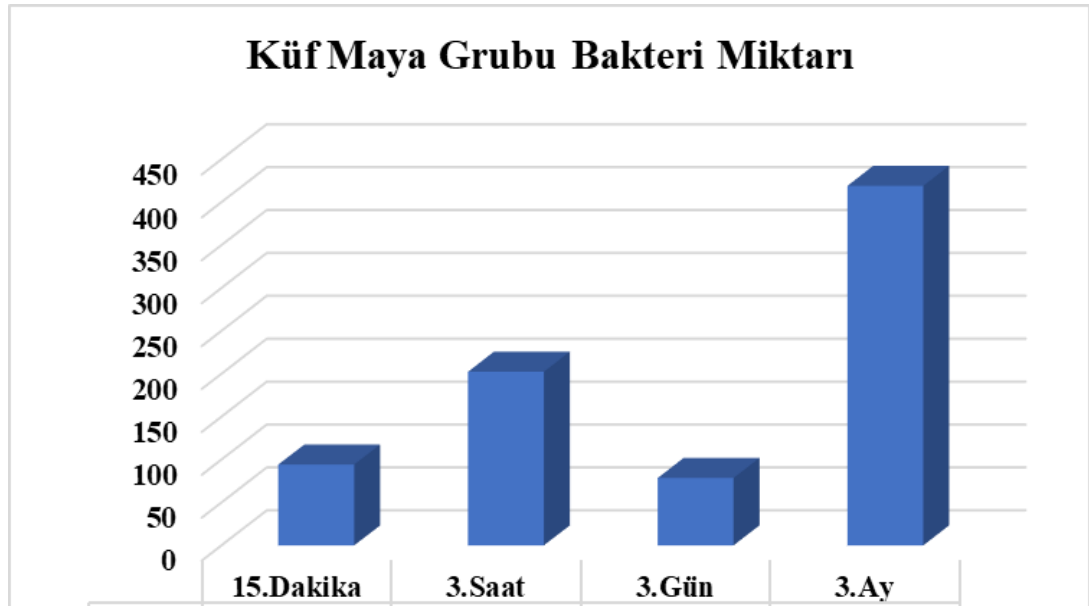
Analiz sonuçlarına göre küf maya grubu bakteri sayısının 0. saat ile 3. saat ve 3. ay sayımı arasında pozitif yönde yüksek düzeyde anlamlı ilişki görülmüştür ($p < 0,01$). Küf maya grubu bakteri sayısının 0. saat ile 3. gün sayımı arasındaki duruma baktığımızda küf maya grubu bakteri sayımında anlamlı düzeyde azalma görülmüştür ($p < 0,01$). Çizelge 4.8’de saklama koşullarının küf maya grubu bakteri sayısına etkisi gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Anne sütünün sıcaklık ve saklama sürelerine göre küf maya grubu bakteri sayısı.

Anne sütü	Saklama süreleri						
	0. saat	3. saat* 25°C	r	3. gün* 4°C	r	3. ay** -20°C	r
1	7.10 ⁰	1.10 ¹	0,808*	0	0,778*	1.10 ²	0,435**
2	9.10 ⁰	6.10 ¹		5.10 ¹		1.10 ²	
3	1	2		0		1.10 ²	
4	7.10 ⁰	1.10 ¹		1.10 ¹		0	
5	0	0		1.10 ¹		1.10 ³	

6	2.10 ¹	2.10 ²	6.10 ¹	1.10 ³
7	1.10 ²	1.10 ³	3.10 ²	1.10 ³
8	1.10 ¹	3.10 ¹	2.10 ¹	1.10 ²
9	6.10 ⁰	4.10 ¹	1.10 ²	1.10 ³
10	1.10 ¹	1.10 ²	0	1.10 ²
11	3.10 ²	6.10 ²	2.10 ²	4.10 ²
12	2.10 ²	1.10 ²	1.10 ²	2.10 ²
13	1.10 ²	3.10 ²	1.10 ²	6.10 ²
14	2.10 ²	4.10 ²	2.10 ²	1.10 ³
15	2.10 ²	6.10 ²	7.10 ¹	1.10 ³
16	2.10 ⁰	0	0	1.10 ¹
17	0	2	0	0
18	0	0	0	1.10 ¹
19	5.10 ²	1.10 ²	1.10 ²	2.10 ²
20	2.10 ²	4.10 ²	1.10 ²	1.10 ²
21	0	1.10 ²	1.10 ¹	2.10 ²
22	2.10 ²	4.10 ²	3.10 ²	1.10 ³

r: spearman korelasyon analizi, *p<0,01, **p<0,05



Şekil 4.5. Farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan anne sütlerinin küf maya grubu bakteri sayısı grafiği.

Çalışmamıza katılan annelerin 7'si normal doğum, 15'i sezaryen doğum gerçekleştirmiştir. Toplam bakteri, *Lactobacillus sp.* ve *Bifidobacterium sp.* sayısının sezaryen doğum yapan annelerde normal doğum yapan annelere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Anne sütünün bakteriyel içeriğinin doğum şekli ile arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Anne sütü mikrobiyotası ile doğum şekli arasındaki ilişki Çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Anne sütü mikrobiyotası ile doğum şekli arasındaki ilişki.

Analizler	Doğum Şekli	n	$\bar{X} \pm ss$	Test istatistiği	
				U	p
Toplam bakteri sayısı	NSD	7	19928,57 ± 36889,6	-0,851	0,395
	C/S	15	105146,67 ± 257185,19		
<i>Bifidobacterium</i> sayısı	NSD	7	64,29 ± 74,8	-0,220	0,826
	C/S	15	142,67 ± 230,73		
<i>Lactobacillus</i> bakteri sayısı	NSD	7	9302,86 ± 14254,87	-1,488	0,137
	C/S	15	38780,67 ± 74732,95		
Koliform Grubu Bakteri sayısı	NSD	7	28,57 ± 75,59	-0,764	0,445
	C/S	15	60,00 ± 153,76		
Küf Maya Grubu Bakteri sayısı	NSD	7	72,57 ± 94,15	-0,818	0,413
	C/S	15	104,27 ± 148,25		

NSD: Normal Spontan Vajinal Doğum; C/S: Sezaryen Doğum; *Mann Whitney U testi

Çalışmaya katılan annelerin 4'ü sigara içmekte, 18'i içmemektedir. Anne sütü mikrobiyotasının 0. saat analizleri ile sigara içme durumu arasındaki ilişki Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Analiz sonucunda annelerin sigara içme durumu ile *Lactobacillus sp.* sayısı arasında anlamlı ilişki görülmüştür ($p<0,05$). Sigara içmeyen annelerin *Lactobacillus* bakteri sayısı için annelere oranla daha yüksek olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Analiz sonucunda toplam bakteri sayısı, *Bifidobacterium sp.* sayısı, koliform grubu bakteri sayısı ve küf maya grubu bakteri sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çizelge 4.10. Anne sütü mikrobiyotasının annelerin sigara içme durumu ile ilişkisi.

Analizler	Sigara İçme Durumu	n	$\bar{X} \pm ss$	Test istatistiği	
				U*	p
Toplam bakteri sayısı	Evet	4	250100 ± 499933,34	-1,456	0,145
	Hayır	18	39794,44 ± 66108,97		
<i>Bifidobacterium sp.</i> sayısı	Evet	4	50,00 ± 100,00	-1,106	0,269
	Hayır	18	132,78 ± 210,85		
<i>Lactobacillus sp.</i> sayısı	Evet	4	902,5 ± 1414,46	-2,225	0,026**
	Hayır	18	35734,44 ± 68419,09		
Koliform Grubu Bakteri sayısı	Evet	4	0,00 ± 0,00	-1,303	0,193
	Hayır	18	61,11 ± 145,07		
Küf Maya Grubu Bakteri sayısı	Evet	4	4,75 ± 4,57	-1,504	0,133
	Hayır	18	114,06 ± 138,59		

*Mann Whitney U testi **p<0,005

Bakteriyel analize bakarsak; 1-15. gün ile 24-36.ay arası emziren annelerin sütlerinde, diğer emzirme zamanlarında olan annelerin sütlerine göre daha az bakteri olduğu saptanmıştır. Ancak laktasyon süresi ile 0. saat mikrobiyota analizi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir (p>0,05). Anne sütü mikrobiyotasının laktasyon süresi ile ilişkisi Çizelge 4.11’dedir.

Çizelge 4.11. Anne sütü mikrobiyotasının laktasyon süresiyle ilişkisi.

Analizler	Laktasyon Zamanı	n	$\bar{X} \pm SS$	Test istatistiği	
				Z	p
Toplam bakteri sayısı	1-15.gün	3	166,67 ± 57,74	7,512	0,276
	15-30 Gün	3	3666,67 ± 2081,67		
	1-6 Ay	1	30000 ± 0		
	6-12 Ay	5	67200 ± 84170,66		
	12-18 Ay	6	188933,33 ± 399182,77		
	18-24 Ay	3	66866,67 ± 115296,89		
	24-36 Ay	1	5000,00 ± 0,00		
<i>Bifidobacterium sp</i> sayısı	1-15. gün	3	0,00 ± 0,00	7,273	0,296
	15-30 Gün	3	250 ± 390,51		
	1-6 Ay	1	100,00 ± 0,00		
	6-12 Ay	5	102 ± 222,53		
	12-18 Ay	6	183,33 ± 172,24		

	18-24 Ay	3	36,67 ± 55,08		
	24-36 Ay	1	20,00 ± 0,00		
Lactobacillus sp. sayısı	1-15.gün	3	40,00 ± 51,96	11,709	0,069
	15-30 Gün	3	15400,00 ± 21500,7		
	1-6 Ay	1	5000,00 ± 0,00		
	6-12 Ay	5	84400 ± 121642,1		
	12-18 Ay	6	8918,33 ± 11243,04		
	18-24 Ay	3	33333,33 ± 25166,11		
	24-36 Ay	1	20000,00 ± 0,00		
Koliform Grubu Bakteri sayısı	1-15.gün	3	0,00 ± 0,00	2,562	0,861
	15-30 Gün	3	16,67 ± 28,87		
	1-6 Ay	1	0,00 ± 0,00		
	6-12 Ay	5	140 ± 260,77		
	12-18 Ay	6	41,67 ± 80,1		
	18-24 Ay	3	33,33 ± 57,74		
	24-36 Ay	1	0,00 ± 0,00		
Küf maya grubu	1-15.gün	3	0,67 ± 1,15	6,744	0,345
	15-30 Gün	3	100 ± 100		
	1-6 Ay	1	200,00 ± 0,00		
	6-12 Ay	5	163,2 ± 204,31		
	12-18 Ay	6	86,33 ± 130,71		
	18-24 Ay	3	72,00 ± 110,86		
	24-36 Ay	1	20,00± 0,00		
	Total	22			

*Kruskal Wallis H testi

Bifidobacterium sp. sayısının meyve/sebze tüketmeyenlerde daha yüksek, Toplam bakteri sayısı, *Lactobacillus sp.* sayısı, Koliform Grubu Bakteri sayısı ve Küf Maya Grubu Bakteri sayısının ise daha düşük olduğu görülmüştür. Annelerin meyve/sebze tüketme durumu ile mikrobiyota arasında anlamlı ilişki görülmemiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Anne sütü mikrobiyotasının beslenmede meyve/sebze tüketme durumuyla ilişkisi.

Analizler	Meyve/Sebze Tüketme Durumu	n	$\bar{X} \pm ss$	Test istatistiği	
				U	p
Toplam bakteri sayısı	Evet	19	37405,26 ± 65063,91	-0,818	0,413
	Hayır	3	335333,33 ± 575618,22		

<i>Bifidobacterium</i> sp. sayısı	Evet	19	88,95 ± 155,06	-1,094	0,274
	Hayır	3	300,00 ± 360,56		
<i>Lactobacillus</i> sp. sayısı	Evet	19	33701,05 ± 67064,89	-1,587	0,112
	Hayır	3	2170 ± 3325,91		
Koliform Grubu Bakteri sayısı	Evet	19	55,26 ± 142,3	0,000	1,000
	Hayır	3	16,67 ± 28,87		
Küf Maya Grubu Bakteri sayısı	Evet	19	98,11 ± 137,01	-0,290	0,772
	Hayır	3	69,33 ± 113,2		

*Mann Whitney U testi

Toplam bakteri sayısının süt ve süt ürünü tüketenlerde daha yüksek, *Bifidobacterium* sp. sayısı, *Lactobacillus* sp. bakteri sayısı, Koliform Grubu Bakteri sayısı ve Küf Maya Grubu Bakteri sayısının ise daha düşük olduğu görülmüştür. Annelerin süt ve türevi tüketme durum ile mikrobiyota ilişkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Anne sütü mikrobiyotasının annelerin süt ve süt ürünleri tüketme durumuyla ilişkisi Çizelge 4.13'tedir.

Çizelge 4.13. Anne sütü mikrobiyotasının beslenmede süt ve süt ürünleri tüketme durumuyla ilişkisi.

Analizler	Süt ve Ürünleri Tüketme Durumu	n	$\bar{X} \pm ss$	Test istatistiği	
				U	p
Toplam bakteri sayısı	Evet	12	111883,33 ± 286157,45	-0,497	0,619
	Hayır	10	37410 ± 64845,91		
<i>Bifidobacterium</i> sp. sayısı	Evet	12	73,33 ± 140,93	-0,720	0,472
	Hayır	10	171,00 ± 244,42		
<i>Lactobacillus</i> sp. sayısı	Evet	12	15468,33 ± 18959,35	-0,663	0,507
	Hayır	10	46121,00 ± 90968,6		
Koliform Grubu Bakteri sayısı	Evet	12	25,00 ± 62,16	-1,051	0,293
	Hayır	10	80,00 ± 185,89		
Küf Maya Grubu Bakteri sayısı	Evet	12	62,08 ± 87,56	-1,065	0,287
	Hayır	10	132,7 ± 168,04		

*Mann Whitney U testi

Bifidobacterium sp. sayısının su tüketimini çeşme suyundan sağlayan annelerde, arıtma suyu ve hazır su tüketen annelerden daha yüksek olduğu, Toplam bakteri,

Lactobacillus sp., Koliform Grubu ve Küf Maya Grubu Bakteri sayısının ise çeşme suyu tüketenlerde arıtma suyu ve hazır su tüketen annelerden daha düşük olduğu görülmüştür. Annelerin su tüketme şekli ile mikrobiyota ilişkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Annelerin su tüketme durumuyla anne sütü mikrobiyotası arasındaki ilişki Çizelge 4.14'tedir.

Çizelge 4.14. Anne sütü mikrobiyotasının su tüketme şekli ile ilişkisi.

Analizler	Su Tüketim Şekli	n	$\bar{X} \pm SS$	Test istatistiği	
				Z	p
Toplam bakteri sayısı	Aritma su	8	46037,5 ± 70587,78	3,906	0,142
	Çeşme suyu	4	950,00 ± 1377,2		
	Hazır paket su	10	134460 ± 310941,81		
<i>Bifidobacterium sp.</i> sayısı	Aritma su	8	127,5 ± 164,9	2,282	0,320
	Çeşme suyu	4	300,00 ± 355,9		
	Hazır paket su	10	37,00 ± 65,84		
<i>Lactobacillus sp.</i> sayısı	Aritma su	8	52250 ± 100919,7	3,026	0,220
	Çeşme suyu	4	4027,5 ± 4869,19		
	Hazır paket su	10	21272 ± 23044,19		
Koliform Grubu Bakteri sayısı	Aritma su	8	43,75 ± 72,89	0,552	0,759
	Çeşme suyu	4	12,5 ± 25,00		
	Hazır paket su	10	70,00 ± 188,86		
Şiddetin farklı boyutları	Aritma su	8	117,88 ± 119,18	3,431	0,180
	Çeşme suyu	4	50,5 ± 99,67		
	Hazır paket su	10	92,7 ± 157,87		
	Total	22			

*Kruskal Wallis H testi

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Anne sütü, bebek bağırsağı için önemli bir bakteriyel flora kaynağıdır [13,17]. Mikrobiyota, anne sütünün doğal bir bileşenidir ve yenidoğanda önemli biyolojik işlevlerde rol oynar [17]. Bu çalışma, sağlıklı kadınlardan alınan anne sütüne, saklama koşullarının etkisini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışma; 18-49 yaş arasında, doğum öncesi enfeksiyonu olmayan, herhangi bir ilaç kullanmayan ve bebeğine süt vermeye devam eden 22 anne sütü ile gerçekleştirilmiştir. Anne sütlerinin mikrobiyal florasını oluşturan bakteri sayısını belirlemek üzere ilk mikrobiyolojik analiz ilk 15 dk içerisinde yapılmıştır. Her bir anne sütü örneği üç ayrı tüpe bölünmüş ve Sağlık Bakanlığı tarafından anne sütünün saklanması için önerilen koşullar olan oda sıcaklığında (25°C) 3 saat, buzdolabında (+4°C) 72 saat, ve derin dondurucuda (-20°C) 3 ay bekletildikten sonra tekrar analiz edilmiştir.

Oda sıcaklığında saklandıktan sonra anne sütü toplam bakterilerinin nasıl etkilendiği konusundaki çalışmalara bakıldığında; Kuzey Karolina'da taze sağılmış anne sütündeki bileşenler üzerinde saklama sıcaklığı ve süresinin etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirilen çalışmada 11 anne sütü örneği toplanmış ve numuneler 24°C'de üç hafta süreyle saklanmıştır. Araştırmacılar toplam protein ve serbest amino uçları, toplam yağ vb biyokimyasal değerlerin yanı sıra bakteri üremesini araştırmak için numuneleri analiz etmişlerdir. 24°C'de oda sıcaklığında saklanan numunelerin 24. saatinde bakteriyel büyümede bir azalma olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir [31]. Hamosh vd. ise anne sütünü kısa süreli saklamanın bakteriyel büyümeye etkisini incelediği çalışmada 16 anne sütü numunesi ile çalışmıştır. Numuneler 25°C'de 24 saat depolanmış ve 0, 4, 8 ve 24. saatlerde analiz edilmiştir. Bakteriyel büyümenin 25°C'de 4 saat saklama için düşük olduğu sonucuna

varılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre anne sütünün 25°C'de 4 saat saklanması güvenli olduğu önerisinde bulunmuşlardır [32]. Biz yaptığımız çalışmada 22 anne sütü numunesini 0. saatte ve oda sıcaklığında 25°C'de 3 saat beklettikten sonra analiz ettik. Oda sıcaklığında 3 saat beklettiğimiz numunelerdeki toplam bakteriyel değişime baktığımızda yapılan çalışmalara benzer şekilde anlamlı miktarda düşüş olduğunu gördük ($p<0,01$).

Buzdolabında saklamanın anne sütündeki toplam bakterilere etkisini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Slutzah vd. anne sütünün buzdolabında saklanmasıyla ilgili önerilerde bulunabilmek adına 4°C'de 96 saatlik depolama sırasında sütün genel bütünlüğünü (bakteri üremesi, hücre sayıları ve bileşen konsantrasyonları) incelemişlerdir. 36 anne sütü örneğini beşe bölmüş ve 0, 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca 4°C'de saklamışlardır. Çalışma sonunda toplam bakteri koloni sayısında önemli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Değişikliklerin minimal olduğu ve buzdolabında saklama sırasında sütün genel bütünlüğünün korunduğu sonucuna varmışlardır [8]. Zhang vd. ise Çinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada buzdolabında 4°C'de saklamanın anne sütündeki makro besinler, toplam aerobik bakteri sayısı ve süt serum proteomu üzerindeki etkisi incelenmiştir. 5 anneden alınan anne sütü numuneleri bir havuzda toplanmış ve daha sonra makro besinlerin, toplam aerobik bakterilerin ve serum proteomiklerinin analizi için üçe bölünmüştür. Numuneler, sıcaklığı 4°C'ye ayarlanmış standart ev tipi buzdolabında 72 saat saklanmış ve 0, 24, 48 ve 72. saatlerde analiz edilmiştir. Toplam aerobik bakteri analizine bakıldığında bakteri sayısının 0. saatte 1.10^4 , 24. saatte 1.10^4 , 48. Saatte 1.10^5 , 72. saatte 1.10^7 cfu/ml olduğu görülmüştür. Toplam aerobik bakterilerin 72. saatte ($p< 0,01$) önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir [33]. Bizim çalışmamıza baktığımızda buzdolabında 4°C'de 72 saat (3 gün) beklettiğimiz numunelerde 0. saat analizine göre, toplam bakteri sayısında anlamlı derecede artış görülmüştür ($p<0,01$). Literatüre ve yaptığımız çalışma sonuçlarına göre buzdolabı ısısında 72 saat saklamanın bakteriyel güvenlik açısından önerilmemesi gerektiğini düşünmekteyiz. Anne sütündeki toplam bakterilerin dondurucuda saklandıktan sonraki değişimini araştıran Pandya vd. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde yatan 36 bebeğin annesinin sütü ile çalışmıştır. Annelerden sağılmış süt numuneleri ikiye bölünmüş ve otomatik veya manuel dondurucularda 3

ay süreyle -20°C'de saklanmış ve dondurucuda saklanan anne sütlerindeki bakteri koloni sayılarında önemli düşüşler olduğu görülmüştür. Tüm bakteri koloni sayılarının önemli ölçüde azaldığını ($p<0,001$), 3 aylık depolamadan sonra bakteri kolonilerinde %98 ile %100 arasında kayıp olduğunu bildirmişlerdir [34]. Marin vd. ise yaptığı çalışmada soğuk depolamanın anne sütünün doğal bakteri bileşimine etkisini araştırmış, 34 sağlıklı kadın tarafından sağlanan ve elle sağma veya göğüs pompası ile toplanan anne sütü örnekleri, laboratuvara ulaştıktan hemen sonra (0. gün) ve 6 hafta boyunca -20°C'de saklanmış ve analiz edilmiştir. Büyüme tespit edilen besiyerlerinde her iki örnekleme zamanında elde edilen sayımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlememişlerdir. Sütün -20°C'de 6 hafta saklanması anne sütünün bakteriyel bileşimini önemli ölçüde etkilemediği sonucuna varılmıştır [35]. Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmaların aksine dondurucuda 3 ay bekletilen numunelerde toplam bakteri sayısında anlamlı derecede artış görülmüştür ($p<0,01$).

Anne sütü mikrobiyota içeriği ile ilgili yapılan çalışmalarda en sık saptanan probiyotik bakterilerin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* olduğu görülmektedir. Mantziari vd. Finlandiya'da yaptığı çalışmada farklı saklama koşullarının *Lactobacillus sp.* ve *Bifidobacterium sp.* üzerindeki etkilerini incelemiştir. Çalışmada 8 anne sütü numunesini üçe bölmüş; birincisini 1.10^8 CFU/mL *Lactobacillus sp.* içeren, ikincisini 1.10^8 CFU/mL *Bifidobacterium sp.* içeren ve üçüncüsünü ise takviye içermeyen kontrol grubu olarak belirlemişlerdir. Örnekler oda sıcaklığında (23°C) 6 saat, buzdolabında (4°C) 72 saat, dondurucuda (-20°C) 7 gün saklanmış ve oda sıcaklığında bekletilen numuneler 0 ve 6. saatte, buzdolabı sıcaklığında bekletilenler 6, 24, 72. saatte, dondurucuda bekletilenler ise 7. günde analiz edilmiştir. Çalışma süreleri içinde, çalışılan koşullardan herhangi birinde LGG veya Bb12'nin her ikisinin de canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmamıştır ($p>0,05$). Hem *Lactobacillus* hem de *Bifidobacterium* için geçerli sayımlardaki en belirgin azalma, 72 saat boyunca 4°C'de depolanan sütte gözlenmiş ancak bu azalmanın da istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir [36]. Bizim çalışmamıza bakıldığında; yapılan çalışmaya benzer şekilde üç saklama koşulunda da *Lactobacillus sp.* florasında 0. saat analizine göre ciddi miktarda azalma görülmektedir ($p<0,01$). *Bifidobacterium sp.* de ise 3. saat ve 3. ay izlemlerinde petrilerin hiçbirinde üreme görülmedi. Buna sebep olarak ortam sıcaklığı veya derin dondurucuda bekletilen anne sütünde meydana

gelen biyokimyasal değişimlerin *Bifidobacterium sp.* üzerinde olumsuz etkisi olabileceği düşünölmüştür. *Bifidobacterium* türlerinin sağlıklı bir şekilde korunması için saklama koşulu ve süresi olarak en uygun olanın buzdolabı sıcaklığında 3 gün olduğunu düşünmekteyiz.

Anne sütünü oda sıcaklığında bekletmenin bakteriyel kontaminasyona etkisini inceleyen çalışmalara bakıldığında; Hardiani vd. Endonezya'da 30 anne ile gerçekleştirdikleri çalışmada anne sütünün mikrobiyolojik kalitesini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Anne sütü numuneleri oda sıcaklığında (25°C) 6 saate kadar bekletilmiş; 0, 2, 4 ve 6. saatte analiz edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre araştırmacılar 0. saatte sadece 2 anne sütü numunesinin bakteriyel kontaminasyon açısından pozitif olduğunu ve kontaminasyonun 2. ve 4. saatte zamanla artışa geçtiğini bildirmişlerdir (sırasıyla $1,09 \times 10^4$ cfu/ml, $3,2 \times 10^8$ cfu/ml). Araştırmacılar 2. ve 4. saat arasındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ($p=0.001$), oda sıcaklığında 2 saatten fazla bekletilen anne sütünün bakteriyel kontaminasyon açısından güvenli olmadığını belirtmişlerdir [37]. Bazı çalışmalar ise anne sütünün oda sıcaklığında belirli bir süreye kadar bakterisit etki göstererek mikroorganizma sayısında azalma olduğunu gözlemlemiştir [31]. Bizse çalışmamızda anne sütü numunelerini oda sıcaklığında (25°C) 3 saat beklettik ve koliform grubu bakterilerde anlamlı bir artış olduğunu gözlemledik ($p<0,01$).

Valensiya'da gerçekleştirmiş, anne sütündeki *Escherichia coli* bakterilerinin buzdolabında saklamadan nasıl etkilendiğini analiz eden ve dokuz anne sütü örneği ile çalışılan bir araştırmada her numune üç eşit parçaya bölünmüş; biri hemen analiz edilip diğer ikisi sırasıyla 48 ve 72 saat boyunca 4°C'de bekletilmiştir. Sonrasında analiz edilen numunelere bakıldığında; 72 saatlik depolamada taze süte kıyasla önemli ölçüde mikroorganizma artışı olduğu görölmüştür [38]. Bizim çalışmamızda anne sütü numuneleri buzdolabında 4°C'de 72 saat bekletilip analiz edilmiştir. 0. saat ile karşılaştırdığımızda anne sütü buzdolabında saklandığında patojen bakterilerde anlamlı bir artış olduğunu gözlemledik ($p<0,01$).

Dondurucuda saklamanın anne sütü numunelerindeki koliform grubu bakterilere etkisini inceleyen Takci vd. yaptığı çalışmada 48 anne sütü örneği toplamış, anne

sütünün *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* aktivitesini analiz etmek için numuneleri 3 ay boyunca -20°C'de dondurucuda saklamışlardır. -20°C'de 3 aylık depolama sonucunda *E coli* sayımında artış olduğu, normalde anne sütünün bakterisidal etkisinin olduğu ancak depolama sonucunda anne sütünün *E coli*'ye karşı bakterisit etkisinin önemli ölçüde düştüğü sonucuna varılmıştır ($p<0,017$) [39]. Hernandez vd. de yaptığı çalışmada anne sütü numunelerini 21 gün dondurucuda beklettikten sonra analiz etmiş ve *E coli* mikroorganizma sayısında artış olduğunu belirtmişlerdir [40]. Biz de çalışmamızda benzer olarak anne sütü numunelerini 3 ay süreyle -20°C'de dondurucuda beklettikten sonra analiz ettik ve literatürdeki çalışmalara benzer şekilde dondurucuda bekletmenin koliform grubu mikroorganizma sayısında artışa neden olduğu sonucuna vardık ($p<0,05$). Ayrıca çalışmamızda koliform grubu bakterilere ek olarak sıcaklık ve saklama koşullarına göre anne sütündeki küf-maya grubu mikroorganizmaların nasıl etkilendiğini de inceledik. Analiz sonuçlarımıza göre küf maya sayısının 3 saat 25°C oda sıcaklığında ve 3 ay -20°C'de dondurucuda bekletildiğinde anlamlı derecede arttığını tespit ettik. Çalışma sonuçlarımız anne sütünün oda sıcaklığında 3 saat, buzdolabında 4°C'de 3 gün, dondurucuda -20°C'de 3 ay saklamanın bakteriyel kontaminasyon açısından güvenli olmadığını düşündürmüştür.

Anne sütü mikrobiyotasının sigara içme, doğum şekli, doğum ağırlığı, gebelik haftası, annede obezite varlığı, antibiyotik kullanımı, annenin beslenmesi, laktasyon zamanı vb. faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur [14,41]. Doğum şekli, gebelik haftası, annenin hamilelik sırasındaki psikolojik durumu, ve genetik faktörler anne sütü bakteriyel florasını değiştirebilmektedir. Annenin deri florası, bebeğin oral florası, vajinal flora, anne ve yenidoğanın bağırsak mikrobiyotasını etkileyen tüm etmenler, anne sütü mikrobiyota kompozisyonunu da değiştirebilmektedir. [20].

Pardo vd.'nin anne sütü mikrobiyotasına; emzirme evresinin etkisini değerlendirdiği çalışmada, 32 anne sütü numunesi ile çalışılmıştır. Kolostrum, geçiş sütü ve olgun süt arasında toplam bakteri konsantrasyonu, *Bifidobacterium sp.* sayımı açısından farklar olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar kolostrumda, geçiş sütü ve olgun süte göre daha az toplam bakteri bulunduğunu, *Bifidobacterium sp.* sayısının kolostrumda ve

geçiş sütünde olgun süte göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu bildirmişlerdir ($p<0,01$) Araştırmacılar emzirme dönemi ilerledikçe bakterilerin artma eğiliminde olmasını, anne sütü mikrobiyal içeriğinin emzirmenin her döneminde bebeğin ihtiyaçlarına göre şekillenmesi şeklinde yorumlamışlardır [14]. Bizim çalışmamızda da anne sütü toplam bakteri, *Lactobacillus sp* ve *Bifidobacterium sp* sayısının laktasyon evresiyle arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmamasına rağmen bakteri sayısının 1-15. gün arası annelerde diğer emzirme zamanlarında olan annelerden daha düşük olduğu saptanmıştır. Çalışmamız emzirme dönemi ilerledikçe bakterilerin artma eğiliminde olduğunu desteklemektedir.

İspanya’da gerçekleştirilen bir çalışmada doğum şeklinin anne sütü mikrobiyotasına etkisi incelenmiş, sezaryenle doğum yapan annelerin kolostrum ve geçiş sütlerinde vajinal doğum yapanlarına göre anlamlı düzeyde daha yüksek toplam bakteri ve daha düşük *Bifidobacterium sp.* bulunmuştur ($p<0,01$) [14]. Toscano vd. sezaryen ile vajinal doğumun kolostrum mikrobiyotasına etkisini incelemiş, vajinal doğum kolostrumunda sezaryen doğuma göre önemli ölçüde daha düşük bakteri olduğunu görmüşlerdir ($p<0,05$) [41]. Araştırmacılar bu durumu anne mikrobiyotasının sezaryen ameliyatı esnasında kontamine olmasına bağlamış ve son yıllarda çocuklar arasında hızla yayılan bağışıklık ve metabolik hastalıklardaki ilerleyici artışın da artan sezaryen oranlarıyla ilişkisi olabileceğini öngörmüşlerdir. Çalışmamızda benzer şekilde anne sütü florasının doğum şekli ile ilişkisini değerlendirdiğimizde toplam bakteri, *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.* miktarlarının sezaryen doğum yapan annelerde normal doğum yapan annelere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bu sonuçlara göre sezaryen ile doğumun anne sütü mikrobiyotasına ve dolaylı olarak bebek sağlığına etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Sağlıklı yetişkinlerde sigara içiminin bağırsak mikrobiyotasına etkisi hakkında gerçekleştirilen çalışmalardan hazırlanmış bir derlemede incelenen çalışmalar katılımcıların özellikleri, tasarım vb. açılardan farklılık gösterse de, çalışmaların çoğunda sigara içenlerin dışkı örneklerinde daha düşük düzeyde bakteri çeşitliliği olduğu bildirilmiştir. Anne sütü mikrobiyota kaynağı olarak annenin bağırsakları öngörüldüğü için sigaranın bağırsak florasını dolayısıyla anne sütü florasını da

etkilediğini düşünmekteyiz. Benzer şekilde sigara tüketen bireylerin maruz kaldığı kimyasallar nedeniyle ağız florasında da değişiklikler meydana gelmektedir. Literatürde anne sütü mikrobiyotasının; annenin ağız florasıyla benzer bakteri profiline sahip olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur [42- 44]. Biz çalışmamızda anne sütü numunelerinin 0. saat analizleri ile annelerin sigara içme durumu arasındaki ilişkiyi inceledik ve sigara içmeyen annelerin sütlerindeki *Lactobacillus sp.* bakteri sayısının sigara içen annelere oranla daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna vardık ($p<0,01$). Sigara içmeyen annelerin sütlerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da toplam bakteri ve *Bifidobacterium sp.* sayılarının da daha fazla olduğunu gözlemledik.

Gebelik ve laktasyon döneminde beslenme ile anne sütü mikrobiyota kompozisyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, Ankarada 20 anne ile gerçekleştirilen çalışmada araştırmacılar; hem gebelik hem laktasyon döneminde maternal enerji ve besin öğeleri alımı ile anne sütü mikrobiyota çeşitliliği arasında anlamlı ilişki olduğunu belirlenmiştir ($p<0,01$) [20]. Bizim çalışmamızda annenin maternal beslenmesi başlığı altında birkaç faktör değerlendirildi. Annelerin meyve/sebze tüketme durumu ile mikrobiyota ilişkisine baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç olmadığı, istatistiksel sonuçlar anlamlı olmasa da *Bifidobacterium sp.* sayısının meyve/sebze tüketmeyenlerde daha yüksek, Toplam bakteri, *Lactobacillus*, Koliform Grubu Bakteri sayısı ve Küf Maya Grubu Bakteri sayısının ise daha düşük olduğu görülmüştür. Annelerin süt ve türevi tüketme durumu ile mikrobiyota ilişkisine baktığımızda ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç görülmemiştir. Analiz sonuçları istatistiksel olarak anlamlı olmasa da Toplam bakteri sayısının süt ve süt ürünü tüketenlerde daha yüksek, *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.* sayısı, Koliform Grubu Bakteri sayısı ve Küf Maya Grubu Bakteri sayısının ise daha düşük olduğu görülmüştür. Annelerin su tüketme şekli ile mikrobiyota ilişkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Buna, rağmen *Bifidobacterium sp.* sayısının su tüketimini çeşme suyundan sağlayan annelerde; arıtma suyu ve hazır su tüketen annelerden daha yüksek olduğu, Toplam bakteri sayısı, *Lactobacillus* bakteri sayısı, Koliform Grubu Bakteri sayısı ve Küf Maya Grubu Bakteri sayısının ise çeşme suyu tüketenlerde; arıtma suyu ve hazır su tüketen annelerden daha düşük olduğu görülmüştür.

BÖLÜM 6

SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. SONUÇ

21-36 yaş aralığında, emziren 22 anneden alınmış süt örnekleri analiz edilerek yapılan çalışmamızda saklama koşulları ve sıcaklık faktörlerinin sütteki toplam bakteri sayısına etkisi incelenmiştir. Bu çalışma anne sütü mikrobiyotasına saklama koşulları ve sıcaklığın etkisinin değerlendirildiği Türkiye’deki ilk çalışma olmuştur.

Çalışma sonuçlarına göre anne sütü numunelerini 25°C’de oda sıcaklığında 3 saat beklettikten sonra toplam bakteri sayısında anlamlı derecede düşüş; *Lactobacillus sp.* sayımında anlamlı derecede düşüş ($p<0,01$), koliform grubu bakteri ve küf maya sayımında anlamlı derecede artış saptanmıştır ($p<0,01$).

Buzdolabında 4°C’de 3 gün beklettiğimiz anne sütü numunelerinde toplam bakteri ve koliform grubu bakteri sayımlarında anlamlı derecede artış olduğunu gözlemledik ($p<0,01$). *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.* ve küf maya grubu sayımlarında ise istatistiksel olarak anlamlı düşüşler görülmüştür ($p<0,01$)

Dondurucuda -20°C’de 3 ay bekletilen numunelerde toplam bakteri, koliform grubu bakteri ve küf maya sayımında anlamlı derecede artış olduğu görülmüştür. *Lactobacillus sp.* sayımlarında ise anlamlı derecede azalma olmuştur.

Çalışmamızda saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotasına etkisine ek olarak anne ve bebeğe ait bazı faktörlerin anne sütü mikrobiyotasıyla ilişkisini de inceledik. Annelerin sigara içme durumu ile *Lactobacillus sp.* sayımlarında anlamlı bir fark görülmüştür (p=0,026). Sigara içmeyen annelerin sütlerindeki *Lactobacillus* bakteri sayısının içen annelere oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

6.2. ÖNERİLER

Literatürde anne sütünü saklamanın besinsel içeriğe çok büyük etkisi olmadığı ve anne sütünü saklayarak vermenin bebek için güvenli olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalar daha çok kimyasal ve besinsel değerler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Depolama sıcaklık ve süresine bağlı olarak anne sütünün mikrobiyal değişimi ile ilgili yapılmış çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır. Biz çalışma sonuçlarımıza göre anne sütünün oda sıcaklığında, buzdolabında veya dondurucuda saklanması bakteriyel olarak güvenli olmadığını, sağım esnasında bulaşan patojen mikroorganizmaların saklama süresi boyunca saklama sıcaklığına bağlı olmaksızın artma eğiliminde olduğunu ve *Lactobacillus sp* ve *Bifidobacterium sp.* gibi probiyotik olarak değerlendirilebilecek mikroorganizmaların ise sayıca azalma gösterdiğini tespit ettik. Zorunlu olmadıkça anne sütünün depolanmamasını ve bebeğe taze olarak verilmesini önermekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Dünya Sağlık Örgütü (2005). Innocenti Bildirgesi 2005. (25/04/2019 tarihinde <https://www.unicef.org/programme/breastfeeding/innocenti.htm> adresinden ulaşılmıştır).
2. Heikkila, M. P., Saris, PEJ., ‘‘Inhibition of staphylococcus aureus by the commensal bacteria of human milk. journal of applied microbiology’’, *Journal of Applied Microbiology.*, 95: 471–478 (2003).
3. Çan, G., Topbaş, M., ‘‘Anne Sütünün Saklanması’’, *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni.*, 6(5): 375-379 (2007).
4. Takci, S., Gülmez, D., Yiğit, S., ‘‘Container type and bactericidal activity of human milk during refrigerated storage’’, *Journal of Human Lactation.*, 29(3):406-411 (2013)
5. Chang, Y. C., Chen, C. H., Lin, M. C., ‘‘The macronutrients in human milk change after storage in various containers’’, *Pediatrics and Neonatology.*, 53(3):205-209 (2012).
6. Ankrah, N. A., Appiah-Opong, R., Dzokoto, C., ‘‘Human breast milk storage and the glutathione content’’, *Journal of Tropical Pediatrics.*, 46:111-113 (2000).
7. Lawrence, R. A., ‘‘Storage of human milk and influence of procedures on immunological of human milk’’, *Acta Paediatr.*, 88:14-18 (1999).
8. Slutzah, M., Codipilly, C. N., Potak, D., ‘‘Refrigerator storage of expressed human milk in the neonatal intensive care unit’’, *The Journal of Pediatrics.*, 156(1):26-28 (2009).
9. Şahin, G., ‘‘Emziren annelerin emzirme ile ilgili bilgi, uygulama ve davranışlarının değerlendirilmesi’’, Uzmanlık Tezi, *Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörlüğü*, İstanbul (2013).
10. Uraş, N., ‘‘Anne sütünün oluşumu ve içeriği’’, *Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Yenidoğan Dergisi.*, 6(1): 130-153 (2017).
11. Gür, E., ‘‘Anne sütü ile beslenme’’, *Türk Pediatri Arşivi.*, Özel Sayı:5-11 (2007).
12. Collado, M. C., Delgado, S., Maldonado, A., ‘‘Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real time PCR’’, *Letters in Applied Microbiology.*, 48(5), 523-528 (2009).

13. Boix-Amoros, A., Collado, M. C., Mira, A., ‘‘Relationship between milk microbiota, bacterial load, macronutrients and human cells during lactation’’, *Frontiers in Microbiology*, 7:492 (2016).
14. Khodayar-Pardo, P., Mira-Pascual, L., Collado, M. C., ‘‘Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota’’, *Journal of Perinatology*, 34(8):599 (2014).
15. Stiles, M. E., Holzapel, W. H., ‘‘Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy’’, *International Journal of Food Microbiology*, 36:1–29 (1997).
16. Martın, R., Langa, S., Reviriego, C., ‘‘Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut’’, *The Journal of Pediatrics*, 143(6):754-758 (2003).
17. Gomez-Gallego, C., Garcia-Mantrana, I., Salminen, S., ‘‘The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity’’, *In Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 21(6):400-405 (2016).
18. Bode, L., McGuire, M., Rodriguez, J. M., ‘‘It’s alive: microbes and cells in human milk and their potential benefits to mother and infant’’, *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 5(5):571-573 (2014).
19. Bağcı, O., ‘‘Anne sutu sarılığının gelişiminde, anne sutu mikrobiyal ieriği ve bebek barsak mikrobiyal florasının etkisinin araştırılması ve bu bebeklerde probiyotik tedavisinin sarılık seyrine etkisinin değerlendirilmesi’’, Yandal Uzmanlık Tezi, *Uludağ niversitesi Tıp Fakltesi*, Bursa (2015).
20. Ede, G., ‘‘Anne sutunun ve yenidoğanın intestinal mikrobiyotasının maternal beslenme ile ilişkisi’’, Doktora Tezi, *Hacettepe niversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara (2019).
21. Hou, R-L., Zhou, H-H., Chen, X. Y., Wang, X. M., Shao, J., Zhao, Z. Y., ‘‘Effect of maternal lipid profile, c-peptide, insulin, and hba1c levels during late pregnancy on large-for-gestational age newborns’’, *World Journal of Pediatrics*, 10 (2):175-181 (2014).
22. Dinleyici, M., ‘‘Anne sutu mikrobiyotası’’, *Osmangazi Tıp Dergisi*, zel Sayı:25-29 (2020).
23. Guney, R., ınar, N., ‘‘Anne sutu ve mikrobiyota gelişimi’’, *Journal of BSHR*, 1(zel Sayı):17-24 (2017).
24. Urbaniak, C., Angelini, M., Gloor, G. B., Reid, G., ‘‘Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender’’, *Microbiome*, 4(1):2-9 (2016).
28. Mckenzie, C., Javanparast, S., Newman, L., ‘‘Mother’s Knowledge of and Attitudes Toward Human Milk Banking in South Australia: A Qualitative Study’’, *Journal of Human Lactation*, 29:222-229 (2013)

29. 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.* 69:1-10 (2013).
30. İnternet: T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Çocuk ve Ergen Sağlığı Dairesi, ‘‘Emzirme Danışmanlığı Eğitimci Kitabı’’ <https://docplayer.biz.tr/12093503-Emzirme-danismanligi-egitimci-kitabi.html> (2015).
31. Fogleman, A. D., ‘‘Effect of storage time and temperature on components in human breast milk’’, Yüksek Lisans Tezi, *Kuzey Karolina Eyalet Üniversitesi Beslenme Bilimleri Enstitüsü*, Raleigh, 3-55 (2008).
32. Hamosh, M., Ellis, L. A., Pollock, D. R., ‘‘Breastfeeding and the working mother: effect of time and temperature of short- term storage on proteolysis and bacterial growth in milk’’, *Pediatrics*, 97: 492-498 (1996).
33. Zhang, L., Wu, Y., Ma, Y., ‘‘Macronutrients, total aerobic bacteria counts and serum proteome of human milk during refrigerated storage’’, *Food Bioscience*, 35 (2020).
34. Pandya, S. P., Doshi, H., Codipilly, C. N., ‘‘Bacterial stability with freezer storage of human milk’’, *J. Perinat. Med.*, 49(2): 225–228 (2021).
35. Marín M. L., Arroyo, R., Jiménez, E., ‘‘Cold storage of human milk: effect on its bacterial composition’’, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 49(3): 343-348 (2009).
36. Mantziari, A., Aakko, J., Kumar, H., ‘‘The impact of storage conditions on the stability of lactobacillus rhamnosus gg and bifidobacterium animalis subsp. lactis bb12 in human milk’’, *Breastfeed Med.*, 12(9): 566-569 (2017).
37. Hardiani, K., Widjaja, N. A., Hanindita, M. H., ‘‘Microbiological assessment of fresh expressed breast milk on room temperature at dr. soetomo hospital neonatal unit’’, *Fol Med Indones*, 56(1): 24-30 (2020).
38. Martínez-Costa, C., Silvestre, M. D., López, M. C., ‘‘Effects of refrigeration on the bactericidal activity of human milk: a preliminary study’’, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 45(2): 275-277 (2007).
39. Takçi, Ş., Gülmez, D., Yiğit, Ş., ‘‘Effects of freezing on the bactericidal activity of human milk’’, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 55(2): 146-149 (2012).
40. Hernandez, J., Lemons, P., Lemons, J., ‘‘Effect of storage processes on the bacterial growth-inhibiting activity of human breast milk’’, *Pediatrics*, 63(4): 597-601 (1979).
41. Toscano, M., Grandi, R. D., Peroni, D. G., ‘‘Impact of delivery mode on the colostrum microbiota composition’’, *BMC Microbiology*, 17(205) (2017).

42. Antinozzi, M., Giffi, M., Sini, N., ‘‘Cigarette smoking and human gut microbiota in healthy adults: a systematic review’’, *Biomedicines*, 10(2) (2022).
43. Karaahmet, A., ‘‘COVID-19, pregnancy, human milk and microbiota: an overview’’, *Jour Umraniye Pediatr.*, 1(2): 29–38 (2021).
44. Williams, J. E., Carrothers, J. M., Lackey K. A., ‘‘Human milk microbial community structure is relatively stable and related to variations in macronutrient and micronutrient intakes in healthy lactating women’’, *J Nutr.*, 147: 1739–1748 (2017).

EK AÇIKLAMALAR A.

VERİ TOPLAMA FORMU

‘Anne Sütünün Saklanması: Sıcaklık ve Saklama Koşullarının Mikrobiyota Üzerine Etkisi’ Araştırması Anket Formu

Açıklama: Bu anket soruları katılımcıların sosyodemografik özelliklerini ve beslenme alışkanlıklarını değerlendirmek için hazırlanmıştır. Ankete katılanların hiçbir hukuki sorumluluğu yoktur. Bilgileriniz sadece bilimsel amaçlı kullanılacak olup, kesinlikle gizli kalacaktır, bu nedenle lütfen size size yönelteceğim sorulara doğru cevap veriniz. Teşekkür ederiz.

1. Adınız Soyadınız:

2. Yaşınız:

3. Bebeğinizin doğum haftası:

4. Doğum şekli:

5. Bebeğinizin doğum ağırlığı:

6. Laktasyon zamanınız?

a. 15–30 Gün

b. 1-6 Ay

c. 6-12 Ay

d. 12-18 Ay

e. 18-24 Ay

f. 24-36 Ay

7. Mastit veya meme ucu enfeksiyonunuz var mı?

a. Evet (Bunun için ilaç kullanıyorsanız belirtiniz).....

b. Hayır

8. Bebeğinizde sarılık, pamukçuk (moniliazis) vb. bir rahatsızlık var mı?

a. Evet (belirtiniz).....

b. Hayır

9. Eğitim Durumunuz?

a. Okur-yazar değil

b. Okur-yazar

c. İlkokul

d. Ortaokul

e. Lise

f. Üniversite

10. Nerede yaşıyorsunuz?

- a. Şehir Merkezi
- b. İlçe
- c. Köy

11. Çalışma durumunuz?

- a. Çalışmıyor
- b. Çalışıyor (belirtiniz)

12. Ekonomik Durumunuz?

- a. Düşük
- b. Orta
- c. Yüksek

13. Beslenmeniz meyve, sebze tüketimi açısından zengin mi?

- a. Evet (belirtiniz).....
- b. Hayır

14. Beslenmeniz süt ve süt ürünleri tüketimi açısından zengin mi?

- a. Evet (Sıklığını ve miktarını belirtiniz).....
- b. Hayır

15. Süt tüketiminde hangisini tercih ediyorsunuz?

- a. Günlük pastörize süt
- b. Dışarıdan temin edilip, kaynatılmış süt
- c. Laktozsuz süt
- d. Tüketmiyorum

16. İçme suyunu nereden temin ediyorsunuz?

- a. Çeşme suyu
- b. Arıtma su
- c. Hazır paket su

17. Kendinizi fiziksel olarak aktif görüyor musunuz, yaptığınız bir spor var mı?

- a. Evet (belirtiniz).....
- b. Hayır

18. Sigara içiyor musunuz?

- a. Evet (Günde kaç adet içtiğinizi belirtiniz).....
- b. Hayır

19. Alkol kullanıyor musunuz?

a. Evet (belirtiniz).....

b. Hayır

20. Kronik bir rahatsızlığınız var mı?

a. Evet (belirtiniz).....

b. Hayır

21. Sürekli ilaç kullanımı durumunuz var mı?

a. Evet sürekli ilaç kullanıyorum (belirtiniz).....

b. Hayır sürekli ilaç kullanmamı gerektiren bir durum yok

EK AÇIKLAMALAR B.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

**LÜTFEN BU DÖKÜMANI DİKKATLİCE OKUMAK İÇİN ZAMAN
AYIRINIZ!**

Sayın

Sizi Karabük Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesinde yürütülen "**Anne Sütünün Saklanması: Sıcaklık Ve Saklama Koşullarının Mikrobiyota Üzerine Etkisi**" başlıklı araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın niçin ve nasıl yapılacağını, bu araştırmanın gönüllü katılımcılara getireceği olası faydaları, riskleri ve rahatsızlıklarını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. İsterseniz bu bilgileri aileniz, yakınlarınız ve/veya doktorunuzla tartışınız. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz. Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde, gerekli yerleri siz, doktorunuz ve kuruluş görevlisi bir tanık tarafından doldurup imzalanmış bu formun bir kopyası saklamanız için size verilecektir.

Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkına da sahipsiniz. Her iki durumda da bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

ARAŞTIRMACININ

Adı Soyadı Betül Ulukaya

İMZA

Unvanı Ebe

ARAŞTIRMANIN AMACI

1. Farklı saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotası üzerine etkisini değerlendirmek.
2. Anne sütü saklama koşulları ve farklı saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotasına etkisi hakkında bilgi edinmek ve anne sütünün en verimli koşullarda saklanması için literatüre katkı sağlamak.

İZLENECEK OLAN TEDAVİ, YÖNTEM VE YAPILACAK İŞLEMLER:

Araştırma, anne sütünün saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotasındaki bakteri sayısı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilecektir. Veri toplama araçları olarak anne sütü numuneleri ve veri toplama/anket formu kullanılacaktır. Veri

toplama formu araştırmacılar tarafından hazırlanmış olup, içeriğinde annelerin sosyodemografik özellikleri, sigara kullanma ve beslenme alışkanlıkları vb. gibi yaptığımız literatür taramalarında anne sütünün içeriğini etkileyebileceği öngörülen etkenler yer almaktadır. Yapılacak çalışmaya katılmayı kabul eden annelerden alınan süt örneğinin tüm analizleri Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilecektir. 18-49 yaş arasında, doğum öncesi enfeksiyonu olmayan, herhangi bir ilaç kullanmayan, **Lohusa servisinde** yatmakta olan veya bebeğini süt vermeye devam eden ve çalışmaya katılmayı kabul eden **25 anneye** aynı zamanda ebe olan araştırmacı (yüksek lisans öğrencisi) tarafından sağıım yöntemi anlatılacaktır. Gerekli hijyenik önlemler alınmasına müteakip çalışmaya katılmayı kabul eden annelerin sütleri el ile sağıılarak steril falkon tüplere 7-10 ml örnek alınacaktır. Örnekler vakit kaybetmeden (30dk içinde) buz çantası içerisinde laboratuvara ulaştırılarak analize alınması sağılanacaktır. Anne sütlerinin mikrobiyal florasını oluşturan bakteri sayısını belirlemek üzere ilk mikrobiyolojik analiz ilk 30 dk içerisinde yapılacaktır. Her bir anne sütü örneği üç ayrı tüpe bölünecek ve Sağıık Bakanlığı tarafından anne sütünün saklanması için önerilen koşullar olan oda sıcaklığında (25°C) 3 saat, buzdolabında (+4°C) 72 saat, ve derin dondurucuda (-18°C) 3 ay bekletildikten sonra tekrar analiz edilecektir. Tüm anne sütü örnekleri toplamda dörder kez incelenecektir. Her analiz için 1 ml anne sütü kullanılacak olup, mikrobiyolojik analizlerde konvansiyonel yöntemler kullanılacaktır. Bu amaçla toplam canlı bakteri sayısının tespiti için Milk Plate Count Agar (Merck Milliopore, Germany), Lactobacillus ve Bifidobacterium türlerinin tespiti için MRS Agar (Merck Milliopore, Germany) ve M17 Agar (Merck Milliopore, Germany) ve kontaminasyonun ve kontamine bakterilerdeki değışimin tespiti için (koliform grubu bakteriler) VRB Agar (Merck Milliopore, Germany) kullanılacaktır. Anne sütü örneklerinden 1 ml ekim yapılacak, petri kutuları araştırılan mikroorganizma türlerine uygun süre ve sıcaklıklarda inkübe edilecektir. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak 1ml'deki toplam bakteri sayısı tespit edilecektir. Mikrobiyal analizler sonucunda; sağıımdan itibaren ilk 30dk içerisinde tespit edilen toplam bakteri sayısı ve sonrasında oda sıcaklığında (25°C) 3 saat, buzdolabında (+4°C) 72 saat ve derin dondurucuda (-18°C) 3 ay bekledikten sonra tespit edilen bakteri sayısı karşılaştırılacaktır. Böylece sıcaklık ve süre gibi saklama koşullarının anne sütü mikrobiyotası üzerine etkisi değışlendirilmiş olacaktır.

İstatistik: Çalışmamızda istatistiksel değışlendirme SPSS 20.0 paket programı aracılığıyla yapılacaktır. Yapılan tüm analizlerde $p < 0.05$ değıeri anlamlı kabul edilecektir. Veriler yüzde hesaplamaları, mean, median and standard deviation (SD) ile sunulacaktır. Değıerler arasındaki farkların istatistiki değıerlendirmesinde Student's t-Test kullanılacaktır. Verilerin iki yönlü varyans analizi ANOVA ve Tukey oklu karşılaştırma testi kullanılarak analiz edilecektir.

ARAşTIRMANIN YAPILACAĞI YER

Karabük Üniversitesi Eğıitim ve Araştırma Hastanesi

Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

ARAŞTIRMAYA KATILAN ARAŐTIRICILAR

1. Meryem olak
2. Betül Ulukaya

ARAŞTIRMANIN SÜRESİ

01.10.2021-01.01.2022

KATILMASI BEKLENEN GÖNÜLLÜ SAYISI

25 kişi

SİZE GETİREBİLECEĞİ OLASI FAYDALAR

Anne sütünün doğru saklanması ile ilgili literatüre katkı sağlayacaksınız.

SİZE GETİREBİLECEĞİ EK RİSK VE RAHATSIZLIKLAR:

Herhangi bir risk bulunmamaktadır.

KATILMA VE ÇIKMA

Bu araőtirmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkına sahiptir. Ayrıca sorumlu araőtirici gerek duyarsa sizi çalışma dışı bırakabilir. Çalışmaya katılmama, çalışmadan çıkma veya çıkarılma durumlarında bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

MASRAFLAR

Herhangi bir masraf bulunmamaktadır.

İLETİŐİM KURULACAK KİŐİLER

Meryem olak 0545 550 74 40

Betül Ulukaya 0533 079 29 06

GİZLİLİK

Bu çalışmadan elde edilen bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacak ve kimlik bilgileriniz kesinlikle gizli tutulacaktır ve kamuoyu ile paylaşılmayacaktır. Araştırma yayınlansa bile kimliğiniz gizli kalacaktır.

Ben [gönüllünün adı, soyadı (kendi el yazısı ile)]
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen kişi tarafından yapıldı. Katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. Çalışma hakkında soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi ve araştırmadan ayrıldığım zaman mevcut tedavimin olumsuz yönde etkilenmeyeceğini biliyorum.

Bu koşullarda;

1. Söz konusu Klinik Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı (çocuğumun/vasimin bu çalışmaya katılmasını) kabul ediyorum.
2. Gerek duyulursa kişisel bilgilerime mevzuatta belirtilen kişi/kurum kuruluşların erişebilmesine,
3. Çalışmada elde edilen bilgilerin (kimlik bilgilerim gizli kalmak koşulu ile) yayın için kullanılma, arşivleme ve eğer gerek duyulursa bilimsel katkı amacı ile ülkemiz dışına aktarılmasına olur veriyorum.

GÖNÜLLÜNÜN

Bu bölüm gönüllü tarafından kendi el yazısı ile doldurulup imzalanacaktır.

ADI- SOYADI

İMZA

ADRESİ

TELEFON

E- POSTA

TARİH (gün/ay/yıl) -----/-----/-----

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİSİNİN

(Kendi el yazısı ile)

ADI- SOYADI

İMZA

ADRESİ

TELEFON

E- POSTA

TARİH (gün/ay/yıl) -----/-----/-----

AÇIKLAMALARI YAPAN KİŞİNİN

ADI- SOYADI: Betül Ulukaya

İMZA

ADRESİ: Beşbinevler Bahçelievler Mah. 138. Sokak Ayvazlar Kanyon Park
Konutları F Blok Kat2 Daire3 Merkez Karabük

TELEFON 533 079 29 06

E- POSTA betuuldayioglu@gmail.com

TARİH (gün/ay/yıl) -----/-----/-----

NOT: Bu formun bir kopyası gönüllüde kalacak, diğer kopyası ise hasta dosyasına yerleştirilecektir. Hasta dosyası veya protokol numarası olmayan sağlıklı gönüllülerden alınacak onam formunun bir kopyası mutlaka sorumlu araştırmacı tarafından saklanacaktır.

EK AÇIKLAMALAR C.

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 11.06.2020 - E.21429



T.C.
KARABÜK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 77192459-050.99-E.21429
Konu : 2020/259 Nolu Karar

11/06/2020

Sayın Dr. Öğr.Üyesi Meryem ÇOLAK

Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz "Anne Sütünün Saklanması: Sıcaklık Ve Saklama Koşullarının Mikrobiyota Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları açısından Girişimsel Olmayan Etik Kurulu yönergesine göre incelenmiştir. Etik açıdan bir sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiş ve uygun görülmüştür.
Bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Orhan ÖNALAN
Kurul Başkanı

10/06/2020 Sürekli İşçi

Simge ACAR TURGUT

Adres: Karabük Üniversitesi Demir Çelik Kampüsü Merkez/Karabük
Telefon (370) 418 9446
e-Posta: giroetik@karabuk.edu.tr Elektronik Ağ: <http://tip.karabuk.edu.tr/giroetik>

Bilgi için: Simge ACAR TURGUT
Unvanı: Sürekli İşçi

EK AÇIKLAMALAR D.

KURUM İZİNİ



T.C.
KARABÜK VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Karabük Eğitim Ve Araştırma Hastanesi

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI KARABÜK EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ - T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
KARABÜK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
28/09/2021 17:12 - E-34771223 - 774.99 - 7015



Sayı : E-34771223-774.99
Konu : Bilimsel Araştırma İzin Talebiniz
Hk.

Sayın Betül ULUKAYA

İlgi : Bilimsel araştırma izin talebinizi içeren 15/09/2021 tarihli dilekçeniz.

Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Meryem ÇOLAK danışmanlığında yapacağımız “Anne Sütünün Saklanması: Sıcaklık ve Saklama Koşullarının Mikrobiyota Üzerine Etkisi” adlı yüksek lisans tezini, Hasta Hakları Yönetmeliği’nde belirtilen “Sağlık hizmetinin verilmesi sebebiyle edinilen bilgiler, kanun ile müsaade edilen haller dışında hiçbir şekilde açıklanamaz” hükmüne istinaden kişisel veri kapsamına giren bilgiler paylaşılmamak kaydıyla hastanemizde yapabileme talebiniz uygun görülmüştür.

Gereğini rica ederim.

Dr.Öğr.Üyesi Nihat YILMAZ
Başhekim

Ek: Bilimsel Araştırma İzleme Formu (1 Sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: 213e9e6b-f193-4bda-874d-65710d48e223 Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/saglik-bakanligi-cbys>

Şirinevler Mah. Alparslan Cad. No:1Merkez-KARABÜK

Bilgi için: Songül ŞİMŞEK

Telefon: 0(370) 415 80 00 Faks No: 03704125628

EBE

e-Posta: songul.simsek4@saglik.gov.tr İnternet Adresi: songul.simsek4@saglik.gov.tr

Telefon No: (0 370) 415 80 00



ÖZGEÇMİŞ

Betül ULUKAYA; ilk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. Beşir Balcıoğlu Anadolu Lisesi'nden 2014 yılında mezun olduktan sonra İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü'ne girdi. 2018 yılında mezun oldu. 2019 yılında Karabük Yenice Devlet Hastanesi'nde göreve başladı. 2018 yılında Karabük Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ebelik Anabilim Dalı'nda başlamış olduğu yüksek lisans programına başvurdu ve hala devam etmektedir.